

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou  
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques  
Département de Biochimie et Microbiologie



## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE MASTER

**Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** Microbiologie Appliquée

### THÈME

*Contrôle de la qualité microbiologique au sein de l'industrie  
pharmaceutique GlaxoSmithKline*

### Présenté par

M<sup>lle</sup> LARAB AMEL NADINE & M<sup>lle</sup> HADDADENE CYLIA

Soutenu le Jeudi 29 septembre 2022, devant le jury composé de :

<b>Mr BOUACEM K.</b>	MCA – UMMTO	Président
<b>M<sup>me</sup> ASMANI K.L.</b>	MCA – UMMTO	Promotrice
<b>Mr HMANA A.</b>	GlaxoSmithKline	Co-promoteur
<b>M<sup>me</sup> DERMECHE S.</b>	MCB – UMMTO	Examinatrice

**Année universitaire : 2021 / 2022**

## *Remerciements*

*En guise de reconnaissance, nous tenons à exprimer notre gratitude et nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de notre stage de fin d'études et à la réalisation de ce travail.*

*Nos profonds remerciements s'adressent à notre promotrice Mme ASMANI K.L. pour avoir accepté de nous encadrer et de nous orienter tout au long de notre mémoire. Nous la remercions pour le soutien qu'elle nous a apporté, sa confiance, sa patience et surtout sa gentillesse.*

*Nous remercions particulièrement Mme GHEZZAZ L. et Mr IKHLEF K. pour la chance qu'ils nous ont donnée d'élargir notre horizon scientifique et d'approfondir notre apprentissage dans le domaine pharmaceutique, ainsi que tout le personnel du laboratoire de contrôle de qualité GSK pour leur excellent accueil et leur disponibilité.*

*Nos vifs remerciements vont également à Mr BOUACEM K. qui nous a fait l'honneur de présider le jury et Mme DERMECHE S. pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

## *Dédicaces*

*C'est avec une profonde reconnaissance que je dédie ce mémoire*

*À mes parents,*

*Votre dévouement pour le travail a toujours suscité mon admiration et vous n'avez cessé d'être pour moi un exemple de persévérance et de sagesse. Je vous remercie pour votre bienveillance, votre confiance et votre accompagnement au cours de ces longues années d'études.*

*À mon petit frère,*

*Merci pour tes encouragements, ta spontanéité et nos moments de complicité. Je crois en toi et j'espère que tu finiras tes études avec succès.*

*Aux personnes qui me sont chères,*

*Je suis sûre qu'elles se reconnaîtront sans que j'aie à citer leurs noms. Je vous remercie pour votre soutien inconditionnel, pour votre patience et de m'avoir encouragé à devenir la meilleure version de moi-même.*

*Nadine.*

*C'est avec une profonde gratitude et une immense joie que  
Je dédie ce mémoire*

*À mes très chers parents qui ont œuvré pour ma réussite de par leur amour, leur soutien, leurs encouragements et leurs précieux conseils.  
Je les remercie également pour les efforts qu'ils ont fournis et la patience dont ils ont fait preuve au cours de mes années d'études.*

*À mes cousins et cousines que j'affectionne énormément, pour leur soutien moral et les moments d'émotion partagés lors de la réalisation de ce travail.*

*À mes amis pour leur appui et leurs encouragements permanents. Je vous souhaite à tous beaucoup de réussites et de bonheur.*

*Cylia.*

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Mise en forme d'un médicament.....	2
<b>Figure 02</b> : Principaux modes d'action des antibiotiques .....	4
<b>Figure 03</b> : Sources de contamination microbienne .....	6
<b>Figure 04</b> : Méthode par sédimentation pour réaliser un prélèvement passif de l'air .....	10
<b>Figure 05</b> : Méthode par aspiration pour réaliser un prélèvement actif de l'air .....	10
<b>Figure 06</b> : Méthode de filtration sur membrane.....	12
<b>Figure 07</b> : Unité de production pharmaceutique GSK - Boumerdès .....	14
<b>Figure 08</b> : Présentation du laboratoire de contrôle de qualité de GSK.....	14
<b>Figure 09</b> : Principales étapes de la préparation des milieux de culture .....	16
<b>Figure 10</b> : Prélèvement actif de l'air par biocollecteur Mas-100 .....	17
<b>Figure 11</b> : Échantillonnage des surfaces par la méthode de boîte contact.....	17
<b>Figure 12</b> : Contrôle microbiologique de l'eau par la méthode de filtration sur membrane ...	18
<b>Figure 13</b> : Procédé de contrôle microbiologique du produit fini Clamoxyl® comprimé 1g..	21

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b>	: Avantages et inconvénients de la méthode par sédimentation.....	10
<b>Tableau II</b>	: Avantages et inconvénients de la méthode par aspiration .....	11
<b>Tableau III</b>	: Principaux antibiotiques fabriqués par GlaxoSmithKline.....	15
<b>Tableau IV</b>	: Températures et temps d'incubation des milieux de culture pour le contrôle microbiologique des surfaces .....	17
<b>Tableau V</b>	: Description des points de prélèvement de l'eau potable et de l'eau purifiée..	18
<b>Tableau VI</b>	: Germes recherchés et milieux de culture utilisés dans le contrôle microbiologique du produit fini .....	20
<b>Tableau VII</b>	: Résultats du test de stérilité des milieux de culture.....	22
<b>Tableau VIII</b>	: Résultats du test de fertilité des milieux de culture.....	23
<b>Tableau IX</b>	: Résultats du contrôle microbiologique de l'air dans le laboratoire de microbiologie et les locaux de production .....	24
<b>Tableau X</b>	: Résultats du contrôle microbiologique des surfaces du laboratoire de microbiologie et des locaux de production .....	25
<b>Tableau XI</b>	: Résultats de l'analyse bactériologique de l'eau potable et de l'eau purifiée....	25
<b>Tableau XII</b>	: Résultats du contrôle de la qualité microbiologique du produit fini Clamoxyl® comprimé 1g.....	26

## Liste des abréviations

**API** : Appareils et procédés d'identification.

**BPF** : Bonnes pratiques de fabrication.

**DGAT** : Dénombrement des germes aérobies totaux.

**DMLT** : Dénombrement des moisissures et levures totales.

**GSK** : GlaxoSmithKline.

**R2A** : Reasoner's 2A Agar.

**SGG** : Sabouraud glucose gélosé.

**TSA** : Trypcase soja agar.

**TTC** : Chlorure de triphényltétrazolium.

**UFC** : Unité formant colonie.

## Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction ..... 1

### Synthèse bibliographique

I.	Généralités sur les médicaments .....	2
1.	Définition .....	2
2.	Mise en forme d'un médicament .....	2
3.	Antibiotiques .....	3
3.1.	Définition .....	3
3.2.	Mécanismes d'action .....	3
II.	Qualité en industrie pharmaceutique.....	4
1.	Cadre réglementaire en termes de qualité .....	4
1.1.	Pharmacopée .....	4
1.2.	Bonnes pratiques de fabrication.....	5
2.	Contrôle de qualité .....	5
3.	Types de contrôle qualité .....	5
3.1.	Contrôle physicochimique .....	5
3.2.	Contrôle microbiologique .....	5
III.	Contamination microbienne.....	6
1.	Sources de contamination microbienne.....	6
1.1.	Matières premières .....	6
1.2.	Eau .....	7
1.3.	Atmosphère .....	7
1.4.	Surfaces et matériaux .....	7
1.5.	Personnel.....	7
2.	Conséquences de la contamination microbienne .....	7
3.	Maîtrise de la contamination microbienne .....	8
3.1.	Utilisation de matières de haute qualité .....	8
3.2.	Surveillance de l'environnement .....	8
3.3.	Hygiène et formation du personnel.....	8
3.4.	Nettoyage et désinfection.....	8
IV.	Contrôle microbiologique .....	9
1.	Échantillonnage .....	9
2.	Contrôle environnemental .....	9
2.1.	Contrôle de l'air .....	9
2.1.1.	Méthode par sédimentation : Prélèvement passif de l'air.....	9
2.1.2.	Méthode par aspiration : Prélèvement actif de l'air.....	10
2.2.	Contrôle des surfaces .....	11
2.2.1.	Méthode par boîte contact .....	11

2.2.2. Méthode par écouvillonnage .....	11
2.3. Contrôle du personnel .....	11
3. Contrôle de l'eau .....	12
3.1. Eaux à usage pharmaceutique .....	12
3.2. Méthode de filtration sur membrane .....	12
4. Contrôle du produit fini .....	13

### **Matériel et méthodes**

1. Cadre de l'étude .....	14
2. Présentation du lieu du stage .....	14
3. Préparation des milieux de culture .....	15
3.1. Test de stérilité .....	16
3.2. Test de fertilité .....	16
4. Contrôle microbiologique de l'air .....	16
5. Contrôle microbiologique des surfaces .....	17
6. Contrôle microbiologique de l'eau .....	18
6.1. Procédé de contrôle .....	18
7. Contrôle microbiologique du produit fini .....	19
7.1. Présentation du médicament .....	19
7.2. Préparation de l'échantillon .....	19
7.3. Méthode de dénombrement sur plaque .....	19
7.4. Recherche d' <i>Escherichia coli</i> .....	20

### **Résultats et discussion**

1. Contrôle de qualité des milieux de culture .....	22
1.1. Test de stérilité .....	22
1.2. Test de fertilité .....	23
2. Contrôle microbiologique de l'air .....	24
3. Contrôle microbiologique des surfaces .....	25
4. Contrôle microbiologique de l'eau .....	25
5. Contrôle de qualité du produit fini .....	26

<b>Conclusion et recommandations</b> .....	27
--	----

<b>Références bibliographiques</b> .....	28
--	----

### **Annexes**

#### **Résumé / Abstract**

# *Introduction*

L'industrie pharmaceutique est un secteur phare de l'économie mondiale regroupant les activités de recherche, de fabrication et de commercialisation de médicaments. Elle constitue l'un des piliers fondamentaux du système de santé de par sa contribution au traitement, voire l'éradication de plusieurs pathologies (**Felton, 2013**). Toutefois, les besoins en soins médicamenteux renforcés par l'apparition de la pandémie du Covid-19 ont confrontés les sociétés pharmaceutiques à de nombreux défis, qu'elles doivent relever afin d'améliorer durablement la sécurité sanitaire (**Barshikar, 2020**).

La mise sur le marché de médicaments inefficaces et de mauvaise qualité peut entraîner des échecs thérapeutiques, une exacerbation de la maladie et même dans certains cas la mort du patient. Les industries pharmaceutiques doivent donc adhérer à des réglementations strictes et des procédures de contrôle rigoureuses dans le but de protéger et promouvoir la santé publique. Pour cela, elles disposent de laboratoires de contrôle de qualité dont le rôle est de vérifier, par des essais adéquats, que les produits sont conformes aux normes exigées par la pharmacopée (**Ugvekar et al., 2021**).

Lors du procédé de fabrication, un médicament peut être exposé à des risques de contamination microbienne d'origine virale, bactérienne ou fongique. Afin de garantir une bonne qualité hygiénique du produit, un contrôle microbiologique doit être effectué à différents niveaux. Les matières premières, y compris l'eau, doivent répondre aux spécifications requises avant leur utilisation. Une surveillance environnementale indiquera si la qualité du produit a été compromise et des tests sur le produit fini démontreront si les spécifications de libération ont été respectées (**Denyer et Baird, 2007**).

Dans ce contexte, le présent travail a pour objectif de réaliser un contrôle microbiologique de l'environnement de l'unité de production pharmaceutique GlaxoSmithKline, de l'eau utilisée dans les différents procédés de fabrication et du produit fini Clamoxyl®. À cet effet, notre mémoire est structuré comme suit :

- ✓ La première partie est une synthèse bibliographique qui comprend des généralités sur les médicaments, des notions liées à la qualité pharmaceutique suivies d'un aperçu sur la contamination microbienne et le contrôle microbiologique.
- ✓ La deuxième partie porte sur la méthodologie expérimentale utilisée dans l'analyse microbiologique et la présentation des résultats obtenus.
- ✓ Cette étude s'achève par une conclusion et quelques recommandations.

*Synthèse  
bibliographique*

## I. Généralités sur les médicaments

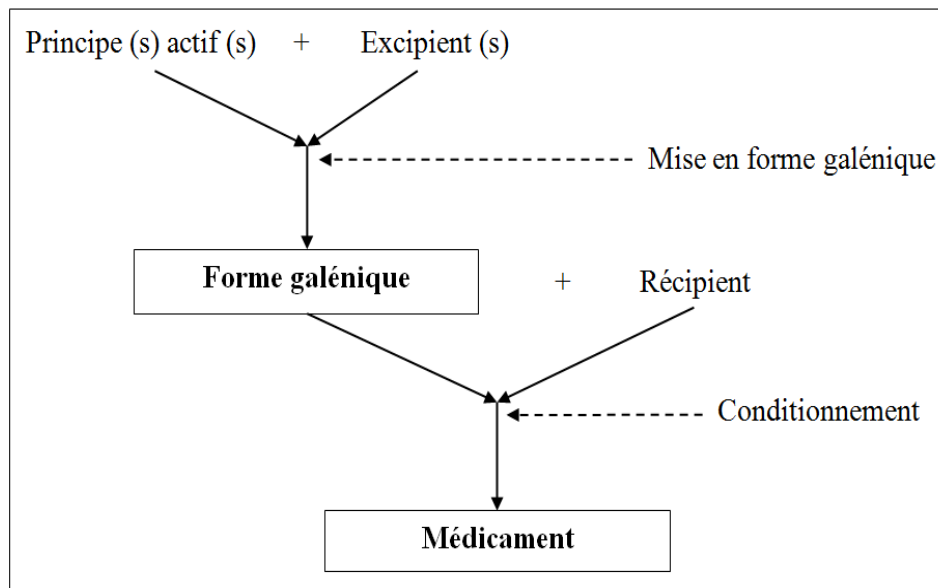
Un médicament est un produit fabriqué industriellement, de composition et d'activité définies. Il se situe à la base de toute prise en charge thérapeutique et témoigne des avancées scientifiques dans la compréhension du corps humain et leurs applications dans le domaine de l'innovation technologique et industrielle (Lévy et Garnier, 2007).

### 1. Définition

L'article L.5111-1 du code de la santé publique, définit le médicament comme : « Toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal, ou pouvant leur être administrée en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique » (Moulin et Coquerel, 2002).

### 2. Mise en forme d'un médicament

Un médicament est composé d'une ou plusieurs substances actives combinées à des excipients d'origines diverses et qui remplissent chacun un rôle précis dans la mise en forme. Ces derniers, constituent les matières premières à l'origine du produit fini qui est présenté dans un récipient approprié (figure 01) (Aiache et al., 2008).



**Figure 01 :** Mise en forme d'un médicament (Talbert et al., 2001).

#### a. Principe actif

Le principe actif est l'élément principal, qui grâce à ses propriétés pharmacologiques confère au médicament son activité thérapeutique. Il est de structure chimique connue et généralement incorporé en faible quantité (Aiache et al., 2008).

## **b. Excipient**

L'excipient est une substance auxiliaire et inerte sur le plan pharmacologique, dont le rôle est de faciliter l'administration du principe actif, d'améliorer son efficacité et d'assurer la stabilité et la conservation du médicament (**Le Hir et al., 2009**).

## **c. Conditionnement**

Le conditionnement est une étape complémentaire du processus de mise en forme, qui assure la protection et la conservation du médicament tout au long de son parcours jusqu'à son utilisation. C'est aussi un support important d'informations, qui permet d'identifier précisément le médicament et ses dosages et d'éviter toute confusion au moment de sa délivrance (**Le Hir et al., 2009**).

## **d. Produit fini**

Un produit fini désigne une forme posologique finie d'un produit pharmaceutique, préparée industriellement selon des normes strictes et qui a subi toutes les étapes de fabrication, y compris le conditionnement et l'étiquetage. Il est caractérisé par un nom commercial et fait l'objet d'un enregistrement auprès des autorités de santé (**BPF, 2007**).

## **3. Antibiotiques**

La découverte des antibiotiques constitue un événement majeur dans l'histoire de la médecine. Ils représentent l'une des classes médicamenteuses les plus couramment utilisées et ont contribué de façon considérable à réduire le taux de mortalité associé aux infections d'origine bactérienne (**Rahal, 2017**).

### **3.1. Définition**

Les antibiotiques sont des substances naturelles élaborées par des microorganismes ou synthétiques obtenues par modification chimique, possédant une activité antibactérienne à faible concentration et ne présentant pas de toxicité pour l'hôte. Ils sont définis comme étant « bactéricides » ou « bactériostatiques » selon qu'ils tuent ou empêchent la prolifération des bactéries et sont caractérisés par un spectre d'activité, qui correspond à l'éventail de germes sur lequel ils sont actifs (**Fauchère et Avril, 2002**).

### **3.2. Mécanismes d'action**

Les antibiotiques inhibent sélectivement différentes cibles ou voies métaboliques vitales caractéristiques des bactéries. Ils peuvent agir, entre autres sur : la synthèse de la paroi, de l'ADN, des protéines ou des folates (**figure 02**). Néanmoins, leur efficacité est réduite par l'apparition de résistance due à leur usage intensif et déraisonné (**Cohen et Jacquot, 2008**).

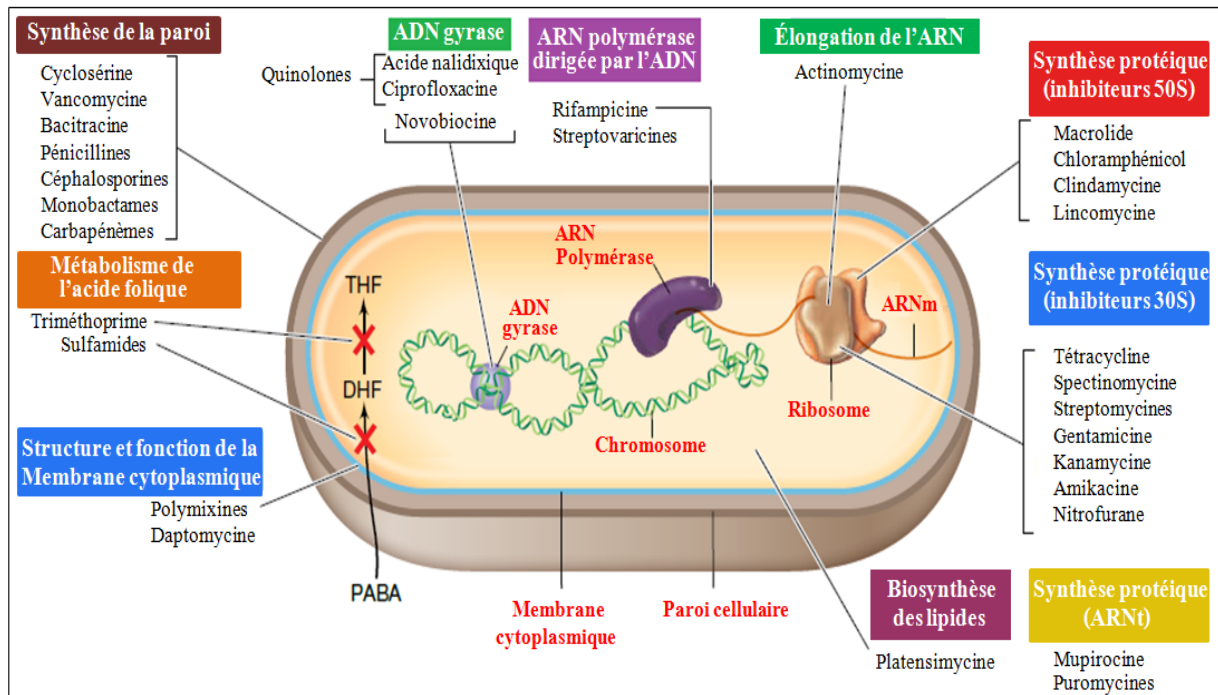


Figure 02 : Principaux modes d'action des antibiotiques (Madigan et al., 2018).

## II. Qualité en industrie pharmaceutique

Dans l'industrie pharmaceutique, le contrôle et l'évaluation de la qualité sont nécessaires pour s'assurer que les médicaments sont conformes aux spécifications préétablies et n'exposent le patient à aucun risque. Ils consistent à surveiller les conditions environnementales dans lesquelles les produits sont fabriqués, inspecter les opérations et effectuer des tests tout au long de la chaîne de production jusqu'à la libération du produit fini (Moffat et al., 2011).

### 1. Cadre réglementaire en termes de qualité

L'industrie pharmaceutique dispose d'une réglementation stricte et rigoureuse, qui constitue un système de référence lui permettant de structurer et d'encadrer toutes les activités liées à la fabrication et la qualité de ses produits (Levacher, 2006).

#### 1.1. Pharmacopée

La pharmacopée est un ouvrage réglementaire, qui participe à la protection de la santé publique en élaborant des spécifications communes et reconnues relatives à la qualité des médicaments. Elle définit notamment les critères de pureté des matières premières ou des préparations entrant dans leur fabrication et décrit les méthodes d'analyse utilisées pour en assurer le contrôle. L'ensemble de ces critères est regroupé et publié sous forme de monographies régulièrement mises à jour (Wehrlé, 2007).

## **1.2. Bonnes pratiques de fabrication**

Les bonnes pratiques de fabrication (BPF) représentent un ensemble de textes réglementaires qui garantissent que les produits pharmaceutiques sont fabriqués et contrôlés de manière cohérente et conformément aux normes de qualité requises. Elles visent principalement à réduire les risques de contaminations liées à toute production pharmaceutique en établissant des directives concernant le personnel, les équipements et les locaux, les matières premières ainsi que les opérations de fabrication et de contrôle (**Wehrlé, 2007**).

## **2. Contrôle de qualité**

Le contrôle de qualité est une partie des BPF qui traite des processus impliquant l'échantillonnage, l'établissement de spécifications, l'analyse, ainsi que la documentation et les procédures de libération. Ces derniers garantissent que les essais nécessaires et appropriés ont été effectués et que les produits contrôlés ne sont pas mis en vente, tant que leur qualité n'a pas été jugée comme conforme aux normes préalablement définies (**BPF, 2007**).

## **3. Types de contrôle qualité**

Le contrôle de qualité permet de vérifier la qualité pharmaceutique des médicaments mis sur le marché. Il est essentiellement basé sur des analyses physico-chimiques et microbiologiques effectués dès l'approvisionnement des matières premières jusqu'à la libération du produit fini (**Bouchard, 2009**).

### **3.1. Contrôle physicochimique**

La fabrication des produits pharmaceutiques nécessite la connaissance des propriétés physico-chimiques des médicaments pour répondre aux exigences du contrôle de qualité. Ces tests consistent à déterminer les caractères organoleptiques des différentes formes pharmaceutiques, identifier les substances actives et déterminer la présence d'éventuelles impuretés (**Bouchard, 2009**).

### **3.2. Contrôle microbiologique**

Les analyses microbiologiques sont indispensables pour vérifier la conformité des produits pharmaceutiques par rapport à la réglementation en vigueur. En effet, la présence de microorganismes dans le médicament peut altérer sa formule en décomposant ses ingrédients et par conséquent compromettre son efficacité. Ce type de contrôle consiste donc à rechercher les contaminations auxquelles peuvent être soumis ces produits lors de leur fabrication par identification des microorganismes et dénombrement des colonies (**Jimenez, 2004**).

### III. Contamination microbienne

La contamination microbienne est le risque majeur auquel l'industrie pharmaceutique est confrontée actuellement. Elle fait référence à la contamination biologique des produits par des bactéries et des champignons, ainsi que leurs sous-produits tels que les endotoxines et d'autres substances pyrogènes (Sandle, 2019). Dans des conditions qui leur sont favorables (température, humidité, pH, apport nutritif, etc.), ces microorganismes sont susceptibles de se multiplier et par conséquent provoquer l'altération du produit et nuire à la santé humaine (Roesti et Goverde, 2020).

#### 1. Sources de contamination microbienne

Au cours d'un procédé de fabrication, un médicament est sujet à diverses contaminations microbiennes, de sources et de nature différentes (figure 03). Celles-ci comprennent principalement :

- Les matières premières, y compris l'eau à partir desquelles le produit est fabriqué.
- L'environnement incluant l'atmosphère, les équipements et les surfaces de travail.
- Le personnel de fabrication (Aulton et Taylor, 2013).

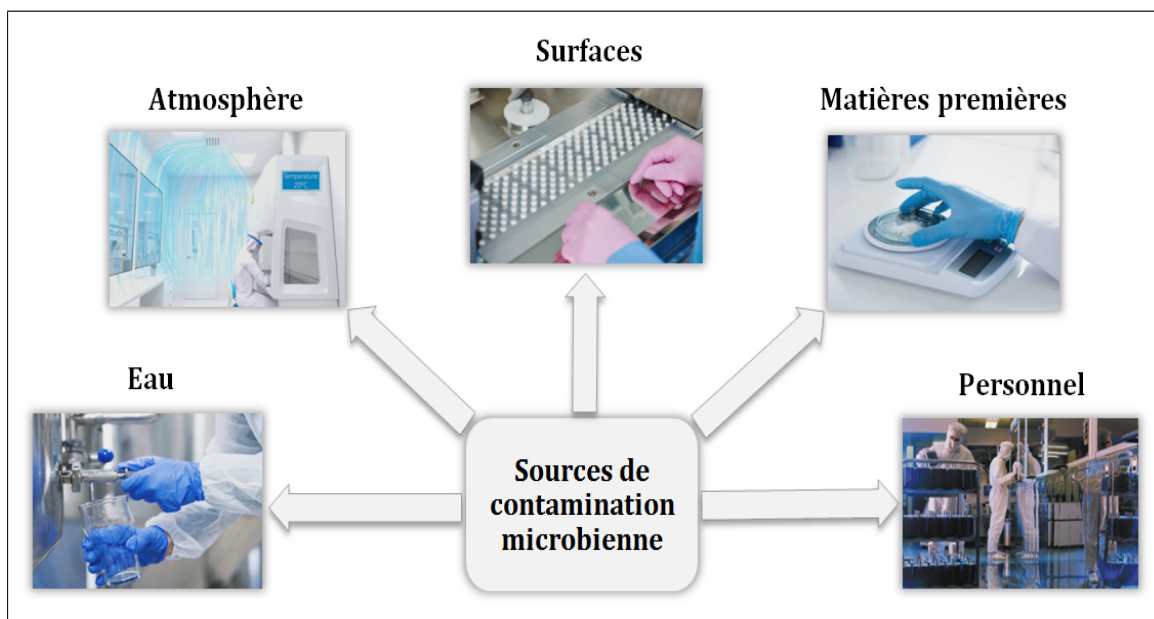


Figure 03 : Sources de contamination microbienne (Mohan, 2022).

#### 1.1. Matières premières

Les matières premières représentent la source de contamination la plus importante puisqu'elles entrent en contact direct avec le produit. Celles-ci peuvent être d'origine naturelle et contenir une variété de microorganismes ou synthétique, généralement exemptes de toute contamination microbienne. Une fois établie, cette dernière peut être persistante et difficile à éliminer (Bohrer, 2012).

## **1.2. Eau**

L'eau est couramment utilisée dans les formulations et les procédés pharmaceutiques. Elle constitue à la fois un vecteur et une source de contamination, particulièrement lorsque les systèmes de distribution sont mal conçus et entretenus. De manière très significative, l'eau est le principal habitat des bactéries Gram négatives telles que *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. et *Pseudomonas aeruginosa*, qui sont des microorganismes potentiellement dangereux et extrêmement polyvalents sur le plan métabolique (**Sandle, 2016**).

## **1.3. Atmosphère**

L'air véhicule une multitude de contaminants microbiens, toutefois ce n'est pas un environnement nutritif et favorable à leur prolifération. Les types les plus probables de microorganismes traçables dans l'air sont ceux qui possèdent des mécanismes de résistance à la dessiccation, incluant *Bacillus* spp., *Micrococcus* spp. et les spores fongiques appartenant aux espèces *Aspergillus* spp. et *Penicillium* spp. (**Halls, 2004**).

## **1.4. Surfaces et matériaux**

Les microorganismes peuvent survivre et proliférer sur la plupart des surfaces d'une unité de fabrication, notamment sur les murs, les sols, les paillasse et les équipements. La présence même de petites quantités de matières organiques peut favoriser le développement de moisissures, qui constituent la flore la plus fréquente (**Baird et Bloomfield, 1996**).

## **1.5. Personnel**

Les opérateurs et analystes de laboratoire peuvent disperser et introduire des microorganismes dans les préparations pharmaceutiques, essentiellement par voie aérienne ou contact direct, mais également par des vêtements inappropriés. La contamination microbienne d'origine humaine comprend le plus souvent des espèces bactériennes telles que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Propionibacterium* spp. et divers champignons dermatophytes (**Hanlon et Hodges, 2013**).

## **2. Conséquences de la contamination microbienne**

La présence de microorganismes dans les produits pharmaceutiques peut engendrer différents problèmes, particulièrement si leur croissance atteint des niveaux élevés. Les conséquences d'une telle contamination sont énumérées ci-dessous.

### **a. Détérioration du produit**

Les composés actifs des produits pharmaceutiques peuvent être métabolisés par des microorganismes, compromettant ainsi leur efficacité thérapeutique. Ils peuvent également entraîner une détérioration du médicament et une modification de ses propriétés physico-chimiques et organoleptiques (**Denyer et al., 2011**).

## **b. Risque d'infection**

Les produits pharmaceutiques contaminés peuvent présenter un risque important d'infection chez le patient, bien que l'étendu du danger varie d'un médicament à un autre, selon la voie d'administration, le type et le nombre de microorganismes ou encore la toxicité de leurs produits (**Denyer et Baird, 2007**).

## **3. Maitrise de la contamination microbienne**

Dans le but de garantir la qualité des médicaments fabriqués et de sécuriser la santé du patient, la maitrise de la contamination microbiologique occupe une position clé dans l'industrie pharmaceutique. Celle-ci doit permettre de limiter l'impact des contaminants au cours du processus de fabrication, mais également mettre en place des actions correctives (**Feinberg, 2001**).

### **3.1. Utilisation de matières de haute qualité**

Les matières premières doivent être identifiées de manière à éviter toute erreur d'utilisation et stockées dans des conditions optimales afin de prévenir leur dégradation et leur contamination. Les systèmes de production et de distribution des eaux doivent également être conçus pour empêcher la prolifération des microorganismes et la formation de biofilms (**Baird et Bloomfield, 1996**).

### **3.2. Surveillance de l'environnement**

Des conditions environnementales adaptées au processus de fabrication sont nécessaires pour réduire la viabilité, la survie et le développement de microorganismes. Différents paramètres doivent donc être régulièrement contrôlés tels que la température, l'humidité et la circulation de l'air dans les zones de production (**Jimenez, 2004**).

### **3.3. Hygiène et formation du personnel**

Le personnel impliqué dans la fabrication est tenu de respecter les règles d'hygiène et de sécurité, qui visent à limiter les niveaux de contamination microbienne. Il doit également être formé et qualifié afin de réaliser correctement toute opération spécifique à son poste de travail (**McCormick, 2002**).

### **3.4. Nettoyage et désinfection**

Les locaux et le matériel de production doivent faire l'objet d'une maintenance préventive et être régulièrement nettoyés et désinfectés afin d'éliminer toute sorte de contaminants microbiologiques. Ces opérations doivent être effectuées à chaque étape du procédé de fabrication et faire l'objet d'une validation (**Bouchard, 2009**).

## **IV. Contrôle microbiologique**

La qualité microbiologique d'un médicament est évaluée par une série de contrôles effectuée tout au long de la chaîne de production, y compris au niveau du produit fini. Ces tests consistent à quantifier, détecter et identifier le nombre et le type de microorganismes présents dans un échantillon pharmaceutique (**Chauhan et Jindal, 2020**).

### **1. Échantillonnage**

Les échantillons destinés à l'analyse microbiologique doivent être prélevés de manière appropriée afin de minimiser les risques de contaminations accidentelles, qui pourraient influencer les résultats de façon significative. Les aspects pris en considération lors de l'échantillonnage sont les suivants :

- L'échantillonnage doit être effectué dans des conditions aseptiques, par un personnel qualifié et dans des récipients pré-stérilisés.
- L'intervalle entre le prélèvement et la réalisation du test doit être minimisé afin d'éviter une augmentation de la charge microbienne. Si nécessaire, l'échantillon doit être stocké à des températures appropriées.
- Le numéro de lot, la date et le lieu du prélèvement doivent être convenablement indiqués pour faciliter l'identification de l'échantillon.
- La taille de l'échantillon doit être représentative du lot considéré.
- La préparation des échantillons s'effectue par l'ajout d'un agent neutralisant afin d'annuler l'activité antimicrobienne ou d'un tensio-actif pour mélanger les produits non hydrosolubles (**Baird et al., 2000**).

### **2. Contrôle environnemental**

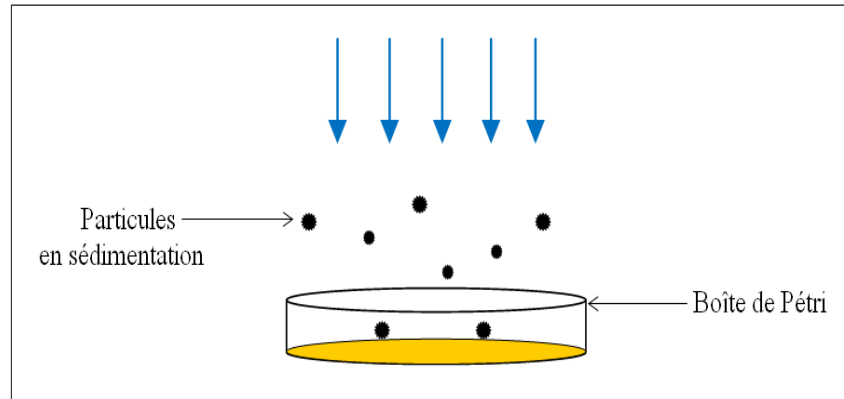
La surveillance environnementale décrit les tests microbiologiques entrepris afin d'évaluer la charge microbienne dans les zones de production. Les résultats obtenus fournissent des informations sur la performance des systèmes de filtration de l'air, l'hygiène du personnel, ainsi que l'efficacité des programmes de nettoyage et de désinfection (**Roesti et Goverde, 2020**).

#### **2.1. Contrôle de l'air**

Le contrôle microbiologique de l'air permet de déterminer la charge microbienne entourant les opérations de fabrication. Deux méthodes sont principalement utilisées : la méthode par sédimentation et la méthode par aspiration.

##### **2.1.1. Méthode par sédimentation : Prélèvement passif de l'air**

Des boîtes de Pétri, contenant des milieux de culture non sélectifs sont déposées à des endroits précis, pendant une durée prédéterminée afin de recueillir par sédimentation les microorganismes présents dans l'air. Après incubation, les colonies obtenues sont dénombrées et si nécessaire identifiées (**figure 04**) (**Sandle, 2016**).



**Figure 04 :** Méthode par sédimentation pour réaliser un prélèvement passif de l'air (Tordjman-Valency, 2016).

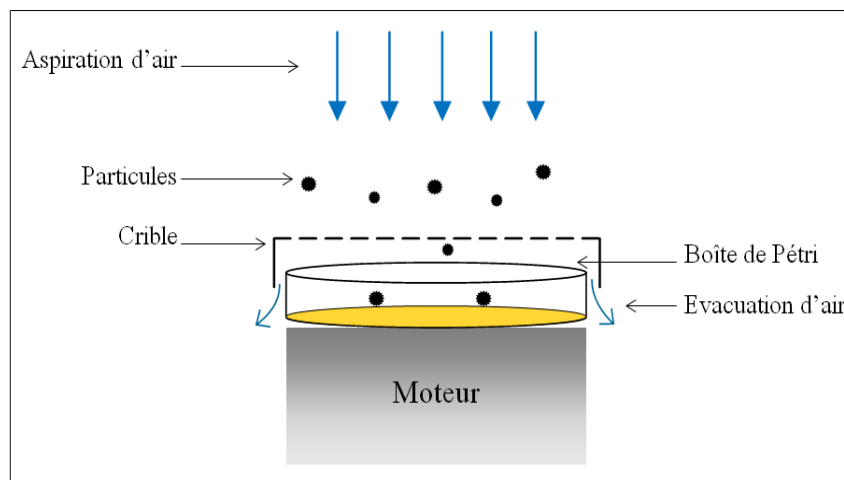
Les avantages et les inconvénients de la méthode par sédimentation sont présentés dans le tableau I.

**Tableau I :** Avantages et inconvénients de la méthode par sédimentation (Baird *et al.*, 2000).

METHODE PAR SEDIMENTATION	
Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Offre un moyen simple et peu coûteux de surveillance des niveaux de contamination aérienne.</li> <li>- Ne nécessite pas de matériel spécifique.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ne permet pas d'obtenir des résultats quantitatifs et transposables à toute la zone.</li> <li>- Temps de prélèvement long (jusqu'à 4 heure par boîte).</li> </ul>

### 2.1.2. Méthode par aspiration : Prélèvement actif de l'air

Un biocollecteur est un appareil qui consiste à aspirer un certain volume d'air à travers une surface poreuse afin de récupérer les microorganismes en suspension sur la gélose d'une boîte de Pétri placée dans le dispositif. Le résultat final est exprimé en nombre d'unité formant colonie (UFC) par volume d'air échantillonné (figure 05) (Sandle, 2016).



**Figure 05 :** Méthode par aspiration pour réaliser un prélèvement actif de l'air (Tordjman-Valency, 2016).

Les avantages et les inconvénients de la méthode par aspiration sont résumés dans le tableau II.

**Tableau II :** Avantages et inconvénients de la méthode par aspiration (Baird et al., 2000).

<b>METHODE PAR ASPIRATION</b>	
<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>– Facilité d'utilisation.</li> <li>– Rapidité du prélèvement (environ 10 minutes).</li> <li>– Évaluation quantitative du nombre de microorganismes par volume d'air prélevé.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Relativement coûteux.</li> <li>– Dessèchement de la gélose si le débit d'air est élevé ou l'humidité trop faible.</li> <li>– Altération de la viabilité des microorganismes si la durée du prélèvement est trop longue.</li> </ul>

## 2.2. Contrôle des surfaces

Toutes les surfaces de production doivent faire l'objet d'un contrôle microbiologique régulier afin de s'assurer que les préparations s'effectuent dans des conditions permettant de limiter l'apport microbien. Deux méthodes peuvent être appliquées pour détecter la présence de ces microorganismes : la méthode par boîte contact et la méthode par écouvillonnage.

### 2.2.1. Méthode par boîte contact

Une boîte de Pétri, présentant une gélose surélevée est pressée contre la surface à analyser, permettant ainsi le transfert direct des microorganismes dans le milieu de culture. Cette méthode est couramment utilisée dans l'échantillonnage des surfaces planes, qui doivent être par la suite nettoyées afin d'éliminer tous les nutriments résiduels laissés par la gélose. Des dispositifs peuvent être utilisés pour garantir que les boîtes sont appliquées avec une pression contrôlée, constante et uniforme (Hanlon et Hodges, 2013).

### 2.2.2. Méthode par écouvillonnage

Un écouvillon humide et stérile est frotté dans un mouvement de torsion sur la surface à contrôler puis utilisé dans l'ensemencement des milieux de culture. Cette méthode est la plus adaptée pour l'échantillonnage des surfaces irrégulières et difficiles d'accès (Jimenez, 2004).

## 2.3. Contrôle du personnel

Des échantillons microbiologiques du personnel de fabrication doivent être immédiatement prélevés après avoir effectué des activités critiques ou dans le cadre d'un contrôle continu. L'approche la plus courante comprend l'écouvillonnage de la surface des vêtements et la méthode des empreintes digitales, qui consiste à presser chaque doigt ganté sur une gélose nutritive pendant quelques secondes (Halls, 2004).

### 3. Contrôle de l'eau

Dans les industries pharmaceutiques, l'eau est essentiellement utilisée en tant qu'excipient dans la formulation des médicaments ou comme élément principal dans le nettoyage des surfaces, des équipements et des matériaux d'emballage. Compte tenu de son importance, elle doit être soumise à des contrôles microbiologiques réguliers afin de répondre aux normes de qualité exigées par la pharmacopée (Aulton et Taylor, 2013).

#### 3.1. Eaux à usage pharmaceutique

Plusieurs types d'eau peuvent être utilisés dans la fabrication pharmaceutique. Celles-ci se distinguent par leurs usages, leurs caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques.

##### a. Eau potable

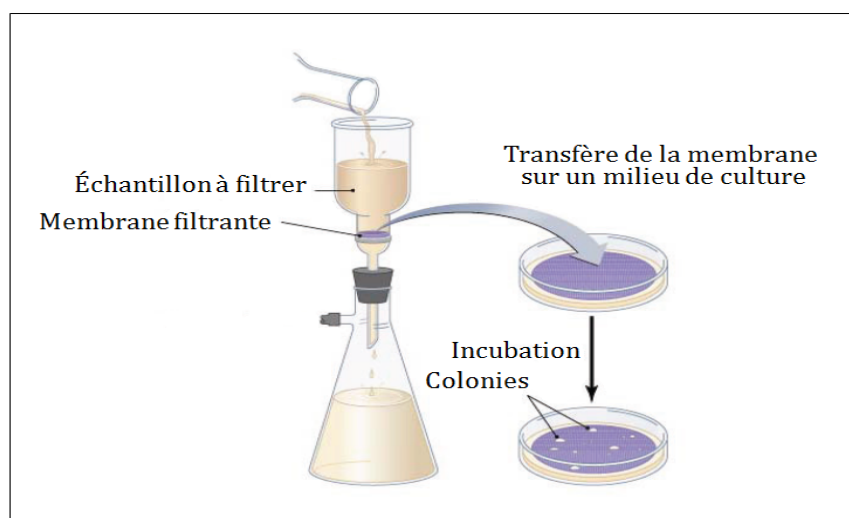
L'eau potable est une eau qui n'est pas pure sur le plan bactériologique, mais qui ne doit pas contenir de microorganismes pathogènes. Elle est issue du réseau de distribution public et ne nécessite pas de traitement supplémentaire par l'industrie (Levacher, 2006).

##### b. Eau purifiée

L'eau purifiée est une eau destinée à la préparation des médicaments autres que ceux qui doivent être stériles et exempts de pyrogènes. Elle est produite à partir d'une eau potable et stockée dans des conditions limitant la croissance microbienne (Sandle, 2019).

#### 3.2. Méthode de filtration sur membrane

La filtration sur membrane est la méthode de choix utilisée dans l'analyse microbiologique de l'eau. Elle permet de concentrer les microorganismes potentiellement présents dans l'échantillon sur une membrane filtrante, qui sera transférée de manière aseptique sur un milieu de culture approprié au développement des bactéries (figure 06) (Baird et al., 2000).



**Figure 06 :** Méthode de filtration sur membrane (Sugrim, 2011).

Cette technique permet de fournir un test extrêmement sensible et de traiter des volumes importants d'échantillons. Cependant, la surface de la membrane disponible pour supporter la croissance microbienne est relativement petite et le nombre de microorganismes peut s'avérer indénombrable s'il est anormalement élevé (**Baird et al., 2000**).

#### **4. Contrôle du produit fini**

Une fois que l'eau, l'air, le personnel et les surfaces ont été échantillonnés et analysés, un contrôle du produit fini doit être effectué avant sa libération. D'un point de vue microbiologique, les médicaments peuvent être divisés en deux catégories : les produits stériles et les produits non obligatoirement stériles.

##### **a. Produit stérile**

Les produits stériles sont des produits qui doivent être exempts de microorganismes, en raison de la méthode par laquelle ils sont administrés au patient (parentérale, otique et ophtalmique). Leur contrôle microbiologique comprend un test de stérilité, ainsi qu'une recherche de pyrogènes et d'endotoxines (**McCormick, 2002**).

##### **b. Produit non obligatoirement stérile**

Une contamination microbienne peut être tolérée dans les produits pharmaceutiques non stériles tels que les inhalations, les comprimés, les liquides oraux et les crèmes. Les tests microbiologiques se limitent donc à déterminer le nombre et le type de microorganismes présents dans le produit (**Halls, 2004**).

# *Matériel et méthodes*

## 1. Cadre de l'étude

Notre stage pratique a été réalisé au niveau de l'unité de production pharmaceutique GSK (GlaxoSmithKline) durant la période du mois de Mai à Juin.

L'objectif principal de ce travail consiste à contrôler la qualité microbiologique de l'environnement, de l'eau et du produit fini Clamoxyl® comprimé 1g.

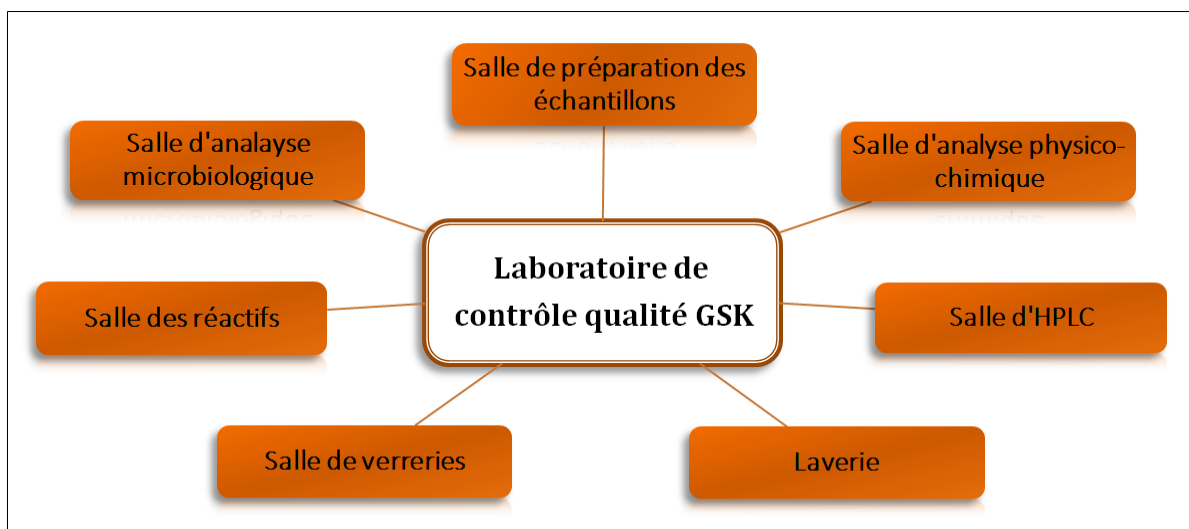
## 2. Présentation du lieu du stage

GSK est une multinationale anglaise spécialisée dans la conception ainsi que la production de médicaments et de vaccins dans plusieurs domaines thérapeutiques, comme la pneumologie, l'oncologie et l'antibiothérapie. Elle fait partie des plus grands laboratoires pharmaceutiques impliqués dans la fabrication d'antibiotiques en Algérie (**figure 07**).



**Figure 07** : Unité de production pharmaceutique GSK - Boumerdès.



L'unité de production pharmaceutique GSK dispose d'un laboratoire de contrôle chargé de surveiller la qualité de ses produits (**figure 08**).



**Figure 08** : Présentation du laboratoire de contrôle de qualité de GSK.

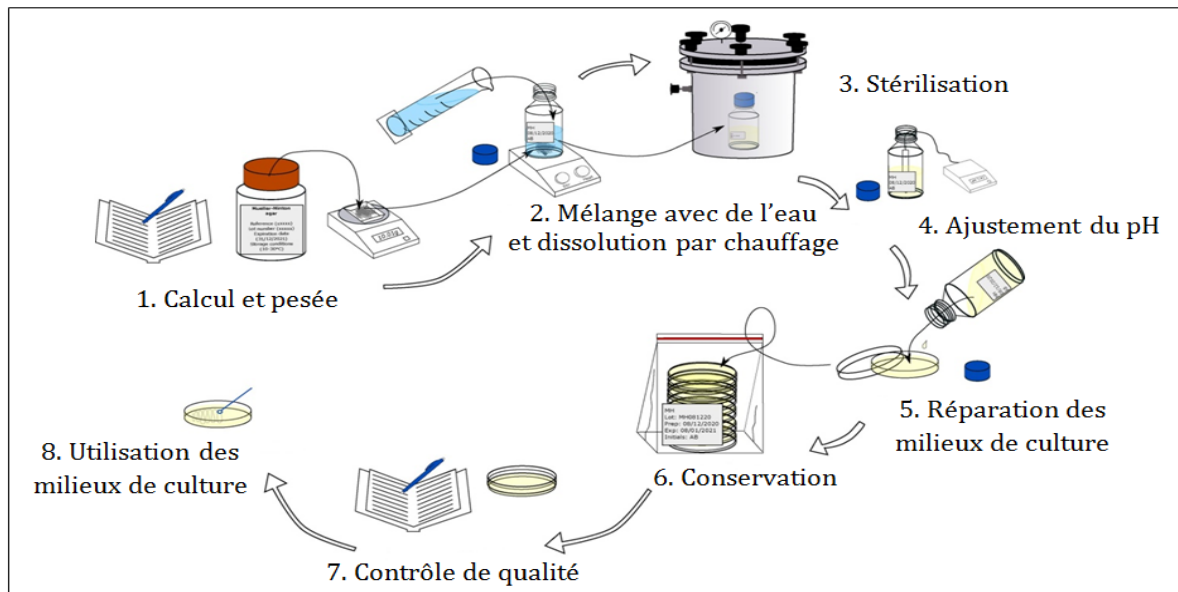
Les principaux antibiotiques produits au niveau du site GSK sont présentés dans le Tableau III.

**Tableau III** : Principaux antibiotiques fabriqués par GlaxoSmithKline.

	Formes et posologies disponibles	Figures
<b>Clamoxyl®</b>	<p>Clamoxyl comprimé 1g.</p> <p>Clamoxyl poudre pour suspension buvable 250mg/5mL.</p> <p>Clamoxyl poudre pour suspension buvable 500mg/5mL.</p>	
<b>Augmentin®</b>	<p>Augmentin poudre pour suspension buvable sachet 500mg/62,5mg.</p> <p>Augmentin poudre pour suspension buvable sachet 1000mg/125mg.</p> <p>Augmentin poudre pour suspension buvable 100mg/12,5mg/mL.</p>	

### 3. Préparation des milieux de culture

La plupart des milieux de culture se présentent sous forme déshydratée, ce qui permet d’assurer une composition constante, un stockage facile et une préparation simplifiée. Lors de la reconstitution de ces milieux, la poudre est mélangée au volume d’eau préconisé, puis dissoute par chauffage, sous agitation fréquente. Après refroidissement, le milieu est réparti dans des récipients appropriés et stérilisé dans un cycle d’autoclavage à 120°C pendant 15 à 20 minutes. Le pH est mesuré et si nécessaire ajusté par addition de NaOH (solution basique) ou HCl (solution acide) (**annexe II**). Les flacons étiquetés sont conservés au réfrigérateur à une température de 2 à 8°C et leur utilisation ultérieure est conditionnée par la réalisation de deux tests assurant leur qualité (**figure 09**).



**Figure 09** : Principales étapes de la préparation des milieux de culture (Orekan et al., 2021).

### 3.1. Test de stérilité

La vérification de la stérilité des milieux de culture, qu'ils soient solides ou liquides, consiste à les incuber à des températures appropriées à la croissance microbienne afin de contrôler leur non contamination lors de la préparation et de la conservation, mais également d'éliminer les résultats faux positifs. L'absence de développement de microorganismes indique que ces milieux sont stériles et qu'ils peuvent être utilisés.

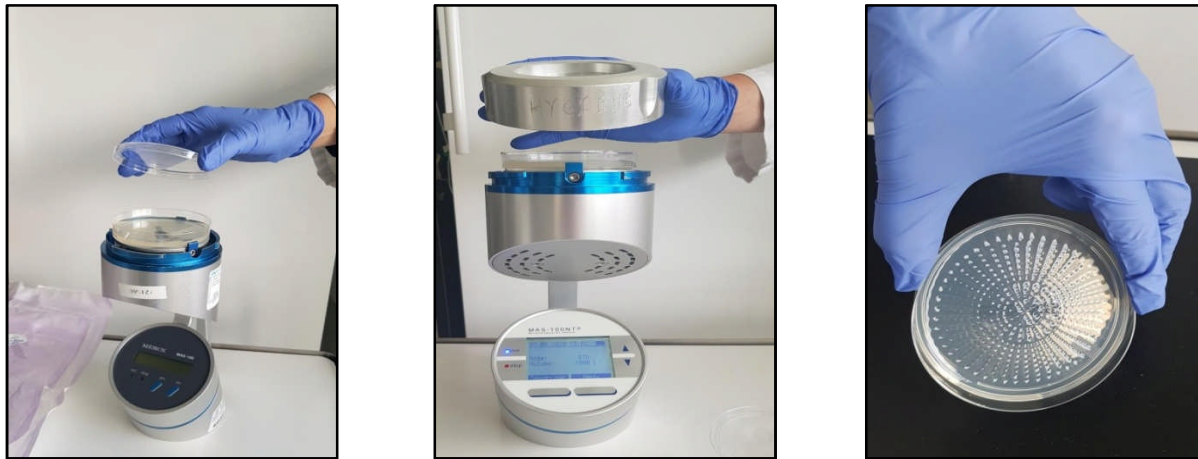
### 3.2. Test de fertilité

Le test de fertilité consiste à contrôler la performance nutritionnelle des milieux de culture afin de s'assurer que ces derniers réunissent les conditions favorables à une prolifération normale des microorganismes. Ainsi, chaque milieu utilisé estensemencé avec une suspension bactérienne de référence, dont la charge microbienne est inférieure ou égale à 100 UFC/mL puis incubé à une température optimale pendant un temps déterminé. Un résultat positif se traduit par l'apparition de colonies caractéristiques sur les milieux gélosés.

## 4. Contrôle microbiologique de l'air

Le prélèvement actif de l'air est effectué de la manière suivante (**figure 10**) :

- Placer le biocollecteur Mas-100 sur un support stable à environ 1 m du sol puis ouvrir le couvercle perforé et insérer une boîte de Pétri de 90 mm contenant le milieu nutritif Trypcase soja agar (TSA) additionné de pénicillinase.
- Positionner l'appareil selon le sens du flux d'air et le programmer de sorte à prélever un volume de 1 m<sup>3</sup> pour une durée d'échantillonnage qui ne dépasse pas 10 minutes.
- Incuber les boîtes de Pétri et les témoins négatifs à 30 – 35°C pendant 48 heures pour la numération des bactéries aérobies viables puis à 20 – 25°C pendant 72 heures pour la numération des levures et moisissures.

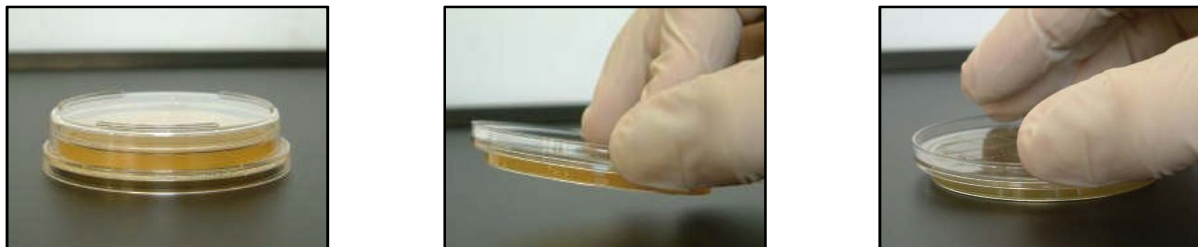


**Figure 10** : Prélèvement actif de l'air par biocollecteur Mas-100.

## 5. Contrôle microbiologique des surfaces

L'échantillonnage des surfaces par la méthode de boîte contact est effectué de la manière suivante (**figure 11**) :

- Appliquer manuellement une boîte de Pétri de type Rodac pendant 10 secondes sur la surface à examiner, tout en s'assurant que la totalité de la gélose est en contact avec cette dernière.
- Incuber les boîtes ainsi que les témoins négatifs de chaque milieu aux temps et températures appropriés à la croissance microbienne.
- Nettoyer la surface échantillonnée avec de l'alcool 70° afin d'enlever toute trace d'agar résiduel.



**Figure 11** : Échantillonnage des surfaces par la méthode de boîte contact.

Les températures et temps d'incubation des milieux de culture utilisés dans le contrôle microbiologique des surfaces sont présentés dans le tableau IV.

**Tableau IV** : Températures et temps d'incubation des milieux de culture pour le contrôle microbiologique des surfaces.

Tests	Milieux de culture	Température d'incubation	Durée d'incubation
Numération des bactéries aérobies viables	Trypcase soja agar	30 – 35°C	48 heures
Numération des levures et moisissures	Sabouraud glucose gélosé	20 – 25°C	72 heures

## 6. Contrôle microbiologique de l'eau

Les points de prélèvement sélectionnés pour le contrôle de l'eau potable et de l'eau purifiée sont présentés dans le tableau V.

**Tableau V** : Description des points de prélèvement de l'eau potable et de l'eau purifiée.

Points de prélèvement	Description
P2	Eau potable en amont de la station de l'eau purifiée
P14	Eau potable mélangeur
P6	Eau purifiée à la cuve de stockage
P8	Eau purifiée aux points d'utilisation

### 6.1. Procédé de contrôle

L'analyse bactériologique de l'eau en utilisant la technique de filtration sur membrane est réalisée selon la procédure suivante (**figure 12**) :

- Désinfecter les vannes de sortie d'eau purifiée et potable avec de l'alcool à 70° puis stériliser à l'aide d'un bec bunsen.
- Laisser couler l'eau pendant environ 1 minute puis recueillir dans des flacons stériles et convenablement étiquetés le volume nécessaire à l'analyse microbiologique.
- Réaliser le contrôle aussitôt le prélèvement effectué, sous une hotte à flux laminaire et à l'aide d'une rampe de filtration.
- Homogénéiser les échantillons en agitant vigoureusement les flacons puis laisser reposer un certain temps afin de stabiliser le mélange de microorganismes.
- Filtrer une quantité de 100 mL d'eau à travers une membrane stérile de 0.22 µm de porosité puis déposer cette dernière sur une boîte de Pétri contenant le milieu adapté.
- Incuber les milieux de culture et leur témoin négatif dans des conditions appropriées à la croissance microbienne.



**Figure 12** : Contrôle microbiologique de l'eau par la méthode de filtration sur membrane.

#### a. Dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT)

Pour réaliser ce dénombrement, la membrane a été transférée aseptiquement sur une boîte de Pétri contenant le milieu de culture R2A et incubée à 30 – 35°C pendant 5 jours. La lecture des résultats a été effectuée à l'aide d'un compteur de colonies.

## **b. Recherche des Entérobactéries**

Deux boîtes de Pétri contenant la gélose lactosée au TTC et au Tergitol-7 ont été incubées pendant 48 heures à 30 – 35°C pour la recherche des entérobactéries et à 42 – 44°C pour la recherche d'*Escherichia coli*. En présence de colonies rouges, un isolement sur gélose MacConkey puis une identification biochimique sur galeries API doivent être effectués.

## **c. Recherche de *Pseudomonas aeruginosa***

La membrane a été déposée sur une boîte de Pétri contenant la gélose Cétrimide puis incubée à 30 – 35°C pendant 24 à 48 heures. En présence de bacilles Gram négatifs, un test d'oxydase et une identification biochimique sur galeries API doivent être réalisés.

## **d. Recherche de streptocoques fécaux**

La même opération a été réalisée pour la recherche des streptocoques fécaux, en utilisant le milieu sélectif Slanetz et Bartley. En cas de croissance de colonies, une coloration de Gram et des tests biochimiques doivent être effectués.

## **7. Contrôle microbiologique du produit fini**

### **7.1. Présentation du médicament**

Le contrôle de la qualité microbiologique du produit fini a été effectué sur Clamoxyl® comprimé 1g, qui est un antibiotique préconisé dans la prévention et le traitement d'infections bactériennes diverses. Il appartient à la famille des bêta-lactamines à spectre large et a pour principe actif l'Amoxicilline.

### **7.2. Préparation de l'échantillon**

À partir d'un mélange moyen des échantillons prélevés dans des conditions d'asepsie, 10 g ont été pesés puis dilués dans 90 mL de la solution tampon peptonée au chlorure de sodium pH 7,0. Un volume de 10 mL de l'agent neutralisant pénicillinase a ensuite été ajouté afin d'inhiber l'activité antimicrobienne du produit à analyser.

### **7.3. Méthode de dénombrement sur plaque**

Le contrôle microbiologique du produit fini en utilisant la méthode de dénombrement sur plaque est réalisé selon la procédure suivante :

- Introduire dans une boîte de Pétri 1 mL de l'échantillon préparé puis ajouter 15 à 20 mL du milieu gélosé liquéfié et refroidi à une température ne dépassant pas 45°C.
- Agiter doucement les boîtes par un mouvement circulaire afin d'assurer un mélange homogène puis incuber aux temps et températures appropriés.
- Effectuer un contrôle sur un témoin négatif préparé en substituant le diluant choisi à la préparation à examiner pour vérifier les conditions opératoires.

Les germes recherchés et les milieux de culture utilisés dans le contrôle du produit fini ainsi que leurs conditions d'incubation sont présentés dans le Tableau VI.

**Tableau VI :** Germes recherchés et milieux de culture utilisés dans le contrôle du produit fini.

Tests	Milieux de culture	Température d'incubation	Durée d'incubation
Dénombrement des germes aérobies totaux	Trypcase soja agar	30 – 35°C	5 jours
Dénombrement des moisissures et levures totales	Sabouraud dextrose gélosé	20 – 25°C	7 jours

#### **7.4. Recherche d'*Escherichia coli***

Pour mettre en évidence la présence ou l'absence d'*E. coli* dans le produit à analyser, on procède comme suit :

- Le milieu liquide aux peptones de caséine soja estensemencé avec 10 mL du produit dilué puis incubé à 30 – 35°C pendant 18 à 24 heures.
- Après incubation, 1 mL de l'inoculum est transféré dans 100 mL du bouillon MacConkey et incubé à 42 – 44°C pendant 24 à 48 heures.
- Un repiquage est ensuite réalisé sur le milieu gélosé MacConkey, qui sera incubé à 30 – 35°C pendant 18 à 72 heures.
- La présence d'*E. coli* est indiquée par la croissance de colonies rouges entourées d'un halo et sera confirmée par des essais d'identification.

Le procédé du contrôle microbiologique du produit fini Clamoxyl® comprimé 1g est récapitulé dans la **figure 13**.

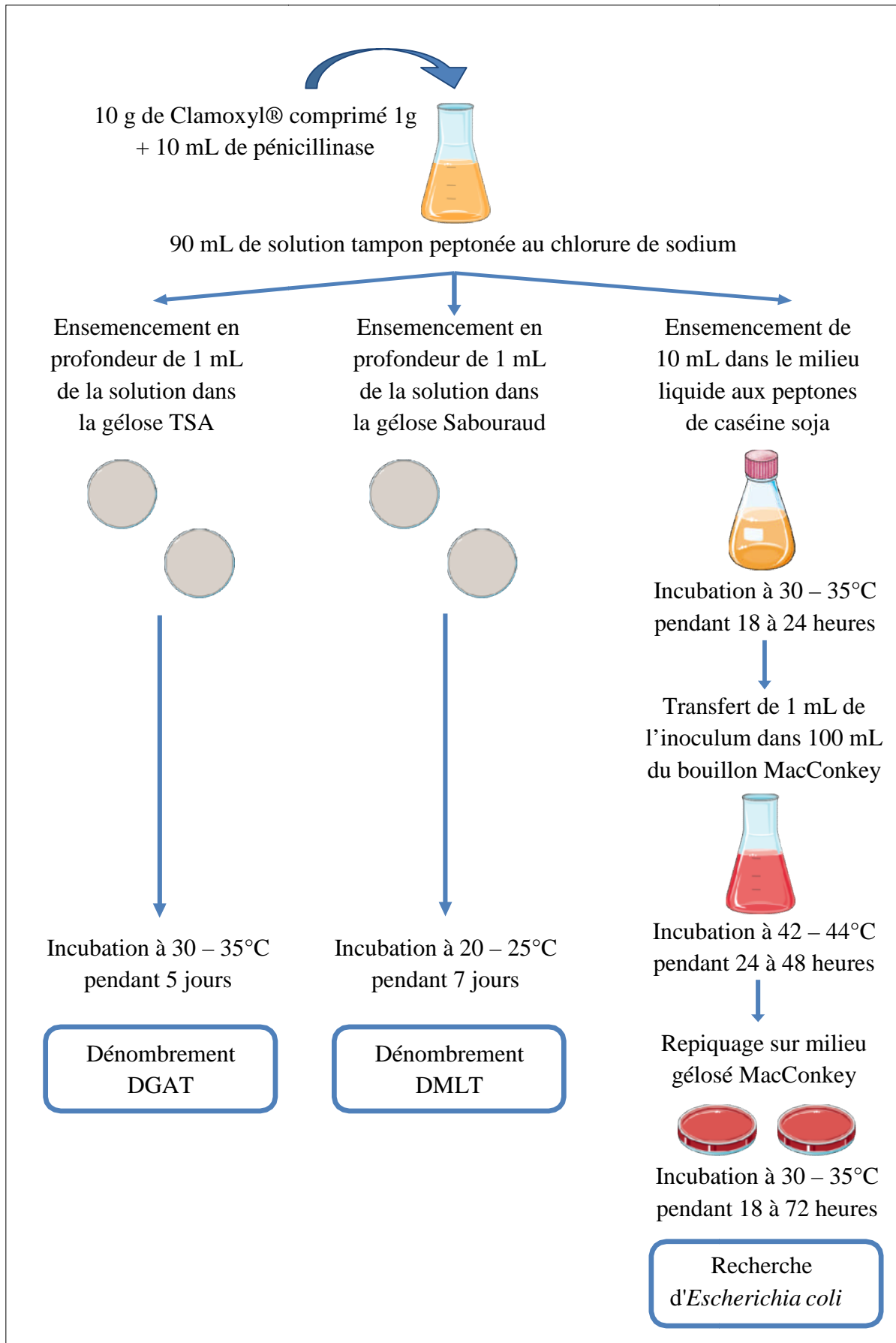


Figure 13 : Procédé de contrôle microbiologique du produit fini Clamoxyl® comprimé 1g.

# *Résultats et discussion*

Dans cette partie, sont présentés les résultats des analyses microbiologiques obtenus par dénombrement sur un compteur de colonies. Ces derniers sont comparés aux normes préconisées par la 9<sup>e</sup> édition de la pharmacopée européenne et aux exigences internes de la société GSK.

## 1. Contrôle de qualité des milieux de culture

### 1.1. Test de stérilité

Les résultats du test de stérilité effectué sur les milieux de culture sont présentés dans le tableau VII.

**Tableau VII :** Résultats du test de stérilité des milieux de culture.

Milieux de culture	Température d'incubation	Durée d'incubation	Résultats
Trypcase soja agar	30 – 35°C	≤ 3 – 4 jours	Absence de croissance microbienne
Gélose Sabouraud	20 – 25°C	≤ 5 jours	
Gélose R2A	30 – 35°C	≤ 3 – 5 jours	
Gélose lactosée au TTC et au Tergitol-7	30 – 35°C	≤ 3 – 4 jours	
Gélose au Cétrimide	30 – 35°C	≤ 3 – 4 jours	
Gélose Slanetz et Bartley	30 – 35°C	≤ 3 – 4 jours	
Gélose MacConkey	35°C	≤ 5 jours	
Bouillon MacConkey	42°C	≤ 5 jours	Absence de trouble
Milieu liquide aux peptones de caséine et de soja	30 – 35°C	≤ 3 – 5 jours	

Les résultats obtenus montrent une absence totale de toute prolifération microbienne dans les milieux liquides et solides, ce qui confirme leur stérilité et leur adéquation pour la réalisation des différents contrôles microbiologiques.

**1.2. Test de fertilité**

Les résultats du test de fertilité effectué sur les milieux de culture sont présentés dans le tableau VIII.

**Tableau VIII :** Résultats du test de fertilité des milieux de culture.

Milieux de culture	Germes recherchés	Température d'incubation	Résultats
Trypcase soja agar (TSA)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Bacillus spizizenii</i> <i>Candida albicans</i>	30 – 35°C	Croissance positive
Gélose Sabouraud	<i>Candida albicans</i> <i>Aspergillus brasiliensis</i>	20 – 25°C	
Gélose R2A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Bacillus spizizenii</i>	30 – 35°C	
Gélose lactosée au TTC et au Tergitol-7	<i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Bacillus spizizenii</i>	30 – 35°C	
Gélose au Cétrimide	Contrôle positif : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30 – 35°C	Croissance positive
	Contrôle négatif : <i>Escherichia coli</i>		Inhibition complète
Gélose Slanetz et Bartley	Contrôle positif : <i>Enterococcus faecalis</i>	30 – 35°C	Croissance positive
	Contrôle négatif : <i>Staphylococcus aureus</i>		Inhibition complète
Gélose MacConkey	<i>Escherichia coli</i>	35°C	Croissance positive
Bouillon MacConkey	<i>Escherichia coli</i>	42°C	
Milieu liquide aux peptones de caséine et de soja	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Bacillus subtilis</i>	30 – 35°C	Croissance positive

Les résultats du test de fertilité montrent que tous les milieux de culture qui présentent un développement microbien par rapport aux témoins négatifs sont de bonne qualité nutritive et sélective.

**2. Contrôle microbiologique de l'air**

Les résultats expérimentaux de l'analyse microbiologique de l'air sont présentés dans le tableau IX.

**Tableau IX :** Résultats du contrôle microbiologique de l'air dans le laboratoire de microbiologie et les locaux de production.

Points de prélèvement		Flux d'air	Nombre de colonies/boite (Bactéries aérobies Levures et moisissures)	Normes (UFC/m <sup>3</sup> d'air)
Laboratoire de microbiologie	Salle d'ensemencement	Soufflage	03	≤ 200
		Reprise	07	
	Salle d'incubation	Soufflage	02	
		Reprise	04	
	Hotte à flux laminaire	–	<1	< 1
Locaux de production	Cabine de pesée	Soufflage	02	≤ 200
		Reprise	03	
	Atelier de compression	Soufflage	09	
		Reprise	10	
	Atelier de stockage	Soufflage	11	
		Reprise	10	

L'analyse microbiologique de l'air montre que les résultats sont conformes aux normes préconisées par la 9<sup>e</sup> édition de la pharmacopée européenne et cela au niveau des différents points testés au sein du laboratoire et des locaux de production.

### 3. Contrôle microbiologique des surfaces

Les résultats obtenus lors du contrôle microbiologique des surfaces sont présentés dans le tableau X.

**Tableau X :** Résultats du contrôle microbiologique des surfaces du laboratoire de microbiologie et des locaux de production.

Surfaces échantillonnées		Nombre de colonies/boite		Normes (UFC/boite)
		Bactéries	Levures et moisissures	
Laboratoire de microbiologie	Etuves	01	01	≤ 50
	Paillasse	02	04	
	Mur	07	01	
Locaux de production	Équipement atelier mélange	06	18	
	Balance cabine de prélèvement	11	17	
	Sol couloir de circulation	03	13	

Les résultats du contrôle microbiologique des surfaces effectué au niveau des différents points de l'unité de production pharmaceutique GSK sont conformes aux normes exigées par la 9<sup>e</sup> édition de la pharmacopée européenne.

### 4. Contrôle microbiologique de l'eau

Les résultats expérimentaux de l'analyse bactériologique de l'eau potable et de l'eau purifiée sont présentés dans le tableau XI.

**Tableau XI :** Résultats de l'analyse bactériologique de l'eau potable et de l'eau purifiée.

Tests	Résultats	Normes (UFC/mL)
Dénombrement des germes aérobies totaux	<1	< 100 UFC/mL pour l'eau purifiée
		< 500 UFC/mL pour l'eau potable
Recherche des Entérobactéries	Absence	Absence
Recherche de coliformes fécaux ( <i>Escherichia coli</i> )	Absence	
Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Absence	
Recherche de streptocoques fécaux	Absence	

Les résultats du contrôle bactériologique de l'eau purifiée et de l'eau potable ont révélé une absence de microorganismes spécifiés au niveau des différents points de prélèvement, ainsi qu'un taux de germes aérobies totaux conforme aux normes recommandées par la 9<sup>e</sup> édition de la pharmacopée européenne.

### **5. Contrôle de qualité du produit fini**

Les résultats du contrôle de la qualité microbiologique du produit fini Clamoxyl® comprimé 1g sont présentés dans le tableau XII.

**Tableau XII :** Résultats du contrôle de la qualité microbiologique du produit fini Clamoxyl® comprimé 1g.

<b>Tests</b>	<b>Résultats (UFC/g)</b>	<b>Limites (UFC/g)</b>
Dénombrement des germes aérobies totaux	<1	≤ 1000
Dénombrement des moisissures et levures	<1	≤ 100
Recherche d' <i>Escherichia coli</i>	Absence	Absence

Les résultats du dénombrement ont révélé une absence de germes aérobies totaux, de levures et moisissures ainsi que d'*E. coli* dans le produit testé, ce qui indique qu'il est de bonne qualité microbiologique et conforme aux normes de la 9<sup>e</sup> édition de la pharmacopée européenne.

*Conclusion et  
recommandations*

La démarche qualité présente un intérêt majeur dans la production pharmaceutique et constitue une étape obligatoire dans la vérification de l'efficacité des médicaments délivrés aux consommateurs. Le stage que nous avons effectué au niveau du laboratoire pharmaceutique GlaxoSmithKline nous a permis de maîtriser les différentes méthodes d'analyse microbiologique appliquées dans le cadre du contrôle de qualité.

La surveillance microbiologique de l'environnement nous a permis d'obtenir des informations sur les niveaux de contamination microbienne des différents sites d'échantillonnage et leur conformité aux normes de la pharmacopée ainsi qu'aux exigences internes de la société GSK.

Le contrôle des paramètres bactériologiques de l'eau potable qui alimente l'industrie et de l'eau purifiée qui entre dans la production indique qu'elles sont conformes aux normes recommandées et peuvent donc être distribuées dans les différents points d'épuisement.

L'analyse microbiologique du produit fini Clamoxyl® comprimé 1g confirme qu'il est de bonne qualité hygiénique et conforme aux normes de la 9<sup>e</sup> édition de la pharmacopée européenne. Celui-ci ne présente donc aucun risque pour le patient et peut être commercialisé.

Au terme de notre étude, nous pouvons conclure que la chaîne de production pharmaceutique GSK est bien maîtrisée, structurée et réglementée. Toutefois, quelques recommandations peuvent être proposées :

- ✓ Effectuer un contrôle microbiologique du personnel.
- ✓ Mettre en place une procédure de validation des méthodes d'analyse microbiologique afin d'assurer des résultats fiables et reproductibles.
- ✓ Adopter des méthodes microbiologiques rapides, en vue d'améliorer le processus de contrôle et permettre une collecte de données en temps réel.

*Références  
bibliographiques*

**A**

Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. Bonnes Pratiques de Fabrication. Bulletin officiel N°2007/1bis, Fascicule spécial. Direction des Journaux Officiels, France, 115p.

Aiache J.M., Beyssac E., Cardot J.M., Hoffart V., Renoux R. (2008). Initiation à La Connaissance du Médicament. 5<sup>e</sup> édition, Elsevier Masson, France, 413p.

Aulton M.E., Taylor K.M.G. (2013). Aulton's Pharmaceutics : The Design and Manufacture of Medicines. 4<sup>e</sup> édition, Elsevier, Royaume-Uni, 910p.

**B**

Baird R.M., Bloomfield S.F. (1996). Microbial Quality Assurance in Cosmetics, Toiletries and Non-Sterile Pharmaceuticals. 2<sup>e</sup> édition, CRC Press, États-Unis, 272p.

Baird R.M., Hodges N.A., Denyer S.P. (2000). Handbook of Microbiological Quality Control in Pharmaceuticals and Medical Devices. 1<sup>er</sup> édition, CRC Press, États-Unis, 280p.

Barshikar R. (2020). Covid – 19 : Impact and New Normal for Pharmaceutical industry (Part – 1). *Journal of Generic Medicines*, 16 (3) : 112 – 119.

Bohrer D. (2012). Sources of Contamination in Medicinal Products and Medical Devices. 1<sup>er</sup> édition, John Wiley & Sons, États-Unis, 592p.

Bouchard J. (2009). Les Bonnes Pratiques de Fabrication Dans L'industrie Pharmaceutique : Enjeux, Défis et Applications. 1<sup>er</sup> édition, Les Presses de L'université Laval, Canada, 313p.

**C**

Chauhan A., Jindal T. (2020). Microbiological Methods for Environment, Food and Pharmaceutical Analysis. 1<sup>er</sup> édition, Springer Nature, Suisse, 487p.

Cohen Y., Jacquot C. (2008). Pharmacologie. 6<sup>e</sup> édition, Elsevier Masson, France, 512p.

**D**

Denyer S.P., Baird R.M. (2007). Guide to Microbiological Control in Pharmaceuticals and Medical Devices. 2<sup>e</sup> édition, CRC Press, États-Unis, 504p.

Denyer S.P., Hodges N., Gorman S.P., Gilmore B. (2011). Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology. 8<sup>e</sup> édition, Blackwell Publishing, Royaume-Uni, 524p.

**F**

Fauchère J.L., Avril J.L. (2002). Bactériologie Générale et Médicale. Ellipses Edition Marketing, France, 365p.

Feinberg M. (2001). L'assurance Qualité dans les Laboratoires Agroalimentaires et Pharmaceutiques. 2<sup>e</sup> édition, Éditions Tec & Doc, France, 355p.

Felton A.L. (2013). Remington : Essentials of Pharmaceutics. 1<sup>er</sup> édition, Pharmaceutical Press, Royaume-Uni, 784p.

*H*

Halls N. (2004). Microbiological Contamination Control in Pharmaceutical Clean Rooms. CRC Press, États-Unis, 200p.

Hanlon G., Hodges N.A. (2013). Essential Microbiology for Pharmacy and Pharmaceutical Science. 1<sup>er</sup> édition, John Wiley & Sons, Royaume-Uni, 240p.

*J*

Jimenez L. (2004). Microbial Contamination Control in The Pharmaceutical Industry. 1<sup>er</sup> édition, Marcel Dekker, États-Unis, 328p.

*L*

Le Hir A., Chaumeil J.D., Brossard D. (2009). Pharmacie Galénique : Bonnes Pratiques de Fabrication. 9<sup>e</sup> édition, Elsevier Masson, France, 382p.

Levacher E. (2006). Pharmacotechnie Industrielle. 2<sup>e</sup> édition, IMT Editions, France, 673p.

Lévy J.J., Garnier C. (2007). La Chaîne des Médicaments : Perspectives Pluridisciplinaires. Presses de l'Université du Québec, Canada, 522p.

*M*

Madigan M.T., Bender K.S., Buckley D.H., Sattley W.M., Stahl D.A. (2018). Brock Biology of Microorganisms. 15<sup>e</sup> édition, Pearson Education, Royaume-Uni, 1064p.

McCormick K. (2002). Quality : Pharmaceutical Engineering Series. 1<sup>er</sup> édition, Butterworth Heinemann, Royaume-Uni, 275p.

Moffat A.C., Osselton M.D., Widdop B., Watt J. (2011). Clarke's Analysis of Drugs and Poisons. 4<sup>e</sup> édition, Pharmaceutical Press, Royaume-Uni, 2736p.

Moulin M., Coquerel A. (2002). Pharmacologie : Connaissance et Pratique. 2<sup>e</sup> édition, Elsevier Masson, France, 845p.

Mohan P.V. (2022). Biomedical Product and Materials Evaluation : Standards and Ethics. 1<sup>er</sup> édition, Elsevier, Royaume-Uni, 806p.

**O**

Orekan J., Barbé B., Oeng S., Ronat J.B., Letchford J., Jacobs J., Affolabi D., Hardy L. (2021). Culture Media for Clinical Bacteriology in Low and Middle income Countries: Challenges, Best Practices for Preparation and Recommendations for improved Access. *Clinical Microbiology and Infection*, 27 : 1400 – 1408.

**R**

Rahal K. (2017). Les Antibiotiques. 2<sup>e</sup> édition, Office des Publications Universitaires, Algérie, 184p.

Roesti D., Goverde M. (2020). Pharmaceutical Microbiological Quality Assurance and Control : Practical Guide for Non-Sterile Manufacturing. 1<sup>er</sup> édition, John Wiley & Sons, États-Unis, 592p.

**S**

Sandle T. (2019). Biocontamination Control for Pharmaceuticals and Healthcare. 1<sup>er</sup> édition, Elsevier, Royaume-Uni, 374p.

Sandle T. (2016). Pharmaceutical Microbiology : Essentials for Quality Assurance and Quality Control. 1<sup>er</sup> édition, Elsevier, Royaume-Uni, 316p.

Sugrim K. (2011). Seasonal Prevalence of Faecal indicators and Enteric Pathogens in Suva Lagoon. Thèse de Master, Université du Pacifique Sud : Faculté des Sciences de la Technologie et de L'environnement, Fidji, 125p.

**T**

Talbert M., Willoquet G., Labayle D. (2001) Guide Pharmaco. 4<sup>e</sup> édition, Édition Lamare, France, 1598p.

Tordjman-Valency L. (2016). Défi du Dénombrement Microbien dans l'industrie Pharmaceutique : les Nouvelles Méthodes Alternatives sont-elles Appliquées ?. Thèse de Doctorat, Université Grenoble Alpes : Faculté de Pharmacie, France, 94p.

**U**

Ugvekar N., Kamath K.K., Subramanyam E.V.S., Shabaraya A.R (2021). A Review on Change Management System in Pharmaceutical Industry. *International Journal of Drug Regulatory*, 09 (3) : 37 – 41.

**W**

Wehrlé P. (2007). Pharmacie Galénique : Formulation et Technologie Pharmaceutique. 1<sup>er</sup> édition, Édition Maloine, France, 344p.

# *Annexes*

## Annexe I : Matériel et appareillage utilisés pour le contrôle microbiologique.

<b>Appareillage</b>		
Compteur de colonies	Rampe de filtration	
		
Biocollecteur Mas-100	Balance analytique	pH mètre
		
Autoclave	Hotte à flux laminaire	Étuves
		
<b>Matériel</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Gants stériles.</li> <li>- Alcool 70°.</li> <li>- Boîtes de Pétri.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Flacons stériles.</li> <li>- Bec Bunsen.</li> <li>- Membrane filtrante.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pince stérile.</li> <li>- Pipettes et embouts.</li> <li>- Anse stérile.</li> </ul>

## Annexe II : Composition des milieux de culture.

Milieux de culture	Composition
<b>Trypcase soja agar (TSA)</b>	Peptone de caséine.....15,0 g
	Peptone de soja..... 5,0 g
	Chlorure de sodium..... 5,0 g
	Agar..... 15,0 g
	pH = 7,3 ± 0,2
<b>Gélose Sabouraud</b>	Peptones .....10,0 g
	Glucose (ou Dextrose).....40,0 g
	Agar – Agar .....15,0 g
	pH = 5,6 ± 0,2
<b>Milieu R2A</b>	Extrait de levure ..... 0,5 g
	Protéose peptone .....0,5 g
	Hydrolysate de caséine .....0,5 g
	Glucose.....0,5 g
	Amidon soluble.....0,5 g
	Phosphate de potassium dibasique..... 0,3 g
	Pyruvate de sodium ..... 0,3 g
	Sulfate de magnésium..... 0,05 g
	Agar .....15,0 g
	pH = 7,2 ± 0,2
<b>Gélose lactosée au TTC et au Tergitol-7</b>	Peptone pancréatique de viande.....10,0 g
	Extrait de viande.....5,0 g
	Extrait autolytique de levure..... 6,0 g
	Lactose..... 20,0 g
	Tergitol.....10 mg
	TTC..... 25 mg
	Bleu de bromothymol.....50,0 mg
	Agar – Agar.....10,0 g
	pH = 7,2 ± 0,1
<b>Gélose au Cétrimide</b>	Peptone de gélatine .....20,0 g
	Chlorure de magnésium .....1,4 g
	Sulfate de potassium .....10,0 g
	Cétrimide ..... 0,3 g
	Glycérol .....10,0 mL
	Agar – Agar .....13,6 g
	pH = 7,2 ± 0,2

Milieux de culture	Composition
<b>Milieu liquide aux peptones de caséine et de soja</b>	Peptone pancréatique de caséine .....17,0 g
	Peptone papainique de soja..... 3,0 g
	Chlorure de sodium..... 5,0 g
	Phosphate dipotassique..... 2,5 g
	Glucose monohydraté.....2,5 g
	pH = 7,3 ± 0,2
<b>Milieu Slanetz et Bartley</b>	Tryptose.....20,0 g
	Extrait de levure.....5,0 g
	Glucose.....2,0 g
	Phosphate dipotassique.....0,4 g
	Azide de sodium.....0,4 g
	Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium..... 0,1 g
Agar – Agar.....10,0 g	
	pH = 7,2 ± 0,2
<b>Bouillon MacConkey</b>	Hydrolysate pancréatique de gélatine ..... 20,0 g
	Lactose monohydraté.....10,0 g
	Bile de bœuf déshydratée.....5,0 g
	Pourpre de bromocrésol .....10,0 g
	pH = 7,3 ± 0,2
<b>Gélose MacConkey</b>	Hydrolysate pancréatique de gélatine.....17,0 g
	Peptones de viande et de caséine.....3,0 g
	Lactose monohydraté.....10,0 g
	Chlorure de sodium.....5,0 g
	Sels biliaires .....1,5 g
	Agar.....13,5 g
	Rouge neutre..... 30,0 mg
Violet cristallisé.....1,0 mg	
	pH = 7,1 ± 0,2

## Résumé

L'industrie pharmaceutique se doit, d'un point de vue à la fois éthique, réglementaire et commercial de produire des médicaments présentant un haut degré de qualité. Pour cela, différents aspects microbiologiques doivent être pris en compte afin d'évaluer les risques de contamination microbienne.

Le présent travail porte sur le contrôle de la qualité microbiologique de l'environnement de l'unité de production pharmaceutique GlaxoSmithKline, de l'eau et du produit fini Clamoxyl® comprimé 1g.

Les analyses effectuées sur chacun de ces paramètres ont révélé une présence non significative de germes aérobies totaux, de levures et moisissures ainsi qu'une absence de germes spécifiés tels que *E. coli*, *P. aeruginosa*, etc. Ces résultats sont donc conformes aux normes décrites par la 9<sup>e</sup> édition de la pharmacopée européenne et aux exigences internes de la société GSK.

La conformité des résultats obtenus témoigne d'une bonne maîtrise de la chaîne de production et d'une bonne application des bonnes pratiques de fabrication (BPF) par un personnel qualifié et informé. À cela, s'ajoute l'efficacité des systèmes de filtration d'air, le maintien d'un nettoyage régulier des appareils et des locaux, ainsi qu'un bon fonctionnement des installations de purification d'eau.

**Mots clés :** qualité pharmaceutique, contamination microbienne, contrôle microbiologique, suivi environnemental, eaux pharmaceutiques, produit fini.

## Abstract

The pharmaceutical industry must, from an ethical, regulatory and commercial point of view, produce drugs with a high level of quality. For this, different microbiological aspects must be taken into account in order to evaluate the risks of microbial contamination.

This work concerns the control of microbiological quality of environment in GlaxoSmithKline pharmaceutical production unit, water and the finished product Clamoxyl® tablet 1g.

The analyzes carried out on each of these parameters revealed a non-significant presence of total aerobic germs, yeasts and molds as well as an absence of specified germs such as *E. coli*, *P. aeruginosa*, etc. These results therefore comply with the standards described by the 9<sup>th</sup> edition of European Pharmacopoeia and the internal requirements of GSK company.

The conformity of the results obtained testifies good control of the production chain and good application of good manufacturing practices (GMP) by qualified and informed personnel. Added to this, the effectiveness of air filtration systems, the regular cleaning of appliances and premises, as well as the proper functioning of water purification installations.

**Keywords :** pharmaceutical quality, microbial contamination, microbiological control, environmental monitoring, pharmaceutical water, finished product.