

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE BLIDA 1

Faculté Des Sciences Technologiques

Département de Chimie industrielle



MEMOIRE DE MASTER PROFESSIONNEL

En Génie Des Procédés

Spécialité : Pharmacie Industrielle

**Analyse des eaux pour dilution des solutions concentrées
pour hémodialyse.**

Par :

- Mlle Boudjellab Imene Nour El Houda
- Mlle Benmoussa Meriem Batoul

Promotion 2016/17

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE BLIDA 1

Faculté Des Sciences Technologiques

Département de Chimie industrielle



MEMOIRE DE MASTER PROFESSIONNEL

En Génie Des Procédés

Spécialité : Pharmacie Industrielle

**Analyse des eaux pour dilution des solutions concentrées
pour hémodialyse.**

Par :

- Benmoussa Meriem Batoul
- Boudjellab Nour Elhouda Imène

Devant le jury :

| | | | |
|---------------|-------------------------|---------------------|----------------------|
| O. Bourass | Professeur | Université de Blida | Président |
| A. Hadj-Ziane | Professeur | Université de Blida | Directeur de mémoire |
| Benssacia | Maître de conférences A | Université de Blida | Examinatrice |
| Mouloud | Maître de conférences A | Université de Blida | examineur |

Promotion 2016/17

REMERCIEMENTS

Nous remercions en premier lieu, ALLAH le tout puissant, le Clément, le Miséricordieux, de nous avoir donné la volonté et le courage de réaliser ce modeste travail.

Le travail présenté dans ce mémoire est le fruit de recherche, d'applications pratiques et d'observations personnelles. Sa réalisation a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voulons témoigner toute notre reconnaissance.

Nous tenons à exprimer nos sincères et vifs remerciements ainsi que notre profonde reconnaissance à notre chère promotrice Pr.Hadj Ziane pour avoir encadré notre mémoire.

Nous ne saurions remercier suffisamment notre co-promoteur Dr.Imoudache pour son aide, son orientation et les judicieux conseils qu'il nous a prodigués lors de l'effectuation des analyses physicochimiques et pour tous les efforts qu'il a fournis pour nous.

Nos plus vifs remerciements vont également au personnel du Groupe Saidal El Samar pour leur gentillesse et leur soutien notamment Mme Chader pour tout son aide et son accueil dans le service « Contrôle qualité microbiologique » pendant l'effectuation des analyses sur la contamination bactérienne.

Nos sincères remerciements à Dr. Riad Médecin néphrologue à l'hôpital « Mustapha Pacha » pour son aide et pour le temps qu'il a consacré pour nous.

Nos remerciements s'adressent aussi aux respectables membres du jury d'avoir accepté d'évaluer notre modeste travail.

Un grand merci pour toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réussite de notre travail.

Et enfin nous exprimons notre reconnaissance envers les amis et les camarades, qui nous ont apporté le support moral tout au long de notre démarche.

Imene

Meriem

Avec l'aide de dieu, le tout puissant et tout les gens qui m'aiment et qui m'ont soutenu j'ai pu achever ce modeste travail que je dédie à :

Mes très chers parents que nulle dédicace ne peut exprimer ce que je dois pour vos sacrifices et votre patience durant toutes mes années d'études. Ce travail n'est qu'un humble témoignage de mon grand et éternel amour, de mon infinie reconnaissance et de mon attachement indéfectible, que dieu préserve votre santé et vous accorde longue vie.

Ainsi, dans le même sillage je tiens à remercier :

Ma grand-mère paternelle Leila que dieu protège et bénie

Mes trois chères sœurs Wafa, Narimane et Sabrina.

Mes oncles et tantes en particulier ma tante Faiza et ma marraine Amina.

Tout les amis que j'ai eu de la chance de rencontrer au cours de ces années d'études.

Comme je tiens à rendre un vibrant hommage à :

Mes grands parents maternels rebi yerhemhem.

A Toi papi, Boualem qui a tant attendu ce jour là mais malheureusement tu es parti un peu tôt.

Imene N\H

J'ai l'immense Plaisir de dédier ce modeste travail à :

Ceux que j'aime le plus au monde, mes très chers et affectueux parents, pour leur soutien sans faille.

Ma douce grand-mère.

Mes sœurs Amina et Sarah.

Mon frère Oussama.

Ma cousine Loubna et ma sœur de cœur Manel.

Mon oncle et son épouse Khaoula.

Mes fidèles copines : Chanez , Nafissa , Nafila , Céline , Rosa , Lyna , Romeissa et Katia qui ont su me soutenir et m'encourager durant ce mémoire. Que les liens de l'amitié nous gardent toujours proches.

A tous mes amis et collègues du département de génie des procédés qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce mémoire.

Meriem.B

ملخص:

هذا المشروع يشمل مراقبة جودة المياه المستخدمة لتخفيف المحلول المركز لغسيل الكلى. عن طريق إجراء التحليل
البيئية: أوام الاختبارات الميكروبيولوجية، والتي تتكون من: اختبار عن التلوث الميكروبي وآخر على السحوم الداخلة. ثانيا
الاختبارات الفيزيوكيميائية وثالثا اختبار طيف الامتصاص الذري "SAA". ثم اقترحنا حلول التنظيف والتعقيم
لمعالجة مشاكل التلوث والنترات (Nitrate) الزائدة التي احفظناها خلال نتائج الاختبار.
الكلمات الرئيسية: "الاختبارات"; "التلوث"; "النترات"; "Nitrate" (نتائج الاختبار).

Résumé :

Le présent projet consiste à contrôler la qualité des eaux pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse. En effectuant les analyses suivantes : En premier lieu le test microbiologique, qui est constitué de: test sur la contamination microbienne et un autre sur les endotoxines. En deuxième lieu les tests physicochimiques et en troisième lieu le test de Spectrométrie d'absorption atomique. Ensuite nous avons proposé des solutions de nettoyage et de désinfection pour régler les problèmes de contamination et l'excès de Nitrate constatés lors des résultats des tests.

Mot clés : « Analyses » ; « Contamination » ; « Nitrate », « résultats des tests ».

Abstract :

This project involves monitoring the water quality for dilution of concentrated solutions for hemodialysis. By carrying out the following analyzes: First, the microbiological test, which consists of: microbial contamination test and endotoxins test. Secondly, the physicochemical tests and thirdly the Atomic Absorption Spectrometry test "SAA". Then we proposed cleaning and disinfection solutions to address the contamination problems and the Nitrate excess found during the test results.

Keywords: "Analyses"; "Contamination"; "Nitrate"; "test results".

Table des matières

| | |
|--|----|
| INTRODUCTION GENERALE | 1 |
| PROBLEMATIQUE | 3 |
| CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE | 4 |
| I.1. Le rôle physiologique du rein | 4 |
| I.2. Définition de l'insuffisance rénale | 5 |
| I.2.1 Insuffisance rénale chronique | 5 |
| I.2.2. Insuffisance rénale aiguë | 6 |
| I.3. Objectifs de l'hémodialyse | 6 |
| I.4. Le procédé de l'appareil de la dialyse: | 6 |
| I.5. Équipement de la dialyse: | 7 |
| I.5.1. L'accès au sang | 7 |
| I.5.2. La membrane: | 7 |
| I.5.3. Le dialyseur | 8 |
| I.5.4. Le dialysat: | 8 |
| I.5.5. Le générateur | 8 |
| I.6. Eau pour hémodialyse | 8 |
| I.6.1. Eau pour dilution de solutions concentrées d'hémodialyse..... | 8 |
| I.6.2. Caractères | 9 |
| I.6.3. Qualité physico-chimique et microbiologique de l'eau pour hémodialyse:..... | 9 |
| I.7. Spectrométrie d'Absorption Atomique | 12 |
| I.8. Milieu de culture « Gélose R2A » | 13 |
| I.8.1. Formule..... | 13 |
| I.8.2. Conservation | 13 |
| I.8.3. Préparation | 13 |
| I.9. Filtration sur membrane | 14 |
| I.9.1. Matériel | 14 |
| I.9.2. Mode opératoire | 14 |
| I.10. Les endotoxines..... | 15 |
| I.11. Le circuit de l'eau de dialyse | 15 |
| I.12. Installation de l'unité traitement de l'eau..... | 16 |
| I.13. Le traitement de l'eau de dialyse:..... | 16 |
| I.13.1. Prétraitement..... | 16 |

| | |
|---|----|
| I.13.2. Traitement | 17 |
| I.14. Désinfection de l'installation de traitement d'eau | 18 |
| CHAPITRE II : MATERIELEET METHODES..... | 19 |
| II.1. Caractère..... | 19 |
| II.1.1. Mode opératoire | 19 |
| II.2. Analyse microbiologiques: | 19 |
| II.2.1. Introduction | 19 |
| II.2.2. Analyses sur la contamination microbienne..... | 20 |
| II.2.2. Analyses sur les endotoxines | 24 |
| II.3. Analyses physicochimiques | 26 |
| II.3.1. Substances oxydables | 27 |
| II.3.2. Chlorure : « Au maximum 50 ppm »..... | 28 |
| II.3.3. Sulfates : « Au maximum 50ppm » | 30 |
| II.3.4. Nitrates : « Au maximum 50 ppm » | 32 |
| II.3.5. Ammonium : « au maximum 0.2ppm »..... | 34 |
| II.3.6. Métaux lourds : « au maximum 0,1 ppm » | 35 |
| II.4. Le test de chromatographie en phase gazeuse | 37 |
| II.5. Le test de Spectrophotométrie d'absorption atomique « SAA » | 37 |
| CHAPITRE III: RESULTATSET DISCUSSION | 38 |
| III.1. Caractère..... | 38 |
| III.1.1. Observation et interprétation des résultats | 38 |
| III.2. Analyses microbiologiques..... | 38 |
| III.2.1. Analyses sur la contamination microbienne | 38 |
| III.2.2. Analyses des endotoxines bactériennes..... | 41 |
| III.3. Analyses physicochimiques | 43 |
| III.3.1. Substances oxydables | 43 |
| III.3.2. Chlorure « Au maximum 50 ppm » | 44 |
| III.3.2.1. Observation des résultats..... | 44 |
| III.3.3. Sulfate | 45 |
| III.3.4. Nitrates..... | 47 |
| III.3.5. Ammonium | 49 |
| III.3.6. Métaux lourds | 49 |
| III.4. Chromatographie en phase gazeuse | 50 |
| III.4.1. Observation des résultats | 50 |

| | |
|--|----|
| III.4.2. Interprétation des résultats..... | 51 |
| III.5. Spectrométrie d'absorption atomique | 52 |
| III.5.1. Observation des résultats: | 52 |
| III.5.2. Interprétation des résultats..... | 52 |
| III.6. Recommandations:..... | 54 |
| III.6.1. Maintien de la qualité: | 54 |
| III.6.2. Désinfection des adoucisseurs..... | 54 |
| III.6.3. Changement des cartouches de charbon actif | 54 |
| III.6.4. Le contrôle d`efficacité de l`osmose inverse | 55 |
| III.6.4. Désinfection de la boucle et des générateurs..... | 55 |
| III.6.5. Contrôle physico-chimique, microbiologique et endotoxinique | 56 |
| CONCLUSION GENERALE | 58 |

LISTE DES SYMBOLES:

| Sigle | Désignation |
|---------------|--------------------------------|
| EPO | Erythropoietin |
| SRA | Système rénine angiotensine |
| PG | Prostaglandines |
| IRC | Insuffisance rénale chronique |
| CFU | Colony forming unit |
| UI | Unité international |
| CHU | Centre hospitalo-universitaire |
| N.B | Nota bene |
| UFC | Unité formant colonie |
| E.D | Eau distillée |
| CSE | Control standard endotoxin |
| LAL | Lysat d'amoebocytes de limule |
| λ | Lambda |
| ELC | Endotoxin Limit concentration |
| EU | Endotoxin unit |
| MVD | Maximum valid dilution |
| « B.M » | Hôpital « Beni-messous » |
| PPM | Partie par million |
| μm | Micromètre |
| PVC | Poly(chlorure) de vinyle |

| | |
|-----|-------------------------------------|
| CPG | Chromatographie en phase gazeuse |
| SAA | Spectrométrie d'Absorption Atomique |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|----|
| Tableau 1.1: Les normes physico-chimiques de l'eau pour hémodialyse..... | 11 |
| Tableau 1.2 : Les normes microbiologiques de l'eau pour hémodialyse..... | 12 |
| Tableau 3.1. : Les concentrations des électrolytes données par la chromatographie sur phase gazeuse..... | 51 |
| Tableau 3.2. : Les résultats du test de la spectrophotométrie d'absorption atomique..... | 52 |
| Tableau 3.3. : Fréquences minimales des contrôles physico-chimiques et microbiologiques... .. | 55 |

LISTE DES FIGURES :

Chapitre I :

- Figure 1.1 : L'emplacement du rein dans le corps humain..... 5
- Figure 1.2 : Schéma montrant comment se fait l'infusion et l'ultrafiltration dans la dialyse7
- Figure 1.3 : Schéma de la méthode filtration sur membrane 14

Chapitre II :

- Figure 2.1 : les flacons de laboratoire stériles dans lesquelles on a procédé à des prélèvements d'eaux20
- Figure 2.2: flacons d'eaux prélevées du Chu Beni-Messousse sur la hotte 21
- Figure 2.3 : les 3 tubes à essai à labri de la lumière « solution témoin et solutions à examiner » lors de la manipulation... 30

Chapitre III :

- Figure 3.1 : Boites de pétri correspondant au résultat d'analyse du CHU Beni messouss...39
- Figure 3.2 : boites de pétri correspondant au résultat d'analyse du CHU Mustapha.....39
- Figure 3.3. : Résultat du test sur les substances oxydables pour « l'hôpital B.M ».....43
- Figure 3.4.: Résultat du test sur les substances oxydables pour l'hôpital Mustapha 44
- Figure 3.5 : résultat du test chlorure sur l'eau traitée du Chu Beni-messousse 44
- Figure 3.6. : Résultat du test chlorure sur l'eau traitée du Chu Mustapha45
- Figure 3.7. : Résultat du test de Sulfates par comparaison de l'eau traitée de l'hôpital Beni Messouss et la solution témoin..... 46
- Figure 3.8. : Résultat du test de sulfates par comparaison de la solution témoin et l'échantillon de l'hôpital Mustapha 46

| | |
|---|----|
| Figure 3.9 : Comparaison des résultats du test sur les sulfates..... | 47 |
| Figure 3.10 : Résultat du 1 ^{er} test de nitrates..... | 47 |
| Figure 3.11 : Résultat du 2 ^{eme} test de nitrate..... | 48 |
| Figure 3.12. : Résultat du test d'Ammonium..... | 49 |
| Figure 3.13. : Chromatogramme des eaux traitées de l'hôpital « Mustapha Pacha»..... | 50 |
| Figure 3.14. : Chromatogramme des eaux traitée de l'hopital «Beni-Messouss »..... | 50 |

INTRODUCTION GENERALE:

L'eau nommée or bleu, est une ressource naturelle vitale pour la survie de l'humanité et de toutes les espèces sur terre. Cependant, les déficits nationaux ou régionaux, les manques saisonniers en eau dans la plupart des régions du globe et son utilisation irrationnelle dans plusieurs domaines de la vie la rendent de plus en plus rare.

Dans ce contexte, une meilleure gestion des sources d'eaux alternatives comme le recyclage des eaux usées offre une solution partielle par la mise à disposition d'une eau douce pour l'industrie et l'agriculture. Des études avancées ont permis de confirmer la faisabilité de la réutilisation des eaux usées émanant des centres d'hémodialyse pour les usages agricoles dans l'arrosage des jardins et des plantations et dans l'industrie.

En hémodialyse, l'eau constitue la matière première, le support d'échange, indispensable à chaque séance de dialyse participant à l'épuration du sang du patient lors de son traitement. Elle compose à 95% le dialysat et constitue un élément essentiel de l'efficacité et de la biocompatibilité de cette thérapeutique dans le traitement de suppléance de l'insuffisance rénale

En supposant un débit de dialysat de 500 ml/min, un patient hémodialysé est exposé à 120 litres d'eau purifiée au cours d'une séance de 4 heures. L'existence en plus de rétro-filtration avec injection dans la circulation sanguine du patient d'une fraction du dialysat rend indispensable l'utilisation d'une eau de haute qualité physicochimique et bactériologique dans la préparation du dialysat.

Objectifs :

- Notre étude est portée sur le contrôle d'eau pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse et la mise en évidence des différents tests auxquels elle doit répondre avant son utilisation afin d'être conforme aux normes de la pharmacopée européenne.

- Description de méthodes analytiques utilisées pour les tests suivants, destinés à valider le procédé d'obtention d'eau pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse : test microbiologique «contamination microbienne et endotoxinique», tests physicochimiques «substance oxydables, chlorures, Sulfates, nitrates, Ammonium et métaux lourds» ainsi que les résultats du test de Spectrométrie d'Absorption Atomique « SAA » (Cuivre , Zinc et Plomb) , et du test de chromatographie en phase gazeuse « CPG » (Sodium, Potassium, Magnésium et Calcium)
- La recommandation d'un projet de nettoyage et de désinfection de l'unité de traitement des eaux afin d'obtenir une eau conforme pour hémodialyse saine.

PROBLEMATIQUE :

A l'heure actuelle, la recrudescence des cas d'insuffisance rénale chronique terminale a imposé la création des centres d'hémodialyse répondant à ce besoin de santé. Néanmoins, cette initiative doit être entourée de plusieurs précautions conformément aux normes de qualité reconnues à l'échelle internationale et exigées par la pharmacopée européenne. La disponibilité des moyens et d'une haute technologie biomédicale en plus des procédés de traitement plus complexes d'hémodiafiltration répandus dans les pays les plus développés, place ces derniers comme des modèles d'expertise. Puisque l'eau pour hémodialyse est le constituant majeur du dialysat produit par le générateur de dialyse. Cette situation impose aux pays en développement de fournir de grands efforts pour perfectionner les procédés de traitements d'eaux pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse afin de procurer le maximum de sécurité et de qualité pour les hémodialysés.

En Algérie, les établissements publiques sont appelés à assurer une qualité d'eau traitée qui répond à toutes les normes et limites que la pharmacopée européenne 6^{ème} édition suggère de respecter.

C'est justement la raison qui nous a conduit à faire les analyses nécessaires sur cette eau traitée utilisée pour la dilution des solutions concentrées pour hémodialyse et qui constitue 95% du dialysat.

- ✓ **Est ce que cette eau répond aux normes de conformité physicochimiques et bactériologiques définies par la pharmacopée européenne ?**

C'est à cette question que tente de répondre notre thèse.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Le rôle physiologique du rein :

Les reins sont des organes pairs de couleur brun rougeâtre entourés de tissu cellulaire graisseux. Ils sont situés immédiatement sous le diaphragme dans la partie supérieure de l'espace rétro péritonéale de part et d'autre de la colonne vertébrale entre la douzième vertèbre dorsale et la troisième lombaire. Ils ont la forme d'haricot, mesurant environ 12 cm de longueur, 6 cm de largeur et 3cm d'épaisseur et pèse 150 gr chacun. Ils sont vascularisés par l'artère rénale qui naît de l'aorte abdominale et par la veine rénale qui se jette dans la veine cave inférieure. Le hile contient une veine et une artère rénale, ainsi que l'uretère .chaque rein contient environ un million de néphrons. Le néphron est l'unité fonctionnelle du rein. Les reins filtrent le sang pour le débarrasser des déchets métaboliques produit par les cellules des tissus et organes. Chaque minute 600 ml de sang arrive dans chaque rein par l'artère rénale cela correspond à environ 20% du débit cardiaque. La formation de l'urine implique plusieurs étapes, elle consiste d'une part en une filtration et d'autre part en une réabsorption et une sécrétion dans les différents segments du tube urinaire. Le filtrat final est ensuite déversé dans les calices et parvient ainsi au bassinnet. L'urine est transportée hors des reins par des uretères et amenée dans la vessie avant d'être extraite hors de l'organisme par l'urètre. La production est d'environ 1,5 L par 24h. L'urine contient principalement de l'eau, de l'urée, de l'acide urique, de l'ammoniac, des électrolytes ainsi que des toxiques exogènes. L'urine ne contient normalement pas de protéines ni de glucides ou de peptides. La présence de ces substances dans l'urine est un indice pathologique. (25)

Les reins remplissent plusieurs fonctions indispensables à la survie de l'organisme, qui sont :

- la régulation du bilan sodique et volume du liquide extracellulaire.
- la régulation du bilan hydrique et de l'os molalité.
- La régulation de l'équilibre acido-basique par la régénération des bicarbonates (acidité titrable et ammoniurie)

- l'élimination des substances toxiques.
- la fonction endocrine : érythropoïétine (EPO), Vit D3, système rénine angiotensine (SRA), prostaglandines (PG).

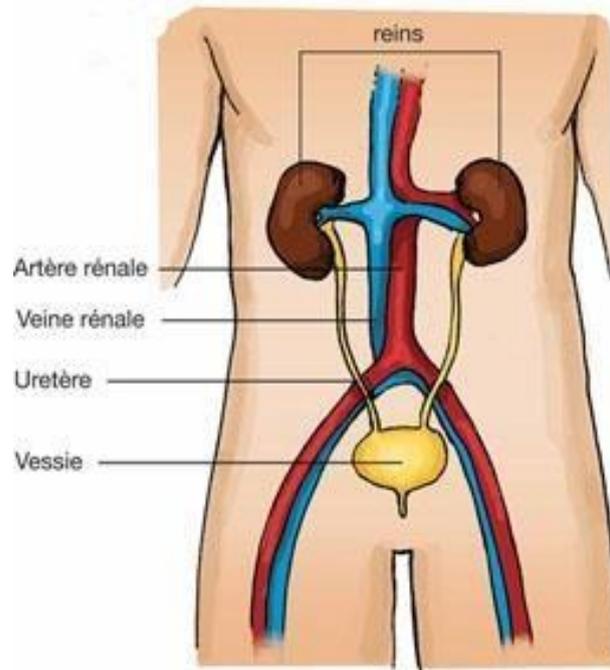


Figure 1.1: l'emplacement du rein dans le corps humain

I.2. Définition de l'insuffisance rénale :

Une insuffisance rénale se caractérise par une diminution de la fonction et du nombre des néphrons «Unités de base constituant le rein et servant à débarrasser le sang des toxines qu'il contient, en élaborant l'urine primitive» (2)

I.2.1 Insuffisance rénale chronique :

L'IRC se définit par une diminution prolongée, souvent définitive des fonctions rénales exocrines et endocrines. Elle s'exprime essentiellement par une diminution de la filtration glomérulaire avec augmentation de la créatininémie et de l'urée sanguine (urémie) par diminution de la clairance de la Créatinine. Elle est dite chronique lorsqu'elle est présente depuis au moins 3 mois.(1)

I.2.2. Insuffisance rénale aigue :

L'insuffisance rénale aigue, contrairement à l'insuffisance rénale chronique, est généralement réversible et guérit souvent. Elle est due à une diminution brutale et importante de la circulation sanguine, avec chute de la pression artérielle. (2)

I.3. Objectifs de l'hémodialyse:

- L'Hémodialyse est une technique qui permet la survie d'un patient ayant une insuffisance rénale. Le soi-disant «rein artificiel» traite le sang du patient à travers une membrane semi-perméable contre une solution saline, ce qui élimine l'excès d'électrolytes, certains déchets toxiques et l'eau. (3)
- L'hémodialyse est la plus ancienne des techniques de suppléance rénale. Elle reste la méthode d'épuration de référence dans le traitement de l'IR mais ses indications se sont trouvées modifiées par le développement des techniques d'épuration extrarénale continues. L'hémodialyse au cours d'un demi-siècle d'utilisation a bénéficié de progrès technologiques considérables portant sur les générateurs de dialyse, le traitement de l'eau, la composition du dialysat, les membranes de dialyse, les accès vasculaires, améliorant la qualité de l'épuration et la sécurité des séances d'hémodialyse (4).
- Si l'hémodialyse ne guérit pas l'insuffisance rénale, elle permet de survivre tout en tentant de mener une existence aussi «normale» que possible, en attendant une éventuelle transplantation.(5)

I.4. Le procédé de l'appareil de la dialyse:

La dialyse épure le sang au travers d'une membrane semi-perméable grâce à des échanges entre le sang et un liquide de dialyse contenant des électrolytes à une concentration voisine de celle du plasma (dialyse). Dans le cas de l'hémodialyse, on prélève le sang par ponction d'une veine du bras. Ce sang est conduit dans un tuyau jusqu'à une cartouche ou dialyseur. Celui-ci contient de très nombreuses fibres qui font office de membrane semi-perméable au

travers desquelles se font les échanges entre le sang et le dialysat. A la sortie du filtre, le sang épuré est restitué au malade par l'intermédiaire d'une deuxième ponction veineuse. (6)

I.5. Équipement de la dialyse:

I.5.1. L'accès au sang:

Il se fera par l'intermédiaire d'une voie d'abord artériovineuse réalisée chirurgicalement pour permettre une communication directe d'une artère et d'une veine (fistule) ou indirecte (pontage). En absence de fistule artériovineuse, un cathéter veineux sera posé transitoirement à chaque séance (cathéter fémoral) ou placé à moyen terme dans un accès veineux central (plusieurs semaines ou plusieurs années) en veine jugulaire dans la région pectorale.(7)

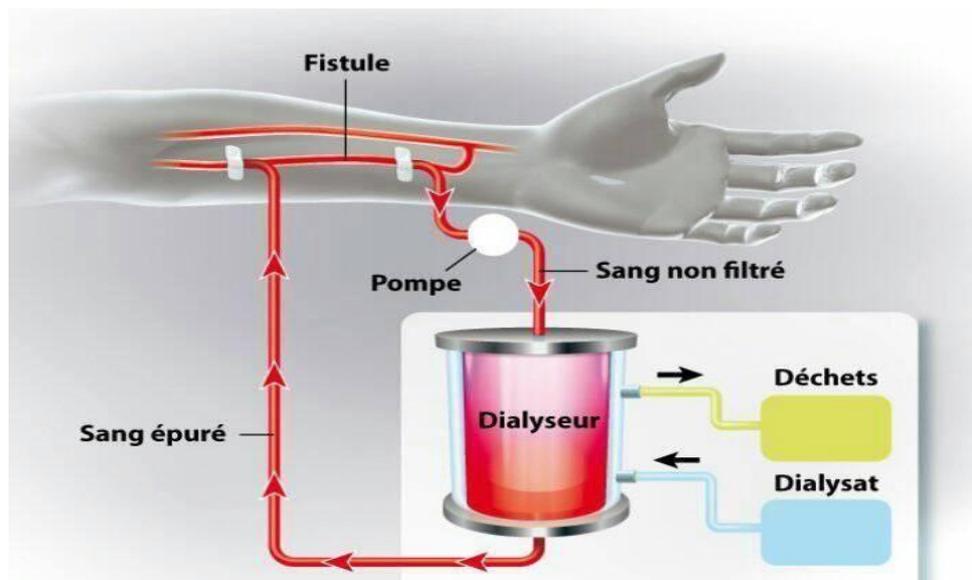


Figure 1.2 : Schéma montrant comment se fait l'infusion et l'ultrafiltration dans la dialyse.

I.5.2. La membrane:

Ce terme désigne le dispositif utilisé pour épurer le sang de molécules et toxines urémiques (potassium, urée, créatinine, phosphate, etc.). Ce dispositif, connecté à la machine de dialyse, est généralement constitué par une membrane à fibres creuses (plusieurs milliers de capillaires) dans lesquelles circule le sang alors que le liquide de dialyse circule entre

elles. La surface de membrane la plus couramment rencontrée est de $1.8\mu\text{m}^2$ pour un patient adulte. (8)

I.5.3. Le dialyseur :

Il assure l'échange entre le sang et la solution délivrée par le générateur. Le dialysat, circulant à contre-courant du sang dans le dialyseur, permet l'épuration des déchets contenus dans le sang. (9)

I.5.4. Le dialysat:

Il est fabriqué par le générateur, par dilution des solutions concentrées chlorure de sodium et d'eau préalablement traitée. Sa composition est proche de celle du plasma sanguin normal, à l'exception des protéines dont il est totalement dépourvu. (7)

I.5.5. Le générateur:

Un générateur pour hémodialyse est un appareil qui permet de réaliser la dilution de solutions concentrées (acides, basiques, et glucosé), par l'eau traitée pour hémodialyse, afin d'obtenir un dialysat nécessaire à l'épuration sanguine des patients. (10)

I.6. Eau pour hémodialyse :

L'eau pour hémodialyse doit répondre aux normes de conformité physicochimiques et bactériologiques, définies par la Pharmacopée Européenne. Cette eau, en tant que médicament, est sous la responsabilité du pharmacien hospitalier.(11)

I.6.1. Eau pour dilution de solutions concentrées d'hémodialyse :

L'eau pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse est obtenue par osmose inverse, par échange d'ions, par distillation d'eau potable ou par tout autre procédé approprié. Les conditions de préparation de transfert et de conservation limitent le risque de contamination chimique et microbienne. Lorsque de l'eau obtenue par l'une des méthodes décrites ci-dessus n'est pas disponible, de l'eau potable peut être utilisée pour les dialyses à domicile. Dans ce cas, il va falloir tenir compte de sa composition chimique, qui varie considérablement d'une localité à une autre, et de procéder aux ajustements nécessaires de la teneur en ions pour que la composition finale de la solution diluée corresponde à l'usage prévu.(11)

I.6.2. Caractères :

Liquide limpide, incolore, inodore et insipide.

I.6.3. Qualité physico-chimique et microbiologique de l'eau pour hémodialyse:

Les critères de qualité de l'eau pour hémodialyse définis par la Pharmacopée Européenne sont nombreux sur les plans physico-chimiques, micro biologiques et endotoxinique. Ils sont habituellement contrôlés au départ de boucle et au retour de boucle. (12)

La qualité du traitement par hémodialyse est directement en fonction de la qualité ionique globale du dialysat et donc de l'eau mais aussi des sels minéraux dissous. On distingue les contaminants suivants : (13) (26-27)

I.6.3.1. Contaminants inorganiques solubles

a. Les cations :

▪ Sodium et potassium :

Le sodium et le potassium, qui peuvent être relargués en quantité importante par les résines échangeuses d'ions saturées, sont à l'origine d'accidents gravissimes : HTA, œdème pulmonaire, vomissements, confusion, tachycardie, tachypnée, coma et mort

▪ Calcium et magnésium :

Le calcium et le magnésium sont responsables du syndrome de « l'eau dure », caractérisé par nausées, vomissements, flush, hyper ou hypotension, myalgie...

b. Les anions :

▪ Chlore :

Le chlore, sous forme minérale (hypochlorite) ou organique (chloramines) dénature l'hémoglobine, provoquant hémolyse, anémie hémolytique et méthémoglobinémie.

▪ Fluor :

Le fluor est souvent additionné à l'eau de ville en prévention des caries dentaires. Il est un des contaminants les plus difficiles à maîtriser. Les patients sont exposés à un risque d'ostéomalacie, ostéoporose et autres maladies osseuses. (14)

▪ Nitrate :

Les nitrates ont pour principale origine les engrais. Métabolisés en nitrites, ils sont responsables de méthémoglobinémie accompagnée de cyanose, hypotension et nausées.

- Sulfate :

Les sulfates en forte concentration, peuvent attaquer les canalisations et provoquer ainsi une surenchère toxique, associant leur propre toxicité (nausées, vomissements, acidose métabolique) à celle des métaux lourds cédés par les conduites.

- Phosphate :

Lorsqu'une hyperphosphatémie est observée chez les insuffisants rénaux, la limite admissible dans l'eau pour hémodialyse est très inférieure à la limite toxique, afin de favoriser le passage dans le bain de dialyse des phosphates.

- Aluminium :

Quand l'aluminium est présent en quantité non négligeable dans l'eau de ville comme agent de floculation, il provoque, chez les malades en hémodialyse, de nombreuses démences et encéphalopathies fatales avant d'être incriminé.

- Cuivre :

Le cuivre peut être cédé par les canalisations et les générateurs pour hémodialyse sous l'action d'eau acide. Il peut conduire à des nausées, maux de tête, frissons, hépatopathies et hémolyses fatales. (15)

- Zinc :

Le zinc peut provenir des canalisations dites en « acier inoxydable », sous l'action d'eau acide. Il provoque nausées, vomissement, fièvre et anémie. (16)

- Oligoéléments :

D'autres oligoéléments, tels le cadmium, le manganèse, le strontium et le fer s'accumulent dans les tissus des hémodialysés. Les répercussions cliniques ne sont pas encore connues. La population des dialysés est une population très étudiée, mais tout phénomène observé n'est pas obligatoirement négatif. Ainsi, un individu considéré comme bien portant, et d'espérance de vie normale, accumule diverses substances « étrangères », non transformables et non rejetables. (17)

- Ammoniaque :

La présence d'ammoniaque n'a jamais été à l'origine d'incident chez le dialysé. Elle peut surtout entraîner le développement de germes.

I.6.3.2. Contaminants organiques solubles :

Les matières organiques communes dans l'eau sont les acides humiques et fulviques issus de la dégradation de la matière végétale. Habituellement présentes sous forme de colloïdes, elles ont un pouvoir colmatant considérable, renforcé par leur capacité à chélater des métaux naturels polyvalents tels le fer, l'aluminium et la silice, eux-mêmes aptes à former des hydroxydes polymérisés colloïdaux. Une fraction de faible poids moléculaire de ces contaminants organiques (moins de 200 Da) subsiste dans l'eau pour hémodialyse, même après passage sur les cartouches de charbon actif et module d'osmose inverse.

I.6.3.3. Bactéries et substances pyrogènes :

Bactéries, virus, organismes inférieurs sont inévitablement présents dans l'eau, même traitée pour hémodialyse. Les bactéries vivantes ne peuvent franchir une membrane de dialyse basse perméabilité intacte, mais le risque de passage avec les membranes à haute perméabilité existe. Donc ce n'est pas la bactériémie qui est à redouter, mais plutôt la diffusion à travers le dialyseur d'agrégats moléculaires pyrogènes dont la majeure partie est constituée par les endotoxines. (20)

Les Tableaux suivants indiquent les normes physico-chimiques et microbiologiques de l'eau pour hémodialyse.

Tableau 1.1: Les normes physico-chimiques de l'eau pour hémodialyse.

| Liste des paramètres | Pharmacopée Européenne |
|----------------------|------------------------|
| Calcium | 2 mg /l |
| Magnésium | 2 mg/l |
| Potassium | 2 mg/l |
| Sodium | 50 mg/l |
| Chlorures | 50 mg/l |
| Antimoine | 6 µg/l |
| Arsenic | 5 µg/l |
| Baryum | 0.1 mg/l |

| | |
|--------------|-------------|
| Béryllium | 0.0004 mg/l |
| Cadmium | 1 µg/l |
| Plomb | 5 µg/l |
| Mercure | 1 µg/l |
| Sélénium | 90 µg/l |
| Argent | 0.005 mg/l |
| Aluminium | 0.01 mg/l |
| Chloramines | 0.1 mg/l |
| Chlore libre | 0.1 mg/l |
| Cuivre | 0.1 mg/l |
| Fluorures | 0.2 mg/l |
| Nitrates | 2 mg/l |
| Sulfates | 50 mg/l |
| Zinc | 0.1 mg/l |

Tableau 1.1: Les normes physico-chimiques de l'eau pour hémodialyse.

| Liste des paramètres | Pharmacopée Européenne |
|--------------------------------------|------------------------------------|
| Bactéries Aérobies viables totaux | <100 CFU/ml (liquide ultra pur) |
| Endotoxines | <0.25EU/ml |

Tableau 1.2 : Les normes microbiologiques de l'eau pour hémodialyse.

I.7. Spectrométrie d'Absorption Atomique :

En chimie analytique, la spectrométrie d'absorption atomique (Atomic Absorption Spectroscopy en anglais ou AAS) est une technique de spectroscopie atomique servant à déterminer la concentration de certains métaux dans un échantillon. En 2010, elle peut servir à mesurer la concentration de plus de 60 métaux différents en solution. Elle fait partie des méthodes classiques d'analyse en chimie analytique. Basée sur des méthodes optiques, elle conduit aussi bien à des résultats qualitatifs qu'à des données quantitatives. L'absorption est utilisée généralement pour faire un dosage, l'élément est connu, on détermine une concentration.

L'analyse se base sur l'absorption de photons par des atomes à l'état fondamental, et on utilise à cet effet en général des solutions sauf dans le cas des hydrures. Une préparation est donc souvent nécessaire : dissolution d'un alliage par exemple.

Bien que cette technique date du *XIX^e* Siècle, sa forme moderne fut développée dans les années 1950 par des chimistes australiens, menés par Alan Walsh et travaillant à la Division of Chemical Physics du CSIRO a Melbourne.

I.8. Milieu de culture « Gélose R2A » :

La gélose R2A est utilisée pour la numération hétéro trophique des bactéries dans les eaux potables traitées par la technique de filtration sur membrane ou par ensemencement sur gélose. Ce milieu, développé par Reasoner et Gelreich, est supérieur aux milieux classiques pour le dénombrement des bactéries stressées ou résistantes au chlore. L'utilisation d'un milieu pauvre en nutriments favorise la pousse de ces bactéries au détriment des espèces à croissance rapide, permettant ainsi leur numération.

I.8.1. Formule :

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

| | | | |
|------------------------------|------|---|-------|
| Protéose peptone N° 3 | 0,50 | Pyruvate de sodium | 0,30 |
| Extrait de levure | 0,50 | Phosphate de potassium dibasique | 0,30 |
| Hydrolysate acide de caséine | 0,50 | Sulfate de magnésium, 7H ₂ O | 0,05 |
| Glucose | 0,50 | Agar | 15,00 |
| Amidon soluble | 0,50 | | |

PH final à 25°C : 7,2 ± 0,2

I.8.2. Conservation :

- Flacons et boîtes : 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.
- Milieu déshydraté : 2 et 30°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

I.8.3. Préparation :

1. Mettre en suspension 18,1 grammes dans 1 litre d'eau pure. Porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant au moins 1 minute.
2. Répartir en tubes ou flacons.
3. Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.

I.8.4. Utilisation :

- Se conformer aux protocoles en vigueur pour le recueil de l'eau et la technique de filtration ou d'ensemencement.
- Incuber 5 à 7 jours à 35-37°C, ou 7 jours à 20 et 28°C. (28)

I.9. Filtration sur membrane :

I.9.1. Matériel :

L'appareil est un simple système de filtration sous pression réduite (trompe à eau). Il contient un support filtre qui reçoit, sur une partie en inox fritte à larges pores, la membrane de filtration. Le godet ou l'entonnoir permet de recevoir l'eau à analyser. Les deux parties doivent s'assembler de manière solide par aimants, par caoutchoucs. Enfin, l'ensemble doit être stérilisé (Parties métalliques : four ; caoutchouc : autoclave). Les membranes utilisées (en ester de cellulose) sont généralement quadrillées, et les pores ont un diamètre de 0,45µm.

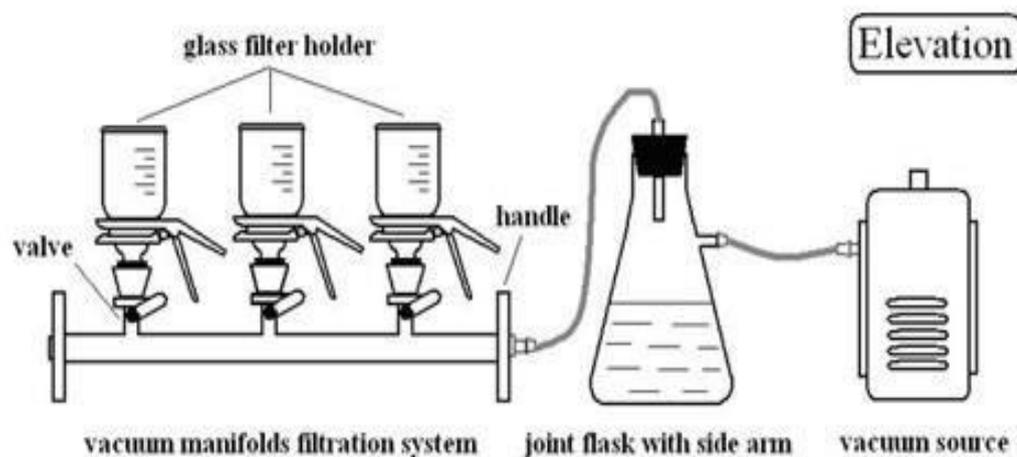


Figure 1.3 : Schéma de la méthode filtration sur membrane.

I.9.2. Mode opératoire :

L'ensemble de l'appareillage doit être placé entre deux becs à gaz, de manière à ménager une zone de travail stérile et à pouvoir stériliser le matériel à la flamme.

- Flamber la base et le support filtre, une fois le support filtre refroidi, poser stérilement la membrane stérile.
- Flamber le godet, une fois refroidi, le poser sur la base sans léser la membrane.
- Rincer la membrane avec un peu d'eau stérile.

- Verser doucement le liquide (volume choisi) jusqu'à la graduation adéquate
- Faire le vide sans brutalité pour ne pas briser la membrane.
- Rincer avec le tampon ou l'eau stérile l'ensemble de l'appareil, en particulier les bords internes du godet.
- Sécher la membrane en effectuant plusieurs petits vides
- Débrancher le tuyau à vide.
- Retirer la membrane.
- La poser sur le milieu choisi, sans faire de bulles et sans la retourner (la nutrition des bactéries se fait au travers).
- Le milieu doit avoir une épaisseur minimale de 5 mm et doit être sec.
- Incuber à la température choisie.
- Pour une autre manipulation, flamber l'ensemble godet-base : il est prêt à resservir. (29)

I.10. Les endotoxines :

Les endotoxines sont issues de la membrane de certaines bactéries. Ce sont des toxines libérées par des bactéries Gram négatif. Lorsque la bactérie est détruite, sa membrane libère ses toxines entraînant une réaction de la part de l'organisme. Cette réaction, de type inflammatoire, peut rapidement être démesurée, c'est le syndrome de réponse inflammatoire systémique. De plus, si l'endotoxine est libérée dans la circulation sanguine, cela peut conduire à une fièvre et un choc septique, c'est pourquoi tout produit injecté doit être exempt de bactéries.(30)

I.11. Le circuit de l'eau de dialyse:

L'eau servant à la préparation du dialysat provient du réseau d'eau potable et n'est pas stérile. Elle nécessite donc un traitement afin d'éliminer les substances potentiellement toxiques pour les malades à savoir, les micropolluants minéraux ou organiques (métaux lourds, chloramines ...) ainsi les microorganismes et les pyrogènes. Une installation de traitement d'eau comporte différents étapes de traitement qui peuvent représenter eux même des sites de prolifération microbienne (filtre à sable, adoucisseur, filtre à charbon...).Les filières de traitement d'eau pour dialyse et le réseau de distribution doivent être conçues pour pouvoir être désinfectées afin de garantir une absence de contamination des circuits de dialyse. (21)

I.12. Installation de l'unité traitement de l'eau :

L'installation, située en rez de chaussée, est alimentée en eau du réseau public, grâce à une canalisation en PVC de grade alimentaire, non susceptibles de relarguer des éléments indispensables. Elle est dotée de son propre compteur d'eau.

Le local de l'installation est sans fenêtres, climatisé, aéré, facilement lavable, accessible et doté d'étiquettes légendées de chaque matériel de sa chaîne de traitement d'eau.

Dans ce local, on trouve successivement : un système anti retour permettant d'éviter les retours d'eau dans les circuits d'eau potable, un filtre auto lavable, un manomètre , un compteur d'eau propre à la salle de traitement , des cuves de stockage , deux pompes de production , deux adoucisseurs, un filtre à sable, deux charbons actifs et une double osmose.

I.13. Le traitement de l'eau de dialyse:

A partir d'une eau potable, le but du traitement est d'améliorer les qualités physico-chimiques et microbiologiques de l'eau pour répondre, au minimum, aux critères définis par la monographie de l'eau pour hémodialyse dans la Pharmacopée Européenne.

Paradoxalement, les indications de cette monographie sont fournies à titre indicatif et ne constituent pas des normes opposables car ce texte européen tient compte de la politique sanitaire des différents Etats membres. (22)

I.13.1. Prétraitement :

Les techniques classiques utilisées sont : (23)

a. La filtration :

Des filtres destinés à retenir des particules insolubles sont disposés à différents niveaux de la chaîne de prétraitement. Leur porosité est décroissante depuis le filtre à sable jusqu'aux filtres à cartouche dont la porosité varie de 100 à 0,2 μm . Ils sont placés en amont de chaque constituant de la chaîne de prétraitement. Un filtre de 1 micron est par exemple utilisé pour retenir les " fines " (particules de charbon actif) qui pourraient colmater les membranes de l'osmoseur.

b. L'adoucisseur d'eau :

L'adoucissement complet de l'eau par résine permet d'éliminer le calcium et le magnésium de l'eau utilisée pour diluer la solution concentrée, en les remplaçant par du sodium. Il constitue un pré traitement permettant de protéger les membranes d'osmoseurs en évitant la précipitation de sels de carbonates de calcium et de magnésium. Le chlorure de sodium employé pour la régénération de la résine doit être d'une pureté écartant tout risque de contamination de l'eau ou de la résine. Ce chlorure de sodium doit être de qualité alimentaire, il doit être conforme aux dispositions de la norme AFNOR T 90-612.

L'adoucisseur doit être équipé d'un dispositif permettant de suivre l'efficacité de son fonctionnement.

La chaîne sert à deux adoucisseurs fonctionnant en alternance pour la production de l'eau osmosée: L'un est en production pendant que l'autre est en phase de régénération (élimination du calcium et du magnésium en échangeant ces cations contre du sodium)

c. Filtration sur charbon actif :

Les filtres à charbon actif assurent une élimination de différentes substances, notamment de certains composés chlorés résultant du traitement de l'eau d'alimentation ou de micro polluants organiques (trihalométanes (T.H.M.), chloramines, pesticides...). Il faut être vigilant vis-à-vis du volume nécessaire de charbon actif et de son renouvellement pour assurer une action suffisante en fonction des débits et des volumes d'eau passés, et selon les taux et les caractéristiques de rétention des substances à éliminer. Il faut également tenir compte des développements bactériens susceptibles d'apparaître dans ces appareils pour établir les procédures de maintenance.

I.13.2. Traitement :

I.13.2.1. Unité d'osmose inverse :

Une unité d'osmose inverse sert à éliminer la quasi totalité des ions, des substances Organiques dissoutes et des micro-organismes. Par un effet de répulsion électrostatique, l'élimination d'un ion est d'autant plus efficace par osmose inverse que sa valence est élevée.

L'importance de la déminéralisation d'une eau est appréciée par la mesure de la conductivité (ou de son inverse, la résistivité) qui constitue un moyen de contrôle fiable et permanent.

I.13.2.2. Ultrafiltration :

Cette technique peut traiter l'eau (en aval de l'osmoseur) ou le dialysat (au niveau du générateur) car elle ne modifie pas la composition ionique du liquide filtré. Elle permet par contre d'éliminer tout micro-organisme ou endotoxine.

Cette eau produite doit avoir une bonne qualité bactériologique, et, physico-chimique, pour servir à diluer extemporanément une solution concentrée d'électrolytes (une partie de concentré pour 35 parties d'eau) et à dissoudre des sels sous forme de poudre (bicarbonate de sodium) pour la préparation en continu du dialysat ,et pour éviter tous les risques des épidémies d'infections bactériennes ou de réactions fébriles.

I.14. Désinfection de l'installation de traitement d'eau :

Les points faibles de la chaîne de traitement d'eau de dialyse sont généralement les adoucisseurs, les filtres charbons et les membranes d'osmose ainsi que les points de piquage ou les raccords sur la boucle.

La désinfection de l'installation doit comprendre la désinfection des générateurs et celle de la chaîne de traitement, et la boucle de distribution. On parle d'une désinfection intégrale (osmoseur, boucle, raccords, générateurs et les circuits primaires des générateurs). Elle est réalisée grâce à différents moyens pouvant être alternés dans le temps:

- Désinfection chimique par l'emploi d'une solution désinfectante (hypochlorite de sodium, acide per acétique...)
- Désinfection thermique par la circulation d'eau pour hémodialyse portée à la température de 90-125°C
- Désinfection thermo-chimique : élévation de la température en présence d'un produit chimique

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES :

II.1. Caractère :

C'est un simple test visuel qui consiste à analyser à l'œil nu les eaux pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse (eaux traitées) prélevées des deux hôpitaux « Mustapha Pacha » et « Beni messouss », pour s'assurer que l'aspect de notre eau « eau pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse » correspond au caractère décrit par la pharmacopée européenne 6^{ème} édition.

II.1.1. Mode opératoire :

- Verser un volume de notre eau à analyser dans un bécher transparent et vérifier le caractère de notre eau à l'œil nue.

II.2. Analyse microbiologiques:

II.2.1. Introduction :

Deux sortes d'analyses microbiologiques sont exécutées : des analyses sur la contamination microbienne (Aérobies viables totaux) et des analyses sur les endotoxines bactériennes.

Les analyses microbiologiques sont effectuées sur des eaux prélevées au niveau des services néphrologiques du Centre Hospitalo-universitaire «Mustapha Pacha» et du Centre hospitalo-universitaire «Beni-messouss».

Ces prélèvements mis dans des flacons de laboratoires stériles sont :

- a. L'eau de robinet (l'eau de ville).
- b. L'eau traitée « eau pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse ».
- c. Le bain de dialyse « provenant de l'appareil d'hémodialyse (générateur)».



Figure 2.1 : les flacons de laboratoire stériles dans lesquels on a procédé à des prélèvements d'eaux.

Ces analyses sont effectuées au niveau de l'entreprise Soidal biotique « El Samar » ; au niveau du département « Contrôle qualité » dans la salle « Stérile ».

II.2.2. Analyses sur la contamination microbienne :

- Utiliser la méthode « filtration sur membrane ».

Le but de nos analyses est de déterminer par la technique de filtration sur membrane la contamination microbienne dans notre eau prélevée.

II.2.2.1. Appareillage et matériaux :

- Hotte à flux laminaire.
- Pincés stériles en acier inoxydable (stérile sur flamme direct).
- Bec benzène.
- Etuve d'incubation (30-35°C).
- Membranes stériles filtrantes en ester de cellulose de porosité de 0.45 μ .
- Boîtes de pétri stériles de 55 mm de diamètre.
- Milieu de culture approprié : R2A, préparés selon le mode opératoire approprié.
- Appareillage de filtration sous vide composé de deux rampes de filtration, chacune d'elle est munie de :
 - Trois supports (collecteurs) en acier inoxydable.

- Trois disques en acier inoxydable portant des membranes stériles (placés entre le support et l'entonnoir)
- Trois entonnoirs en acier inoxydable ; sur la face interne de ces derniers sont indiqués par deux traits :
 - Le 1^{er} trait inférieur correspond à la valeur de 100 ml.
 - Le 2^{ème} trait supérieur correspond à la valeur de 200ml.
- A la base de chaque rampe de filtration se situe des valves de contrôle (robinet de contrôle).

Ce système est branché par un tuyau à une grande fiole sous vide pour accueillir la solution filtrée, la fiole sous vide, elle-même est branchée par un tuyau à une pompe à vide (vidange).

II.2.2.2. Mode opératoire :

- Pour commencer il faut mettre la ventilation de la hotte en marche et désinfecter le plan de travail avec le désinfectant Surfanios (prendre 10 ml de surfanios pur et diluer dans 1 litre d'eau distillée.) avant toute manipulation ; puis allumer le bec benzène et introduire le matériel de filtration stérilisé sous la hotte (laisser refroidir).
- Commencer par les eaux de Beni-messouss :
 - . Eau traitée.



Figure 2.2: flacons d'eaux prélevées du Chu Beni-Messousse sur la hotte.

- Commencer en positionnant aseptiquement chaque entonnoir sur une rampe de filtration, après lui avoir enlevé soigneusement le papier Kraft qui l'enveloppe (celui-ci résiste à la température lorsque le matériel se stérilise dans l'étuve à une température de 180c°), insérer ensuite soigneusement une membrane stérile de 0.45μ entre le

support et l'entonnoir puis fixer l'ensemble (support, filtre, entonnoir) à l'aide des pinces de serrage, ensuite verser dans chaque entonnoir 100 ml de chacun de nos échantillons (eau à contrôler) :

. Eau traité

- Ouvrir la valve de vidange et enclencher la pompe d'aspiration en appuyant sur le bouton marche, quand toute la solution est passée à travers la membrane, fermer le robinet et appuyer sur le bouton arrêt, puis enlever les pinces de serrage de chaque entonnoir et transférer délicatement chaque membrane à part dans une boîte de pétri contenant le milieu de culture R2A approprié. Tout en prenant soin d'éviter la formation d'air entre la membrane stérile et le milieu de culture, pour finir mentionner sur les boîtes toutes les informations nécessaires : la date de contrôle, nom de l'échantillon par exemple (Eau traitée «Beni-Messousse») et les incuber pendant 5 jours dans l'étuve à une température de 34°C.
- o Refaire la même manipulation avec les échantillons d'eaux prélevées du CHU MUSTAPHA :

. Eau traitée (Mustapha).

II.2.2.3. 2^{eme} essai analyse sur la contamination microbienne

II.2.2.3.1. Appareillage et matériel :

- On utilise le même appareillage et matériel utilisés lors de la première analyse.
On a juste besoin pour la dilution de :
- Eau distillée stérile en flacons de 90ml.
- Pipettes graduées stériles de 10ml.

I.1.2.3.2. Mode opératoire :

- Pour commencer il faut mettre la ventilation de la hotte en marche et désinfecter le plan de travail de la hotte avec le désinfectant Surfanios (prendre 10 ml de surfanios pur et

diluer dans 1 litre d'eau distillée.) avant toute manipulation ; puis Allumer le bec benzène et introduire le matériel de filtration stérilisé sous la hotte (laisser refroidir).

- Faire la dilution : prendre à l'aide de la pipette stérile 10 ml de notre échantillon à analyser et mettre dans un flacon d'eau distillée de 90 ml et refaire la même manipulation en utilisant une pipette stérile pour chaque échantillon. Commencer par les eaux de « Beni-messousse » :

. Eau traitée.

- Commencer en positionnant aseptiquement chaque entonnoir sur une rampe de filtration, après lui avoir enlevé soigneusement le papier Kraft qui l'enveloppe (celui-ci résiste à la température lorsque le matériel se stérilise dans l'étuve à une température de 180c°), insérer ensuite soigneusement une membrane stérile de 0.45 μ entre le support et l'entonnoir puis fixer l'ensemble (support, filtre, entonnoir) à l'aide des pinces de serrage.
- Verser dans chaque entonnoir 100 ml de chacun de nos échantillons (eau à contrôler).
- Ouvrir la valve de vidange et enclencher la pompe d'aspiration en appuyant sur le bouton marche, quand toute la solution est passée à travers la membrane, fermer le robinet et appuyer sur le bouton arrêt, puis enlever les pinces de serrage de chaque entonnoir et transférer délicatement chaque membrane à part dans une boîte de pétri contenant le milieu de culture R2A approprié. Tout en prenant soin d'éviter la formation d'air entre la membrane stérile et le milieu de culture, pour finir mentionner sur les boîtes toutes les informations nécessaires : la date de contrôle, nom de l'échantillon par exemple (Eau traitée «Beni-Messousse») et les Incuber pendant 5 jours dans l'étuve à une température de 34°C.
- Refaire la même manipulation avec les échantillons d'eaux prélevées du CHU MUSTAPHA :

. Eau traitée (Mustapha).

II.2.2. Analyses sur les endotoxines :

L'essai des endotoxines bactériennes (méthodes A technique de gélification : essai limite), permet la détection des endotoxines produites par des bactéries gram-négatives, grâce à la propriété que possède le lysat d'amœbocytes de limule (*Limulus polyphemus*) de coaguler en présence d'endotoxines bactériennes.

II.2.2.1. Appareillage et Matériaux :

- Tubes à réaction : tubes en verre sodocalcique de 10×75 mm à fond rond.
- Tubes en verre de 15×100 mm à fond rond.
- Micropipettes a 100 µl, et réglable a 1000 µl.
- Pipettes en plastique apyrogènes de 5 ml, 2 ml.
- Bain à sec à 37° c ± 1°c (incubateur).
- Thermomètre.
- Portoir pour tubes.
- Vortex.
- Papier Aluminium.
- Chronomètre.
- Ballon de 500 ml et 250 ml en verre.
- Para film.

Réactifs :

- Endotoxine standard de contrôle lyophilisé (CSE).
- Lysat lyophilisé en flacon de 5.2 ml à ceux sensibilité 0.06 EU/ml et 0.125 EU/ml.
- Alcool éthylique.
- Eau LAL (eau pour essai des endotoxines bactériennes exempte d'endotoxines).
- Na OH qualité LAL à 0.1 N (pour l'ajustement de ph de l'échantillon au besoin).

II.2.2.2. Mode opératoire :

Tout le matériel entrant en contact avec les échantillons ou les réactifs ne doivent contenir aucune endotoxine (apyrogène). Débarrasser la verrerie et le matériel des endotoxines en les exposant, pendant 30 minutes, à une température de 250 °C. Prendre les précautions nécessaires pour protéger le matériel dépyrogénéisé de toute contamination environnementale.

Les Ph de nos échantillons sont ajustés et se situent entre 6 et 8 donc il n'est pas nécessaire de leur ajouter l'hydroxide de sodium pour les ajuster.

II.2.2.2.1. Reconstitution du Lysat :

- Mélanger un volume $V=5.2$ ml d'eau LAL doucement avec des mouvements rotatoires pendant 30 secondes, pour éviter la formation de mousse puis distribuer des volumes $V= 0.1$ ml de lysat reconstitué dans des tubes apyrogènes (10×75 mm), et refermer chaque tube avec des feuilles d'aluminium apyrogènes.
- Le réactif lyophilisé est conservé à une température entre $+2^{\circ}\text{C}$ et $+8^{\circ}\text{C}$ après reconstitution pour une utilisation immédiate pendant 24h, il peut être Pconservé à une température de -10°C pour pendant deux semaines au maximum (ne congeler ou décongeler qu'une seule fois).

II.2.2.2.2. Reconstitution de l'endotoxine :

- Agiter vigoureusement pendant au moins 10 minutes, à vitesse élevée à l'aide d'un agitateur Vortex 5ml d'eau LAL (noter la date de reconstitution), avant son utilisation subséquente, il faut mettre la solution reconstituée à température ambiante et l'agiter vigoureusement au vortex pendant 15 minutes. Ceci est important car l'endotoxine a tendance à s'attacher au verre.

L'endotoxine lyophilisé reconstituée peut être conservée dans son flacon d'origine pendant un mois entre (2et8) °C.

II.2.2.2.3. Lancement du test :

- Chaque dosage devra comporter un tube contrôle négatif pour vérifier que le mélange d'eau LAL à 2λ et le lysat est exempt d'endotoxines, un tube contrôle positif (0.250EU/ml) dans l'eau LAL pour vérifier les conditions opératoires du test, 6 tubes échantillons (eaux traitées surchargés).

a. Tube contrôle négatif :

Mettre 0.1 ml Eau LAL + 0.1 ml de lysat puis incubé à 37°C .

b. Tube contrôle positif

Prendre $V= 0.1$ ml Eau LAL + 0.1 ml de lysat ; et lui ajouter $10 \mu\text{l}$ de solution d'endotoxine 0.250 EU/ml.

c. Tube échantillon 1 (Eau beni messouss) :

Prélever avec des pipettes apyrogène 0.1 ml d'eau de Beni messouss (eau à analyser) dans un tube à part :

. Eau traitée.

Ensuite verser dans un tube $V = 0.1$ ml Eau LAL + 0.1 ml de lysat

d. Tube échantillon 2 (Mustapha Pacha) :

Prélever avec des pipettes apyrogène 0.1 ml d'eau de Mustapha (eau à analyser) dans un tube à part :

. Eau traitée.

Ensuite verser $V = 0.1$ ml Eau LAL + 0.1 ml de lysat dans un tube.

. Refaire l'essai après les résultats positifs.

II.3. Analyses physicochimiques :

- Ces analyses qualitatives ont pour but de détecter la composition chimique de l'eau pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse.
- Les analyses physicochimiques sont effectuées sur les eaux traitées « eaux pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse » prélevées au niveau des deux hôpitaux : CHU Beni-messousse et CHU Mustapha.
- Les tests physicochimiques ont été réalisés au niveau du département de Pharmacie « pavillon 26 » dans le laboratoire de chimie minérale au sein de l'université SAAD DAHLEB BLIDA.

II.3.1. Substances oxydables :

II.3.1.1. Appareillage et Materiel :

- Pipettes graduées.
- Pro pipette.
- Béchers.
- Fioles (100ml ,50ml).
- Balance.
- Hotte de laboratoire.
- Erlenmeyers.
- 2 Plaques chauffantes.
- Barreaux magnétiques.
- Chronomètre.

II.3.1.2. Mode opératoire :

a. Préparation des réactifs :

➤ Acide sulfurique« H₂SO₄ » dilué:

- Prendre un volume de 5.5 ml d'acide sulfurique dans un bécher et verser 60 ml d'eau distillée dans une fiole de 100 ml ensuite ajouter le volume d'Acide sulfurique au volume d'eau sous la hotte ; et compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'E.D.

➤ Permanganate de Potassium 0.02M :

prendre m=0.158g de permanganate de potacium.

- Peser une masse $m=0.158\text{g}$ de permanganate de potassium dans une fiole de 50ml et compléter avec de l'E.D jusqu'au trait de jauge.

b. Lancement du test :

➤ Eau traitée du CHU Beni-messousse :

- Chauffer à ébullition dans un Erlenmeyer un mélange de :
 - 100ml d'eau à examiner (Eau traitée).
 - 10ml d'acide sulfurique dilué.
 - 0.1ml de la solution de permanganate de potassium 0.02M.

Puis laisser bouillir pendant 5 min avant d'observer les résultats.

➤ Eau traitée du CHU Mustapha :

- Chauffer à ébullition dans un Erlenmeyer un mélange de :
 - 100ml d'eau à examiner (Eau traitée).
 - 10ml d'acide sulfurique dilué.
 - 0.1ml de la solution de permanganate de potassium 0.02M.

Puis Laisser bouillir pendant 5 min avant d'observer les résultats.

II.3.2. Chlorure : « Au maximum 50 ppm »

II.3.2.1. Appareillage et materiel :

- Pipettes graduées.
- Pro pipette.
- Balance.
- Fioles (1L, 100ml).
- Tubes à essai.
- Papier Aluminium.
- Portoir pour tubes.
- Eprouvette graduée.
- Fond noir.
- Chronomètre.

II.3.2.2. Mode opératoire :

a. Préparation des réactifs :

➤ Solution Nitrates d'argent :

- Peser 17g de nitrate d'argent dans une fiole de 1L et compléter avec de l'E.D jusqu'au trait de jauge (conserver la fiole à l'abri de la lumière).
- Acide nitrique dilué :
- Peser 20g d'acide nitrique dans une fiole de 100ml et compléter avec de l'E.D jusqu'au trait de jauge.

- Prendre 14.28ml de notre solution d'acide nitrique, dans une fiole de 100ml et compléter avec de l'E.D le volume restant.

➤ Préparer la solution témoin «NaCl à 5ppm» :

- Peser 0.825g de NaCl dans une fiole de 1L, puis compléter avec de l'ED jusqu'au trait de jauge, prendre ensuite un volume de 1ml de cette solution diluée de NaCl, dans une fiole de 100ml et compléter avec de l'eau distillée le volume restant.

b. Lancement du test :

➤ Eau traitée du Chu « Beni-messouss»:

• Témoin :

- Prendre 10ml de la solution diluée de Na Cl (5ppm) et lui ajouter 5ml d'E.D, ensuite verser le mélange dans un tube à essai et le cacher avec un papier Aluminium pour le préserver de la lumière.

• Echantillon :

- Prendre 1ml d'eau à examiner « Eau traitée de l'hôpital B.M » ; dans une éprouvette graduée et compléter avec de l'eau distillée jusqu'à 15ml, verser le contenu de l'éprouvette dans un tube à essai (1) et ajouter 1ml d'acide nitrique puis mettre dans un autre tube à essai (2), 1ml de la solution de nitrate d'argent et verser le contenu du tube à essai (2) dans le contenu du tube à essai (1).
- Cacher le tube (échantillon) avec du papier aluminium, pour le protéger de la lumière et attendre 5 minutes avant de faire l'observation.

- On procède de la même manière et en suivant les mêmes étapes pour examiner l'eau traitée de l'hôpital Mustapha Pacha.

N.B : on lance le test en même temps pour les eaux des deux hôpitaux.



Figure 2.3 : les 3 tubes à essai à labri de la lumière « solution témoin et solutions à examiner » lors de la manipulation.

II.3.3. Sulfates : « Au maximum 50ppm »

II.3.3.1. Appareillage et matériel :

- Pipettes graduées
- Pro pipette.
- Burette graduée
- Eprouvette de 100ml.
- Fioles (100ml, 50ml).
- 3 Tubes à essai.
- Portoir tubes.
- Balance.
- Chronomètre.

II.3.3.2. Mode opératoire:

a. Préparation des réactifs :

- Chlorure de Baryum $BaCl_2$ à 250g/l :

N.B : Ces calculs sont faits pour utiliser seulement 50 ml d'E.D et 12.5g de Ba Cl₂ au lieu d' 1l d'eau distillée et 250 g de Chlorure de Baryum sans que cela affecte notre test.

- Peser m=12.5 de Ba Cl₂ dans une fiole de 50 ml et compléter avec de l'eau distillée.
 - Solution à 10 ppm de Sulfate « SO₄ »:
- Peser une masse de 0.181g de sulfate dipotassique « K₂ SO₄ » dans une fiole de 100ml et dissolver cette quantité avec de l'alcool à 30% puis compléter jusqu'au trait de jauge avec le même solvant.
 - Préparer mélange « A » :
- Prendre 3ml de la solution Chlorure de Baryum Ba Cl₂ à 250g/l et lui ajouter 4.5ml de la solution à 10 ppm de Sulfate SO₄ puis agiter et laisser reposer pendant une minute.
 - Préparer mélange B :
- Prendre 3 ml de notre eau à examiner « Beni-messouss » dans une burette graduée et ajouter de l'eau distillée (E.D) jusqu'à 15 ml, prendre aussi 3ml de l'eau traitée à examiner de « Mustapha Pacha » dans une autre burette et compléter jusqu'à 15 ml avec de l'eau distillée.
 - Acide acétique « C₂H₄O₂ »:

Prendre un volume V=28.5ml de C₂H₄O₂ avec une pipette graduée dans une éprouvette graduée de 100 ml et compléter le volume avec de l'eau distillée.

b. Lancement du test :

- échantillons :
- Pour Chu Beni-messouss :
- Prendre avec une pipette un volume de 2.5ml du mélange A dans un tube à essai, ajouter le mélange B (15 ml de la solution à examiner diluée Beni-messouss).

Etiqueter le tube à essai et le mettre sur le support puis ajouter 0.5ml d'acide acétique et attendre 5 min.

➤ Pour Chu Mustapha :

- Prendre un volume de 2.5 ml du mélange A dans un tube à essai, et ajouter le mélange B (15ml de la solution à examiner diluée de l'hôpital Mustapha Pacha). Etiqueter le tube à essai et le mettre sur le support puis ajouter 0.5ml d'acide acétique et attendre 5 min.

➤ Solution Témoin :

- Prendre 2.5 ml du mélange A dans un tube à essai et ajouter 15ml de la solution à 10 ppm de sulfate (étiqueter le tube à essai et le mettre sur le support) ensuite ajouter 0.5ml d'acide acétique et attendre 5min.

N.B : Préparer les échantillons et la solution témoin en même temps.

II.3.4. Nitrates : « Au maximum 50 ppm »

II.3.4.1. Appareillage et materiel :

- Fioles (25ml, 100ml, 500ml)
- Pipettes graduées
- Pro pipette.
- Tubes à essai.
- Bain marie.
- Des glaçons.
- Balance.
- Chronomètre.

II.3.4.2. Mode opératoire :

a. Préparation des réactifs :

➤ Solution de Chlorure de potassium « KCl » à (100g/l):

Peser une masse $m = 2.5g$ de KCl dans une fiole jaugée de 25 ml et compléter le volume avec de l'E.D.

➤ Solution de diphénylamine « C₁₂H₁₁N » à 1g/l :

- Peser 0.1 g de diphénylamine dans une fiole de 100 ml et compléter le volume avec l'acide sulfurique concentré jusqu'au trait de jauge.

➤ Solution à 2 ppm de Nitrate « NO₃ » :

- Peser une masse $m=0.686g$ de nitrate de potassium dans une fiole de 500 ml et compléter le volume avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

b. Lancement du test :

➤ Solution témoin :

- Verser dans un tube à essai étiqueté et placé dans un bain d'eau glacée, $V= 0.1$ ml de la solution de nitrate à 2 ppm et ajouter ensuite 4.9ml d'eau distillée exempte de nitrate.

➤ Echantillons :

➤ Pour Chu Mustapha :

- Prendre 10 ml de l'eau traitée du Chu Mustapha dans une fiole de 100ml et compléter le volume avec de l'E.D puis étiqueter et placer un tube à essai dans un bain d'eau glacée et verser un volume de 5ml de cette solution d'eau à examiner diluée dans le tube, lui jouter 0.4ml de la solution de chlorure de potassium à 100g/l et $V= 0.1$ ml de la solution de diphénylamine, puis ajouter goutte à goutte et en agitant un volume de 5ml de l'acide sulfurique.

➤ Pour Chu Beni-messousse :

- Prendre 10 ml de l'eau à examiner du Chu Beni-messousse dans une fiole de 100ml puis compléter le volume avec de l'E.D puis verser un volume de 5ml de cette solution d'eau dans un tube à essai étiqueté et placé dans un bain d'eau glacée), ajouter 0.4ml de la solution de chlorure de potassium à 100g/l et $V= 0.1$ ml de la solution de

diphénylamine, puis ajouter goutte à goutte et en agitant un volume de 5ml de l'acide sulfurique.

N.B : Lancer le test en même temps pour les échantillons et la solution témoin. Placer les 3 tubes dans un portoir et les mettre au même moment dans le bain marie à 50°C pendant 15 mn.

- Refaire le test une deuxième fois en suivant exactement le même mode opératoire décrit précédemment pour confirmer nos résultats.

II.3.5. Ammonium : « au maximum 0.2ppm »

II.3.5.1. Appareillage et matériel :

- Pipettes.
- Pro pipettes.
- Fioles(50ml,25ml,
- Eprouvette graduée.
- Tubes à essai à fond plat.
- Chronomètres.
- Balance.

II.3.5.2. Mode opératoire :

a. Préparation des réactifs :

➤ Solution alcaline de tétraiodomercurate de potassium :

- Peser 5.5g de « Iodide de potassium » dans une fiole de 50ml, ajouter un peu d'ED pour la diluer sans compléter le volume (Solution A). Peser une masse $m=7,5g$ de « iodure de mercure rouge » dans une fiole de 25ml et ajouter une peu d'E.D sans compléter le volume (Solution B), puis mélanger la solution A« Iodide de potassium » et la solution B « iodure de mercure rouge » dans la fiole de 50 ml puis compléter le volume avec de l'E.D jusqu'au trait de jauge.

N.B : On remarque à l'ajout de la solution A la couleur rouge de la solution B disparaît et devient jaune surtout avec l'ajout de l'eau distillée.

- Solution de Na OH à 250g/l :

- Peser 12.5 g de NaOH dans une fiole de 50 ml, compléter le volume restant avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

- Solution à 1ppm d'ammoniaque NH₄Cl :

- Peser 0.741 g de NH₄Cl et compléter à 1000ml=1L avec de l'eau distillée ensuite prendre 20 ml de cette solution dans une éprouvette et compléter le volume avec de l'E.D à 50 ml.

b. Lancement du test :

- Solution témoin :

- Etiqueter un tube à fond plat et transparent avant de mettre dedans un volume de 4 ml prélevé de la solution d'ammoniaque et ajouter dans le tube à essai 16 ml d'eau distillée.

- Echantillons :

- Etiqueter deux tubes à essais à fond plat et transparent, le 1^{er} pour l'eau à examiner de l'hôpital Mustapha et le deuxième pour Beni-messousse.

- Dans chaque tube à essai :

Mettre un volume $V = 20$ ml de l'eau à examiner qui convient à chaque hôpital et ajouter 1 ml de solution alcaline de tétraiodomercurate de potassium.

N.B : Lancer le test en même temps pour la solution témoin et les échantillons puis attendre 5 minutes avant d'examiner.

II.3.6. Métaux lourds : « au maximum 0,1 ppm »

II.3.6.1. Appareillage et matériel :

- Balance.
- Fioles.25ml 100ml
- Pipettes graduées.
- Pro pipette.
- Bécher.
- Bain marie.

- Capsule de verre.

II.3.6.2. Mode opératoire :

a. Préparation des Réactifs :

➤ Le réactif au théocétamide :

- Préparer un mélange de 5 ml d'E.D et 15 ml de Na OH (1M) et 20 ml de glycérol (85%), ensuite ajouter à ce mélange 0.2 ml de solution thiocétamide puis chauffer au bain marie pendant 20s.

➤ Solution tampon Ph = 3.5 :

- Peser 25 g d'acétate d'ammonium dans une fiole de 25 ml et compléter le volume avec l'E.D jusqu'au trait de jauge puis ajouter 38 ml de HCL dilué et Calculer le Ph (Ph trouvé est basique Ph=2.7), donc ajouter quelques gouttes de la solution d'HCL pour l'ajuster à Ph=3.5, ensuite mettre le mélange dans une fiole de 100 ml et compléter le volume avec de l'E.D.

➤ Solution de chlorydrique :

- Peser 70 g de HCl et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.

b. Lancement du test :

Commencer par chauffer à ébullition un volume de 200 ml d'eau à examiner de chaque hôpital dans une capsule de verre au bain marie jusqu'à réduction du volume à 20 ml.

➤ Pour Chu Beni-messouss :

➤ Solution témoin:

- Prélever 2ml de l'eau à examiner et la mettre dans un tube à essai qui contient déjà 10 ml de la solution à 1ppm de plomb ensuite mélanger et ajouter 2 ml de réactif au théocétamide et mélanger immédiatement (étiqueter le tube à essai et le mettre sur le portoir).

➤ Solution à Blanc :

- Mélanger 10 ml d'E.D et 2 ml d'eau à examiner de « Beni_messouss » ; ajouter 2 ml de solution tampon Ph=3.5 puis mélanger et ajouter 2 ml de réactif au théocétamide, puis mélanger immédiatement (étiqueter le tube à essai et le mettre sur le portoir).

Examiner les solutions après 2 minutes.

- On procède de la même manière et en suivant les mêmes étapes pour examiner l'eau traitée de l'hôpital Mustapha

II.4. Le test de chromatographie en phase gazeuse :

- La chromatographie en phase gazeuse (CPG) a été effectuée au niveau de l'institut Criminologie de la gendarmerie national (Bouchaoui).
- Le but de cette analyse est d'utiliser la technique de (CPG) pour séparer les molécules et détecter les différentes concentrations des composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition présents dans notre eau à analyser.
- Le test est effectué sur les eaux traitées des deux hôpitaux « Mustapha Pacha » et Beni-Messouss » (eau pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse).

II.5. Le test de Spectrophotométrie d'absorption atomique « SAA » :

- La spectrométrie d'absorption atomique (Atomic Absorption Spectroscopy en anglais ou AAS) a été effectuée au niveau de l'institut Criminologie de la gendarmerie nationale (Bouchaoui).
- Le but de ces analyses est d'utiliser la méthode de SAA pour mesurer la concentration des différents métaux contenus dans notre solution à analyser.
- Le test est effectué sur les eaux traitées des deux hopitaux « Mustapha Pacha » et Beni-Messouss » (eau pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse).

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Caractère :

III.1.1. Observation et interprétation des résultats :

- On remarque que notre eau est un liquide limpide, incolore et insipide, cela correspond parfaitement au caractère de l'eau pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse décrit par la pharmacopée européenne 6^{ème} édition.

III.2. Analyses microbiologiques :

III.2.1. Analyses sur la contamination microbienne :

III.2.1.1. Observation des résultats:

➤ Pour le Chu Beni-messousse:

- L'eau traitée de l'hôpital Beni-Messousse est très contaminée, Il y a formation d'une couche (une nappe bactérienne) dans la boîte de pétri ce qui fait que le dénombrement n'a pas pu être effectué .



Figure 3.1 : Boîtes de pétri correspondant au résultat d'analyse du CHU Beni_messouss.

➤ Pour le Chu Mustapha :

- Dans la boîte de pétri qui représente le résultat des analyses microbiologiques pour l'échantillon (Eau traitée), il y a formation d'une nappe bactérienne sur le filtre. Dont c'est impossible de faire le dénombrement sur plaques de gélose .



Figure 3.2 : boîtes de pétri correspondant au résultat d'analyse du CHU Mustapha.

III.2.1.2. Interprétation des résultats :

- Les résultats ne sont pas conformes avec les normes exigées par la pharmacopée européenne.
- Les deux boîtes de pétri des deux hôpitaux « Mustaph Pacha » et « Beni_messouss » ont une couleur verte et il y a formation d'une couche bactérienne, cette couleur verte signifie qu'il y a une présence de Pseudomonas.

N.B : A cause de ces résultats non conformes, on a décidé de refaire les analyses , de retourner aux hôpitaux cités précédemment afin de faire d'autres prélèvements d'eaux et pour pouvoir faire le dénombrement sur plaque de gélose tout en procédant comme suit :

Faire une dilution à nos échantillons pour pouvoir faire le dénombrement souhaité.

III.2.1.3. 2^{ème} essai Analyses sur la contamination microbienne :

III.2.1.3.1. Observation des résultats :

➤ Pour le CHU Beni-messousse :

- Eau traitée 680ufc/ml

La norme : 100 ufc/ml.

➤ Pour le CHU Mustapha :

- Eau traitée: 815ufc/ml.

La norme : 100ufc/ml.

III.2.1.3.2. Interprétation des résultats :

➤ Résultats du Chu Beni-messouss :

- Eau traitée : plus de 680 colonies trouvées par ml (Non-conformité).

➤ Résultats du Chu Mustapha :

- L'eau traitée : 15ufc/ml (Non-conformité)

➤ Aucun résultat ne correspond aux normes exigées par la pharmacopée européenne 6^{ème} édition, l'eau est donc contaminée et nos résultats ne sont pas conformes.

III.2.2. Analyses des endotoxines bactériennes :

III.2.2.1. Observation des résultats :

- Pour le Tube contrôle négatif on remarque une absence de gélification
- Pour le Tube contrôle positif on remarque la formation d'un gel solide qui ne se casse pas à angle de 180c°.
- Pour le Tube échantillon 1 « beni messouss » :
 - eau traitée: on remarque la formation d'un gel solide qui ne se casse pas à angle de 180c° dans le tube
- Pour le Tube échantillon 2 (Mustapha Pacha) :
 - on remarque aussi la formation d'un gel solide qui ne se casse pas à angle de 180c°, dans le tube
- On remarque la même chose après le deuxième essai pour les tubes échantillons 1 et 2.

III.2.2.2. Interprétation des résultats :

- Pour le tube contrôle négatif l'absence de gélification vérifie la non contamination du mélange (Lysat + Eau LAL).
- Pour le tube contrôle positif la formation d'un gel solide signifie que les conditions opératoires du test sont vérifiées, parce que le réactif lysat d'amoebocylite de limule doit coaguler en présence d'endotoxine (cette coagulation est le résultat d'une réaction entre les endotoxines et une protéine coagulable présente dans les amoebocytes du sang de limule).
 - Pour le tube échantillon 1 « Beni messouss » :
 - La formation d'un gel solide qui ne se casse pas à angle de 180c° avant 1 heure d'incubation est due à la propriété du lysat à coaguler en présence d'endotoxines bactériennes cela signifie la présence d'une quantité d'endotoxines supérieure à la norme exigée par la pharmacopée européenne (0,250EU/ml) ; donc le test est positif.
 - Pour le tube échantillons « Mustapha Pacha » :
 - La formation d'un gel solide qui ne se casse pas à angle de 180 c° avant 1heure d'incubation est due à la propriété du lysat à coaguler en présence d'endotoxines bactériennes, cela signifie la présence d'une quantité d'endotoxines supérieure à la norme exigée par la pharmacopée européenne (250EU/ml) ; donc le test est positif.

➤ 2^{ème} essai :

- On remarque aussi une gélification dans les deux tubes (eau traitée) des deux hôpitaux « Beni Messouss » et « Mustapha Pacha » donc on confirme que le test est positif : L`ELC (la concentration limite d'endotoxine) (250EU/ml) est dépassée et les eaux sont non conformes aux normes de la pharmacopée européenne..
- D'après les analyses microbiologiques, on constate que les eaux traitées « eaux pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse» des deux hôpitaux « Mustapha Pacha » et « Beni-Messouss » sont contaminées, aucun des résultats ne répond aux exigences de la pharmacopée européenne. Le test microbien « Aérobie viables totaux » est positif (confirme la présence de contaminants) ainsi que le test des endotoxines bactériennes qui sont des substances pyrogènes pouvant provoquer une augmentation de la température corporelle et qui présentent sur les patients dialysés les effets suivants: Pyrogénicité entraînant mal de tête, myalgie et nausées ; Leucopénie ou Hypotension pouvant être létale (choc endotoxinique).

Les eaux des deux hôpitaux sont contaminées malgré leur passage par une tubulure pour arriver à la salle d'épuration, ou elle passe par quatre étapes d'épuration et de traitement :

- Les filtres à particules.
- L'adoucisseur d'eau.
- Filtres granulaires à charbon actif.
- L'osmose inverse.

Les différents procédés qui interviennent dans le traitement de l'eau sont eux mêmes à l'origine de prolifération microbienne.

Les filtres à charbon, les adoucisseurs sont de véritables niches écologiques, ainsi que les zones du circuit où il y a une stagnation de liquide ou un faible débit présentant un risque accru de formation du biofilm.

La surface interne des canalisations facilite le développement des microorganismes et la formation du biofilm. Pour cette raison ces zones sont appelées des zones critiques et tout

cela est dû à l'absence **TOTALE** du nettoyage et désinfection de la chaîne de traitement ainsi la boucle de distribution.

Une désinfection périodique des filtres est donc nécessaire pour avoir une eau conforme. Les cartouches d'adoucisseurs sont sujettes à contamination bactérienne. Les filtres de charbon actif peuvent être aussi sujets à la colonisation et à la prolifération bactérienne. La désinfection et l'entretien des cartouches d'adoucisseur et du circuit en amont du filtre, et le changement régulier du filtre sont des armes qui peuvent faire leur preuve contre la prolifération bactérienne.

III.3. Analyses physicochimiques :

III.3.1. Substances oxydables :

III.3.1.1. Observation des résultats :

➤ Eau traitée Beni-messousse :

Après 5 minutes d'ébullition on remarque que la couleur du mélange reste légèrement rose.



Figure 3.3. : Résultat du test sur les substances oxydables pour « l'hôpital B.M »

➤ Eau traitée Mustapha :

On remarque que la couleur rose du mélange n'a pas changé après les 5 min d'ébullition.



Figure 3.4.: Résultat du test sur les substances oxydables pour l'hôpital Mustapha.

II.3.1.2. Interprétation des résultats :

- La couleur du mélange dans les deux erlenmeyers pour les deux hôpitaux cités précédemment n'a pas changé, cela signifie que le test est négatif. Il n'y a pas de substances oxydables dans notre eau à examiner (Eau pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse).

Les résultats sont conformes pour les eaux traitées des deux hôpitaux.

II.3.2. Chlorure « Au maximum 50 ppm » :

II.2.2.1. Observation des résultats :

➤ Eau traitée Beni-messouss :

Après 5 minutes à l'abri de la lumière, on fait la comparaison sur fond noir entre le tube l'échantillon eau traitée (Beni-messouss) et le tube de la solution témoin, on remarque que l'échantillon est beaucoup moins trouble et opalescent que la solution témoin.



Figure 3.5 : résultat du test chlorure sur l'eau traitée du Chu Beni-messouss.

➤ Eau traitée Mustapha :

Après 5 minutes à l'abri de la lumière, on fait la comparaison sur fond noir et on remarque que la solution à examiner « échantillon du Chu Mustapha » est moins opalescente que celle du témoin.



Figure 3.6. : Résultat du test chlorure sur l'eau traitée du Chu Mustapha.

III.3.2.2. Interprétation des résultats :

- Les solutions à examiner échantillons « eau traitée » pour les deux hôpitaux « benimessouss » et « Mustapha Pacha » sont beaucoup moins opalescentes que la solution témoin à « 50ppm », cela veut dire que le taux de chlorure présent dans les eaux traitées des deux hôpitaux ne dépasse pas la norme exigée par la pharmacopée européenne « 50ppm ». Le test est négatif et les résultats sont conformes pour les eaux pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse des deux hôpitaux cités précédemment.

III.3.3. Sulfate :

III.3.3.1. Observation des résultats :

➤ Eau traitée Beni-messouss :

Après 5 min on remarque par comparaison que l'échantillon (Eau à examiner) est beaucoup moins opalescent et trouble que la solution témoin.



Figure 3.7. : Résultat du test de Sulfates par comparaison de l'eau traitée de l'hôpital Beni Messouss et la solution témoin.

➤ Eau traitée "Mustapha Pacha" :

On remarque par comparaison que la solution témoin est beaucoup plus trouble et opalescente que l'échantillon (eau traitée de Mustapha).



Figure 3.8. : Résultat du test de sulfates par comparaison de la solution témoin et l'échantillon de l'hôpital Mustapha.

III.3.3.2. Interprétation des résultats :

- Les solutions à examiner « échantillons » pour les deux hôpitaux « Beni-Messouss » et « Mustapha Pacha » sont beaucoup moins opalescentes que la solution témoin, cela signifie que la présence du sulfate dans l'eau traitée des deux hôpitaux ne dépasse pas la norme exigée par la pharmacopée européenne « 50 ppm ». Le test est négatif et les résultats sont conformes pour les eaux pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse des deux hôpitaux.



Figure 3.9 : Comparaison des résultats du test sur les sulfates.

III.3.4. Nitrates :

III.3.4.1. Observation des résultats :

- On remarque qu'une coloration bleue paraît pour les deux solutions à examiner « Benimessousse » et « Mustapha », celle-ci est plus intense que celle de la solution témoin à 2ppm .
- La solution témoin est plus claire que les échantillons.

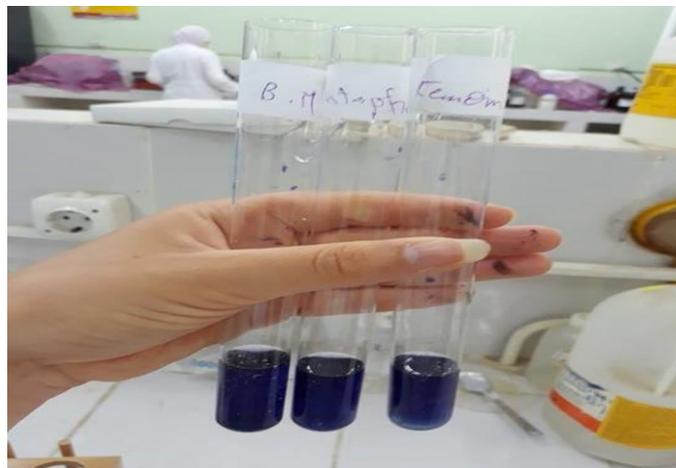


Figure 3.10 : Résultat du 1^{er} test de nitrates

III.2.4.2. Interprétation des résultats :

- Les solutions à examiner « échantillons » pour les deux hôpitaux « Beni-Messousse » et « Mustapha » sont plus intenses que la solution témoin à 2 ppm, cela veut dire que le taux de nitrate présent dans les eaux traitées des deux hôpitaux dépasse la norme exigée par la pharmacopée européenne. Le test est positif et les

résultats ne sont pas conformes pour les eaux pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse des deux hôpitaux.

III.2.4.3. Observation des résultats du 2^{ème} test :

- On remarque que l'eau traitée de l'hôpital Beni-messousse est d'un bleu plus intense (foncé) que celui de la solution témoin.
- L'eau traitée de l'hôpital Mustapha cette fois est très légèrement moins intense que la solution témoin.



Figure 3.11 : Résultat du 2^{ème} test de nitrate.

III.2.4.4. Interprétation des résultats du 2^{ème} test :

- L'eau traitée de l'hôpital « Beni_messousse » est d'une couleur bleu plus intense que celle de la solution témoin à 2ppm, cela signifie que la présence du nitrate dans cette eau dépasse la norme exigée par la pharmacopée européenne. Le test confirme la non conformité des résultats précédents pour cet hôpital.
- L'eau traitée de l'hôpital « Mustapha Pacha » est légèrement moins intense que la solution témoin à 2ppm, cela signifie que la présence du nitrate dans cette eau répond à la limite recommandée par la pharmacopée européenne. Ce 2eme essai confirme la conformité des résultats pour cet hôpital.

III.3.5. Ammonium :

III.3.5.1. Observation des résultats :

- On remarque que la solution témoin est plus fortement colorée (jaune) que les deux échantillons d' « eau pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse » des deux hôpitaux.
- La couleur de la solution à examiner du CHU Mustapha est plus foncée que celle du CHU Beni-messousse mais les deux sont moins foncées que la solution témoin.



Figure 3.12. : Résultat du test d'Ammonium.

III.3.5.2. Interprétation des résultats :

- La solution échantillon de l'hôpital Mustapha est plus foncée que celle du Chu beni_messousse, cela signifie qu'il y a plus d'ammonium dans l'eau traitée de Mustapha que celle de Beni-messousse, mais les solutions à examiner « échantillons » pour les deux hôpitaux « Beni-messousse » et « Mustapha Pacha » sont moins foncées que la solution témoin à 1 ppm, cela veut dire que la présence de l'ammonium dans les eaux traitées des deux hôpitaux ne dépasse pas la norme exigée par la pharmacopée européenne. Le test est négatif et les résultats sont conformes pour les eaux pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse des deux hôpitaux.

III.3.6. Métaux lourds :

III.3.6.1. Observation des résultats :

- On remarque que les solutions échantillon eau à examiner de « Beni-messouss » ainsi que celle de « Mustapha Pacha » sont plus clair que la solution témoin.

III.3.6.2 Interprétations des résultats :

- Les solutions à examiner « eaux traitées » des deux hôpitaux cités précédemment sont moins foncées que la solution témoin « 0,1ppm », cela signifie que le taux de métaux lourds présent dans ces eaux ne dépasse pas la limite exigée par la pharmacopée européenne. Le test est négatif pour les eaux pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse des deux hôpitaux.

III.4. Chromatographie en phase gazeuse :

III.4.1. Observation des résultats :

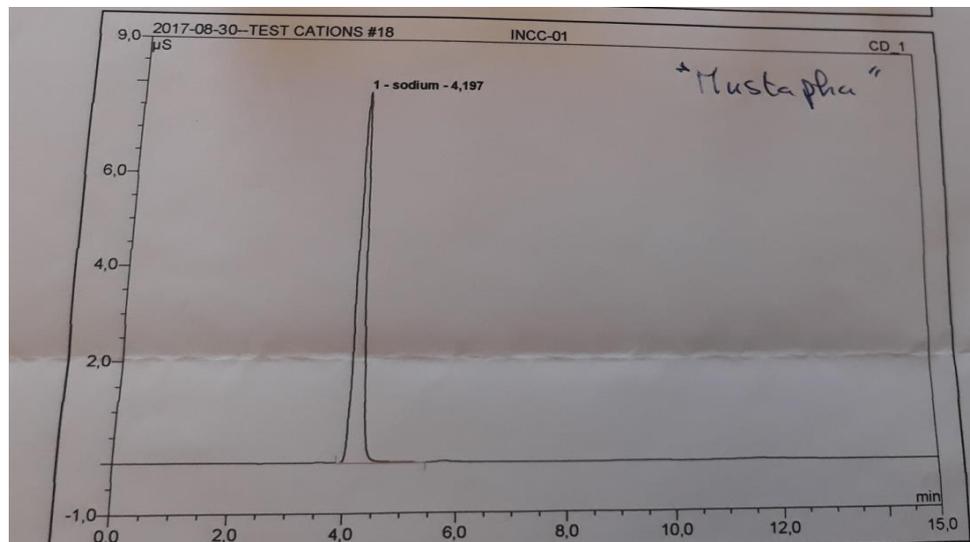


Figure 3.13. : Chromatogramme des eaux traitées de l'hôpital « Mustapha Pacha ».

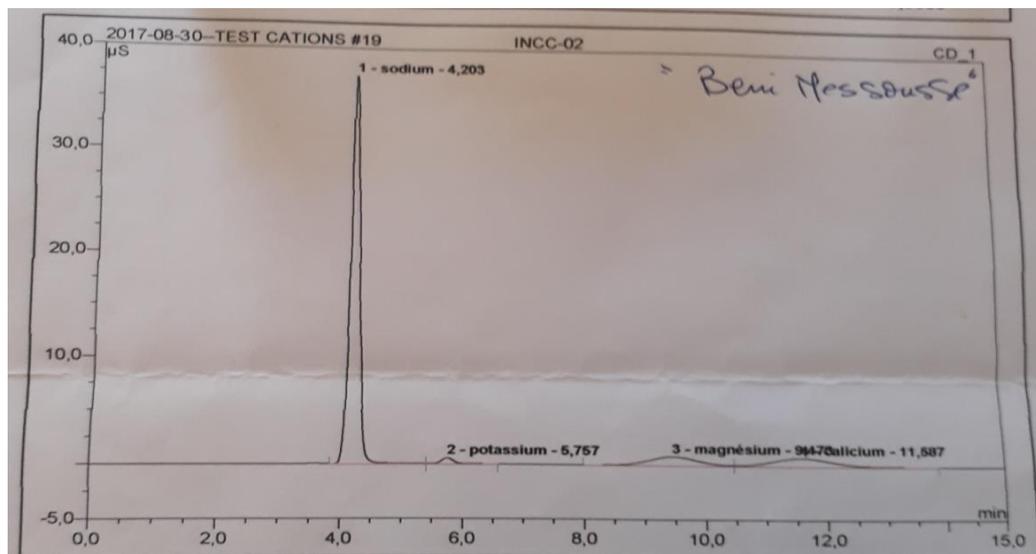


Figure 3.14. : Chromatogramme des eaux traitées de l'hôpital « Beni-Messouss ».

- On remarque que les concentrations des électrolytes suivants : Sodium, Potassium magnésium, Calcium ainsi que les autres électrolytes (chlorure, sulfate) déjà contrôlés par les analyses physicochimiques ont des concentrations ne dépassant pas leurs limites recommandées par la pharmacopée européenne comme le montre le tableau ci-dessous. A l'exception des Nitrates que sa concentration ne doit pas dépasser 2 mg/l, pour l'hôpital Beni messouss est d'une concentration de 4.397mg/l voire le double de la limite exigée par la pharmacopée européenne (nul pour l'hopital Mustapha), cela a déjà été confirmé dans les analyses physicochimiques.

Tableau 3.1. : Les concentrations des électrolytes données par la chromatographie sur phase gazeuse.

| | chlorure | nitrate | sulfate | sodium | potassiu m | magnesium | calcium |
|--|----------|--------------|---------|--------|---------------|-----------|---------|
| Concentratio n (mg/l) Mustapha | 4,300 | – | – | 5,258 | – | – | – |
| Concentratio n (mg/l) Beni messouss | 24,454 | 4,397 | 10,472 | 25,898 | 0,125 | 0,756 | 1,740 |
| Pharmacopée européenne (mg/l) | 50 | 2 | 50 | 50 | 2 | 2 | 2 |

III.4.2. Interprétation des résultats :

La chromatographie sur phases gazeuse nous montre que les électrolytes suivants (Magnesium, Potassium, Calcium, Sodium) ont des concentrations conformes aux limites exigées, donc le test est négatif et les quantités d'électrolytes dans ces eaux pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse pour les deux hôpitaux répondent aux normes exigées par la pharmacopée européenne 6ème édition.

Ce test nous confirme aussi les résultats des analyses physicochimiques pour le chlorure, sulfate qui sont présents dans les eaux pour dilutions des solutions concentrées pour hémodialyse avec des concentrations inférieures aux limites exigées par la pharmacopée européenne, et aussi pour les Nitrates qui sont en excès dans les eaux traitées de l'hôpital Beni-Messouss (non_conformité), conformité du taux de nitrate pour l'hôpital Mustapha Pacha.

III.5. Spectrométrie d'absorption atomique :

III.5.1. Observation des résultats:

Le tableau 3.2. : Les résultats du test de la spectrophotométrie d'absorption atomique.

| | Cu | Zn | Pb |
|---------------------------------------|------|--------|-------------------|
| Concentration (mg/l) Mustapha | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Concentration (mg/l) Beni Messeuss | 0,00 | 0,0039 | 0,00 |
| Pharmacopée (mg/l) | 0,1 | 0,1 | $5 \cdot 10^{-3}$ |

➤ Pour l'hôpital « Mustapha Pacha » :

On remarque que les concentrations (mg/l) des composés (Cuivre, Zinc et Plomb) sont nulles et inférieures à leurs limites recommandées par la pharmacopée européenne (0,1mg/l pour le Cu et Zn et $5 \cdot 10^{-3}$ pour le Pb).

➤ Pour l'hôpital Beni-Messouss :

On remarque que les concentrations (mg/l) des composés (Cuivre et Plomb) sont nulles et la concentration du Zinc est égale à 0,0039mg/l, inférieures à leurs limites recommandées par la pharmacopée européenne (0,1mg/l pour le cuivre et le zinc) et ($5 \cdot 10^{-3}$ pour le Pb).

III.5.2. Interprétation des résultats :

Les valeurs des concentrations du Cuivre, Zinc et Plomb données par la « SAA » sont tous inférieures aux valeurs recommandées par la pharmacopée européenne 6^{ème} édition,

comme le montre le tableau ci-dessus, cela veut dire que les eaux traitées des deux hôpitaux Beni messouss et Mustapha Pacha sont conformes.

- Les analyses physicochimiques révèlent que tous les tests sont négatifs à l'exception du test des nitrates qui est positif, les nitrates en excès, dépasse la norme exigée par la pharmacopée européenne.

A l'hôpital Beni-Messouss les médecins responsables de l'hémodialyse ont observé des hypotensions et nausées chez les patients soumis à l'hémodialyse d'une façon permanente. Ces derniers sont le résultat de l'excès de nitrate dans le dialysat constitué principalement d'eau traitée.

Les nitrates ont pour principale origine les engrais dans les eaux de ville, et selon la pharmacopée la concentration des nitrates dans l'eau potable est de 50mg/l par rapport à sa concentration dans l'eau de dialyse qui est de 2mg/l. Dans notre cas la concentration des nitrates est supérieure à la norme décrite par la pharmacopée européenne, d'après la chromatographie en phase gazeuse la quantité des nitrates est égale à 4,397 mg/l donc le double de la quantité limite. Pour cette raison les cliniciens ont observé la persistance d'hypotension et les nausées après chaque séance d'hémodialyse chez les patients d'insuffisance rénale chronique et cela depuis presque 5 mois d'où la fatigue est permanente et non négligeable.

En relevant la valeur de la conductivité de l'unité de traitement qui est égale à 30 μ s (trop élevée pour sa limite qui est entre 6 et 12 μ s) est forcément due à la forte concentration des électrolytes parmi ces derniers les nitrates, sachant que la qualité d'eau traitée dépend de la qualité ionique globale.

Cette quantité de nitrate hors normes dans les eaux traitées est probablement due à la membrane de l'osmoseur car les membranes endommagées ne sont guère réparables et coutent très cher.

L'unité d'osmose inverse est un équipement qui permet l'épuration quasi totale des substances organiques et minérales solubles, des bactéries, des pyrogènes et des particules.

Les résultats obtenus par la spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA) ont mis à jour les quantités de Zinc, Cuivre, Plomb dans les eaux traitées utilisées pour la dilution des solutions concentrées pour hémodialyse et affirment leurs conformité et compatibilité aux normes exigées.

III.6. Recommandations:

Afin d'obtenir une eau adéquate pour l'hémodialyse on a toute une chaîne d'instruction à suivre et qui se détaille comme suit :

III.6.1. Maintien de la qualité:

Les résines des adoucisseurs ainsi que les filtres à charbon actif constituent des sites de prolifération microbienne qui contribuent à une dégradation de la qualité microbiologique de l'eau. Ainsi un dénombrement bactérien est utile pour contrôler que la présence de bactéries reste contenue dans des limites acceptables (< 100UFC /ml). La recherche d'endotoxines dans ces deux types d'eau est utile.

III.6.2. Désinfection des adoucisseurs :

Deux techniques de désinfection des adoucisseurs peuvent être utilisées pour limiter une prolifération qui soumettrait la chaîne de traitement d'eau à une pression microbienne trop importante et augmenterait le risque de passage de germes. Il peut s'agir soit d'une chloration en continu par une dilution d'une solution concentrée d'hypochlorite de sodium (eau de javel à 36°) soit d'une désinfection ponctuelle de la résine par du chlore provenant des pastilles ou produit par une électrolyse de la solution saturée de NaCl utilisée pendant la phase de régénération. Lorsque les installations comportent des cuves de stockage d'eau " brute " ou adoucie (ce qui doit être évité quand c'est possible), celles-ci doivent être chlorées en permanence (pompe d'injection de solution de javel) pour maintenir une concentration efficace de chlore actif et éviter toute contamination probable.

III.6.3. Changement des cartouches de charbon actif :

Le dimensionnement des cartouches de charbon actif doit tenir compte des différents polluants (pesticides, hydrocarbures) ou contaminants ajoutés aux (produits chlorés qui préviennent une contamination bactérienne).

Les cartouches de charbon actif ne peuvent pas être régénérées et doivent être changées une fois saturées. Les filtres de charbon actif peuvent être sujets à la colonisation et à la prolifération bactérienne (L'efficacité d'une désinfection chlorée sur un filtre de charbon actif au pouvoir catalytique est douteuse).

La désinfection et l'entretien du circuit en amont du filtre et le changement régulier du filtre sont des armes qui ont fait leur preuve contre la prolifération bactérienne.

Les cartouches de charbon actif sont placées en amont des systèmes d'osmose inverse ou de dé-ionisation afin de retenir le chlore qui peut endommager certaines membranes, d'autant que les résines de dé-ionisation sont incapables de retenir le chlore et les substances organiques. Il faut cependant intercaler à la sortie des cartouches de charbon actif, un filtre de microfiltration destiné à retenir les particules de charbon échappées de la cartouche (phénomène dû à la structure très poreuse du charbon).

III.6.4. Le contrôle d'efficacité de l'osmose inverse :

Les performances, la fiabilité et la facilité d'utilisation de ce procédé ont entraîné sa généralisation. Au delà de l'augmentation de la pureté obtenue par un système de double osmose, le bénéfice se situe surtout au niveau de la sécurité.

Le système d'osmose sera surveillé et contrôlé en ligne en continu par la mesure du débit et de la résistivité différentiels à l'entrée et à la sortie de l'osmoseur.

Au cours de la montée en pression d'un module d'osmose, des fuites peuvent avoir lieu en raison des très fortes pressions atteintes (jusqu'à 20 bars). Des microorganismes peuvent parvenir à constituer un biofilm à l'aval de la membrane d'osmose ce qui constitue une cause permanente de contamination.

III.6.4. Désinfection de la boucle et des générateurs :

Dans une chaîne de traitement d'eau pour hémodialyse, le principal " point critique " est représenté par le système de distribution de l'eau osmosée vers les générateurs de dialyse. C'est à ce niveau qu'il convient de concevoir une boucle de circulation de l'eau osmosée dont les caractéristiques : qualité des matériaux, géométrie, vitesse de circulation de l'eau, procédé de désinfection (chaleur, ozone, acide peracétique ...) permettent de prévenir toute dégradation de ses qualités physico-chimiques et microbiologiques.

La désinfection de l'installation doit comprendre la désinfection de la chaîne de traitement, de la boucle de distribution et des générateurs. Elle est réalisée grâce à différents moyens qui peuvent être alternés dans le temps :

- Emploi d'une solution désinfectante (hypochlorite de sodium, acide peracétique ...)
- Circulation d'eau pour hémodialyse portée à la température de 90°C
- Circulation de vapeur sous pression

III.6.5. Contrôle physico-chimique, microbiologique et endotoxinique :

La nature et la périodicité minimale des contrôles physico-chimiques, microbiologiques et endotoxiniques à réaliser; sont en fonction du nombre de séances de traitement annuels.

Il est conseillé de rechercher la présence de bactéries en utilisant des milieux de culture pauvres conservés à (20 - 22°C) pendant un minimum de 7 jours. En cas de résultats positifs, les bactéries doivent être identifiées.

Au démarrage de la technique, les contrôles bactériologiques et endotoxiniques doivent être réalisés chaque semaine pendant un minimum d'un mois.

Le suivi d'une installation nécessite le contrôle de chacune des étapes du processus (ou contrôle en cours de production) et de l'eau pour hémodialyse " produit fini ". La périodicité des contrôles est variable suivant les caractéristiques de la chaîne de traitement d'eau. Il est proposé en outre au Tableau 3.3 une périodicité des contrôles de la qualité de l'eau qui devraient être :

· **Journaliers :**

Relever la résistivité de l'eau osmosée, le degré hydrotimétrique de l'eau adoucie et le dosage du taux de chlore total (< 0,1 mg/l).

· **Mensuels :**

Microbiologie (dénombrement bactérien par filtration de 100 ml sur membrane à 0,45 µ et si possible identification des germes), recherche d'endotoxines. La fréquence peut être plus élevée en cas de risque particulier lié à la contamination de l'eau potable.

· **Trimestriels :**

L'ensemble des paramètres préconisés par la Pharmacopée Européenne 6ème Edition 2008 et la recherche de métaux (Fe, Cu, Cd.) pour cerner l'existence de variations saisonnières.

Tableau 3.3. : Fréquences minimales des contrôles physico-chimiques et microbiologiques.

| Technique de dialyse | Nature du liquide | Paramètres | Nombre de séances de traitement annuelles | | | |
|-----------------------|--|---|---|------------|--------------|-----------|
| | | | <200 | 200 à 1000 | 1000 à 10000 | >10000 |
| Hémodialyse classique | Eau Pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse | Conductivité Calcium Nitrates Substances oxydables Microbiologie endotoxines | 1fois/an | 2fois/ans | 4fois/an | 12fois/an |
| | | Tous les paramètres de pharmacopée | | | 1fois/an | 4fois/an |

CONCLUSION GENERALE :

- Au cours de cette étude nous avons réalisé des prélèvements d'eaux traitées au niveau des services néphrologiques des deux hôpitaux suivants : Chu «Mustapha Pacha » et Chu «Beni-messouss» dans le but d'effectuer sur ces eaux des analyses microbiologiques, physicochimiques en plus des analyse de Spectrométrie d'Absorption Atomique « SAA » et de chromatographie en phase gazeuse « CPG ».
- Les résultats des tests détaillés ont permis de savoir que la qualité de l'eau pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse examinée ne répond pas à toutes les normes de la pharmacopée européenne 6^{eme} édition et sa qualité est affectée par la présence de Nitrates et de contaminants «bactériens et endotoxiniques».
- Suite aux résultats trouvés nous avons proposé des recommandations pour désinfecter l'unité et diminuer les risques de contamination et aussi pour régler le problème de nitrate en excès dans ces eaux.
- Il est à noter que le stage a été très bénéfique aussi bien sur le plan théorique que pratique. En effet, sur le plan théorique, nous avons acquis des notions sur l'insuffisance rénale, sur le processus d'hémodialyse et le traitement de l'eau pour hémodialyse au cours de notre stage au sein des services néphrologiques des hôpitaux « Mustapha Pacha » et « Beni-messouss». Sur le plan pratique, le stage au niveau de Soidal biotique El samar nous a offert une excellente opportunité pour découvrir et côtoyer le monde du travail et d'acquérir une discipline professionnelle, en plus de pouvoir faire par nous-mêmes les analyses microbiologiques.
- Cette étude mérite d'être enrichie et cela en appliquant les tests de SAA et de CPG qu'on a pas eu l'opportunité d'effectuer nous mêmes ni le droit à avoir le mode opératoire, et de donner plus d'importance aux unités de traitements d'eau auxquelles nous n'avons pas eu accès, car il est important de savoir d'où provient la contamination et l'excès de nitrate .

- Comme tout projet, le notre présente quelques insuffisances que nous pouvons combler et des imperfections auxquelles on peut y remédier. Ce qui nous mène à certaines constatations concernant l'estimation du temps nécessaire à la réalisation.
- D'autre part, ce travail nous a permis de prendre conscience de l'importance du contrôle de cette eau utilisée pour la dilution des solutions concentrées pour hémodialyse et malgré les obstacles que nous avons rencontrés, nous avons appris à accepter les compromis et à relativiser les problèmes. Bien entendu, on a pu mettre à profit les acquis de notre formation.

BIBLIOGRAPHIE

- 1/ Maurizi-Balzan J, Zaoui P. 2005. L'insuffisance rénale chronique (235), Corpus Médical - Faculté de Médecine de Grenoble. Alpesrned. p 6.

- 2/ Bilodeau VK. 2007. L'insuffisance rénale.

http://cpoq.org/pathologies/fichiers/Insuffisance_renale.pd .

- 3/ Morin.P. 2000. Identification of the bacteriological contamination of a water treatment used for haemodialysis and its disinfection, Journal of Hospital Infection, suppl 45: p 218-224.

- 4/ Jacquet A, Cueff C, Memain N, Palot, et al. 2005. Progrès réalisés et à venir de L'hémodialyse intermittente, Société de réanimation de langue française. Publié par Elsevier

 SAS, Réanimation suppl 14, p 539-550.

- 5/ Hoarau M. 2011. La dialyse ou, quand, comment?. Dossier spécial dialyse, éditorial, Reins-Échos n°10, p 60.

- 7/ Donadey A, Legallais C, De Fremont JF. 1998. Equipements d'hémodialyse dans le traitement d'épuration extrarénale, elsevier, Paris. le cahier technique, RBM News, suppl 20: p 6.

- 8/ Bouhaker. K, Blanc. E, Troillet. N, Sion. 2002. Prévention des infections en hémodialyse. partie: qualité de l'eau. Swiss-noso, Volume 9 No 2.

- 9/ Abdelaziz.D, Hermelin-Jobet, Martin.P. 2000. Conception d'une installation de production d'eau Pour hémodialyse.

- 10/ Sautou-Mirand V, Gellis C, Dehaese O et al. 2000. Etude comparative de produits désinfectants pour générateurs d'hémodialyse, journal de pharmacie clinique, volume19,

11/ Pharmacopée Européenne 6ème édition de 2008 : monographie de l'eau pour hémodialyse

12/ Monographie de la Pharmacopée Européenne sur L'eau pour Hémodialyse, 7ème Edition de 2011

13/ Barnoux M.C. et Al. Contrôle de l'eau pour hémodialyse : Guide de Méthodologie 1^{ère} édition.1997

14/ Arnow P., Bland L., Garcia-Houchins S., Fridkin S., Fellner S. An outbreak of fatal fluoride intoxication in a long-term hemodialysis unit. *Ann Intern Med.* 1994; 121(5):339

15/ Manzler A., Schreiner A. Copper-induced acute hemolytic anemia. A new complication of hemodialysis. *Ann Intern Med.* 1970; 73(3):409.

16/ Gallery E., Blomfield J., Dixon S. Acute zinc toxicity in haemodialysis. *Br Med J.* 1972; 4(5836):331

17/ Schrooten I. And Al. Increased serum strontium levels in dialysis patients: An epidemiological survey. *Kid int.* 1999; 56(5):1886-92

18/ Yamagami S. And Al. Detection of endotoxin antibody in long-term dialysis patients. *Int J Artif Organs.* 1990; 13(4):205-10.

19/ Laude-Sharp M., Caroff M., Simard L., Pusineri C., Kazatchkine MD., HaeffnerCavaillon N. Induction of IL-1 during hemodialysis: transmembrane passage of intact endotoxins. *Kidney Int.* 1990; 38(6):1089-94.

20/ Squinazi F. Contrôles microbiologiques de l'eau en milieu médicalisé (hormis légionelles). *Biologie médicale.* 2010

21/ Ducki S, Francini N, Blech MF. 2005. Circuit de traitement d'eau pour hémodialyse mais où se cache le Bacille pyocyanique?, Elsevier SAS et Association Société de Néphrologie.

22/ . Ragnon A. L'eau et la santé dans les établissements des soins. 2004.

23/ Guide technique de conception et de mise en oeuvre des réseaux d'eau destinée à la consommation humaine à l'intérieur des bâtiments - Centre scientifique et technique du bâtiment, Ministère de la santé, de la famille et des personnes handicapées, Ministère de

l'équipement, des transports, du logement, du tourisme et de la mer, Centre de Recherche, d'Expertise et de Contrôle des Eaux de Paris, Association générale des hygiénistes et techniciens municipaux - Novembre 2003

24/ - Guide de bonnes pratiques - Désinfection des dispositifs médicaux - Ministère de l'emploi et de la solidarité, Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France, Comité technique national des infections nosocomiales -1998

25/1. ABDULKARIM SHEIBAN, AHMED SALEM, GARBA AL Yemen nephrology-revisited Sand J Kidney Dis Transplant 1998, 9(10)-36-39

26/ Robert R. Qualité de l'eau et entretien des générateurs de la dialyse dans les services de réanimation. Manuel d'épuration extra rénale en réanimation. 2008 :115-123

27/ Frenkian G., Ragon A., Donadey A. Importance de la qualité de l'eau dans le traitement par hémodialyse de l'insuffisance rénale chronique. RBM. 1996; 18(1): 25-8

Annexe A

Historique :

L'Hôpital Mustapha Pacha



Le Centre Hospitalo-universitaire Mustapha Pacha d'Alger (CHUMA) est l'un des plus grands et importants hôpitaux en Algérie. Cet hôpital est l'un des hôpitaux en Algérie qui relèvent du ministère de la Santé et de la Réforme hospitalière.

Plusieurs gouverneurs de la régence d'Alger ont porté le nom et titre de « Mustapha Pacha » ; il s'agit ici de celui qui fut dey de 1798 à 1805, l'hôpital ayant été bâti sur des terrains appartenant à ses descendants, dans la commune alors appelée Moustapha :

« Les jardins font partie d'un vaste ensemble couvrant toute la colline coiffée aujourd'hui par ce bel édifice qu'est le palais du Peuple et qui appartient aux héritiers du dey Mustapha Pacha (1798-1805) ».

Sa création remonte à la période de la colonisation 09 hectares de bâtiments au cœur de la capitale, un véritable monument historique fondé en 1854 par les Français sur une superficie globale de 15 hectares.

Par testament du 19 septembre 1840 un riche colon M. FORTIN d'Ivry avait fait don à la ville d'Alger d'une somme de douze cent mille francs pour la construction d'un hôpital civil à Mustapha. Quatorze années plus tard en 1854 par décision préfectorale, Khérratine, était définitivement abandonnée pour Mustapha et le 1er août à neuf heures au cours d'une bénédiction solennelle, l'évêque d'Alger bénissait les nouvelles installations bien précaires

constituées par des baraquements militaires auxquels on a fait toilette en les dotant d'aménagements Approximatifs enfin l'hôpital Mustapha est né.

Une année après en 1855 plus exactement le 21 mai les médecins civils ont ouvert les cours aux étudiants à l'hôpital Mustapha qui affirma sa double vocation d'hôpital faculté disposant de grands services d'enseignements mais ce n'est que le 18 janvier 1859 qu'a eu lieu l'inauguration officielle des cours de médecine dans deux baraques l'une réservée aux hommes, l'autre aux femmes et chacune se divisant à son tour en deux selon qu'il s'agit de médecine ou d'actes chirurgicaux.

En 1877 plus de vingt années après, suite à la croissance démographique et la nécessité de suivre le progrès scientifique d'autres pavillons commencèrent d'être édifier Plan dressé par l'architecte VOINOT pour 14 pavillons.



Entrée l'hopital Mustapha Bacha.

Les deux premières cliniques spécialisées ont été crée simultanément en 1883 la clinique des maladies des enfants et en 1884 la clinique obstétricale. En 1930 le nombre des pavillons a pratiquement doublé d'après le docteur RAYNAUD et a atteint le nombre de 29.

Stoppés par la guerre, les agrandissements, poursuivis dés 1944 n'ont depuis pratiquement pas cessé.

Groupe SAIDA Algérie

Historique :



SAIDAL a été créée en avril 1982 à la suite de la restructuration de la Pharmacie Centrale Algérienne (PCA) et a bénéficié, dans ce cadre, du transfert des usines d'El Harrach, de Dar El Beida et de Gué De Constantine. Il lui a été également transféré en 1988, le complexe « Antibiotiques » de Médéa dont la réalisation venait d'être achevée par la SNIC (Société Nationale des Industries Chimiques).

En 1989 et suite à la mise en œuvre des réformes économiques, SAIDAL devint une entreprise publique économique dotée de l'autonomie de gestion.

En 1993, des changements ont été apportés aux statuts de l'entreprise, lui permettant de participer à toute opération industrielle ou commerciale pouvant se rattacher à l'objet social par voie de création de sociétés nouvelles ou de filiales.

En 1997, la société SAIDAL a mis en œuvre un plan de restructuration qui s'est traduit par sa transformation en groupe industriel regroupant trois filiales (Pharmal, Antibiotical et Biotic).

En 2009, SAIDAL a augmenté sa part dans le capital de SOMEDIAL à hauteur de 59% en 2010, elle a acquis 20% du capital d'IBERAL et sa part dans le capital de TAPHCO est passée de 38.75% à 44.51%.

En 2011, SAIDAL a augmenté sa part dans le capital d'IBERAL à hauteur de 60%.

En 2014, SAIDAL a adopté une nouvelle organisation par la fusion, par voie d'absorption, des filiales ANTIBIOTICAL, PHARMAL et BIOTIC détenues à 100%.

Annexe B

Anatomie des reins :

Une idée reçue persistante veut que les reins soient positionnés dans le bas du dos, puisque c'est cet emplacement que l'on désigne lorsqu'on "a mal aux reins".

C'est un abus de langage : le plus souvent la douleur provient de la colonne vertébrale au niveau lombaire... Les reins sont situés bien au dessus !

Cette confusion montre bien à quel point la méconnaissance de ces organes est grande. Les reins sont localisés dans la partie postérieure de l'abdomen, de part et d'autre de la colonne vertébrale.

Chaque rein mesure environ 11 cm de long, 6 cm de large et a une épaisseur de 3 cm, et est relié à l'artère aorte et à la veine cave inférieure par l'artère et la veine rénale.

Le rein comporte deux régions distinctes, le cortex, où se trouvent les glomérules, et la médullaire, dont l'extrémité se projette dans le calice.

Chaque rein est composé d'environ un million de néphrons, dont le rôle est de filtrer les différentes substances contenues dans le plasma pour ensuite réabsorber ce qui est encore utile en laissant les déchets s'éliminer par l'urine.

Chaque néphron comporte un glomérule et un tubule.

Un glomérule est un réseau de petits vaisseaux sanguins, les capillaires, entourés d'une structure appelée capsule glomérulaire, qui sert de filtre.

Le filtrat est ensuite drainé dans le tubule. La concentration du filtrat se modifie durant son passage dans le tubule, pour finalement former l'urine. L'urine sort du tube collecteur et s'écoule dans les calices, le bassinet puis l'uretère. L'urine est donc générée par les reins, elle transite dans l'uretère pour atteindre la vessie où elle est stockée puis éliminée lors d'une miction via l'urètre.

Rôle principal et fonctionnement des reins :

La principale fonction des reins, fonction vitale, est la formation et l'excrétion de l'urine. Tout le sang qui traverse les reins à chaque battement de cœur est filtré à travers les parois de minuscules petits vaisseaux en pelotons, les glomérules, qui se comportent comme un tamis avec de microscopiques trous. L'eau, le sel, le potassium, l'urée la créatinine et toute

sorte de molécules de petite taille passent par ces trous, tandis que les plus grosses molécules comme les protéines du sang et les globules ne passent pas. Ensuite, ce sang filtré, appelé urine primitive, circule dans de minuscules petits tubes qui se rejoignent en tubes de plus grande taille jusqu'à la sortie du rein dans l'uretère puis dans la vessie. Tout le long de son trajet, dans ces petits tubules, la composition de l'urine est contrôlée et modifiée par le rein qui est capable de réabsorber ce qui est utile à l'organisme et de laisser sortir par l'urine ce qui est en trop. Cette action des reins, en réalité très complexe, permet à notre organisme de garder une composition constante en eau, en sel, en potassium, en bicarbonates etc. Cette composition constante est indispensable à la vie. Ainsi les reins sont-ils plus que des filtres mais ils sont des contrôleurs et des régulateurs de la composition de notre corps, des « filtres intelligents », comme on dit parfois.

Deux exemples simples pour mieux comprendre : si vous buvez rapidement un demi-litre d'eau sans avoir particulièrement soif ou chaud, dans les 2 heures qui suivent, votre vessie va être pleine et vous allez uriner : vos reins ont éliminé l'eau qui n'était pas nécessaire à votre corps. A l'inverse, s'il fait très chaud, vous transpirez et votre corps perd ainsi de l'eau. Si vous ne buvez pas, votre quantité d'urine va devenir très faible avec des urines jaune foncé : Vos reins ont concentré vos urines pour garder toute l'eau possible dans votre corps et éviter une déshydratation.

Mais cette fonction essentielle de filtration et de contrôle n'est pas la seule. Les reins sécrètent également des hormones, c'est à dire des substances chimiques qui vont aller dans la circulation sanguine et agir plus loin dans l'organisme. Les principales sont l'érythropoïétine, la rénine et la vitamine D. L'érythropoïétine ou EPO est synthétisée par les reins et va agir dans la moelle osseuse où elle a un rôle important dans la fabrication des globules rouges. La rénine également fabriquée par les reins est une hormone qui a un rôle très important dans le contrôle de la tension artérielle. La vitamine D ou vitamine antirachitique n'est pas synthétisée par les reins mais c'est à leur niveau qu'elle est transformée en une autre forme chimique qui lui permet de devenir active et de remplir ses nombreuses fonctions en particulier au niveau des os.

La dialyse, qu'elle que soit la technique utilisée, assure l'épuration de l'organisme à la place du rein, mais ne remplace pas ses autres fonctions. Seule la transplantation rénale est capable de remplacer toutes les fonctions du rein.

Quand faut-il débiter les hémodialyses ? :

Les reins sont des organes indispensables à la vie mais ce n'est que lorsque la fonction des

deux reins est très diminuée, inférieure à 5% de la normale, que les épurations extra rénales deviennent indispensables. Avant ce stade, même avec des reins malades, un régime alimentaire bien calculé et des médicaments permettent de vivre sans dialyse. Avec un seul rein, l'organisme est normalement épuré. Les deux reins sont toujours atteints lorsqu'il existe une mauvaise épuration. C'est dans ces cas qu'on parle d'insuffisance rénale. Lorsque la filtration des reins diminue, de nombreuses substances normalement éliminées dans les urines s'accumulent dans le sang. On utilise le taux de créatinine pour évaluer l'insuffisance rénale : plus le chiffre est élevé, plus la filtration est diminuée donc plus l'insuffisance rénale est sévère. Le taux urée est moins utilisé car il dépend beaucoup de l'alimentation et est moins précis. De façon simple, il est raisonnable de débiter des dialyses, lorsque la créatinine dépasse 700 à 800 $\mu\text{mol/l}$ chez les grands enfants et 400 à 600 $\mu\text{mol/l}$ chez les plus jeunes. Mais cela peut varier selon les situations. Il faut savoir, d'autre part, que chez les enfants présentant une insuffisance rénale sévère, justifiant le recours à la dialyse, certains continuent à faire pipi de façon abondante, alors que d'autres n'ont plus ou presque plus d'urines.

Sodocalcique :

Le verre SODOCALCIQUE est composé de seulement 70 % de silice. On le retrouve dans la plupart des fabrications industrielles de verres à usage alimentaire : bouteilles, pots ou bocaux, verres à boire mais aussi sous la forme de verre plat pour le vitrage industriel : double vitrage, vitrage feuilleté ou trempé.

Pyrogène :

Pyrogène est le caractère d'une chose qui produit de la chaleur. En médecine on parle d'une substance pyrogène lorsqu'elle a des conséquences hyperthermique elle fait augmenter la température du Corp.

Myalgie :

la douleur musculaire ou myalgie est une souffrance d'intensité variable ressentie au niveau des muscles

Leucopénie :

une leucopénie est une baisse des nombres de leucocytes totaux (c'est à dire de globules blancs) dans le sang (moins de 4000 éléments/mm³ ou 4 milliard dans 1 litre)

Para film : photo

LAL : photo

Néphrologie :

La néphrologie est la spécialité médicale visant à prévenir, diagnostiquer et soigner les maladies des reins. Elle est différente de l'urologie spécialité chirurgicale s'intéressent à l'appareil génital masculin et à l'ensemble du système urinaire (reins, urètre, vessie, prostate)

Néphron :

Il permet la formation d'urine, chacune des structures microscopiques, véritables petits reins en miniature, possédant une fonction de filtration, et constituant l'unité anatomique d'un rein qui n'est pas une simple éponge, mais possède une structure complexe, constituée par la juxtaposition de ces millions de petits reins en miniature.

Les néphrons, dont le nombre est supérieur au million pour un rein, comportent chacun un petit tube appelé le tube urinifère. Autour de lui s'organise un réseau de capillaires (vaisseaux microscopiques) au niveau desquels les échanges entre le sang et l'urine se font. La première partie du néphron est constituée par une structure appelée le **glomérule** ou encore **corpuscule de Bowman** qui est l'élément initial du néphron.

La chromatographie en phase gazeuse :

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est, comme toutes les techniques de chromatographie, une technique qui permet de séparer des molécules d'un mélange éventuellement très complexe de nature très diverses.

Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Elle est de plus en plus utilisée dans les principaux domaines de la chimie, mais aussi en parfumerie ou en œnologie.

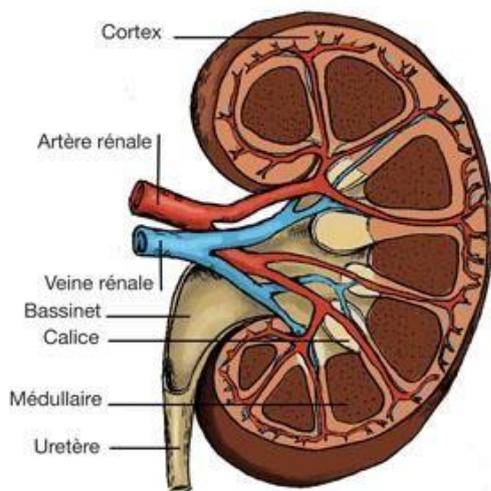
Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur (ou gaz vecteur).

Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules.

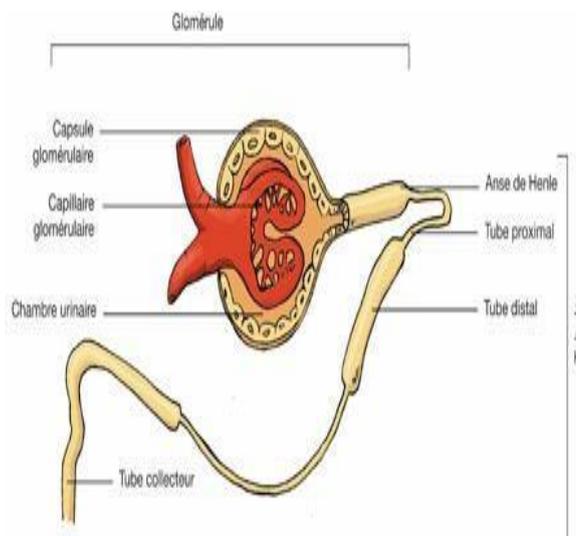
PVC Polychlorure de vinyle :

Le poly(chlorure de vinyle), connu sous le sigle PVC (sigle venant de l'appellation anglaise polyvinyl chloride), est un polymère thermoplastique de grande consommation, amorphe ou faiblement cristallin, principal représentant de la famille chloropolymères. Il est préparé à partir de deux matières premières : à 57 % de sel de mer (NaCl) et à 43 % de pétrole ; c'est la seule matière plastique constituée par plus de 50 % de matière première d'origine minérale¹¹.

Le PVC rigide est surtout utilisé pour la fabrication de profilés et tubes par extrusion. Le PVC souple (ou PVC plastifié) sert par exemple dans l'industrie des vêtements et des tapisseries.



Composition du rein



Dessin détaillé du Glomérule.



Citernes de stockage « unit2 de traitement Mustapha Pacha »



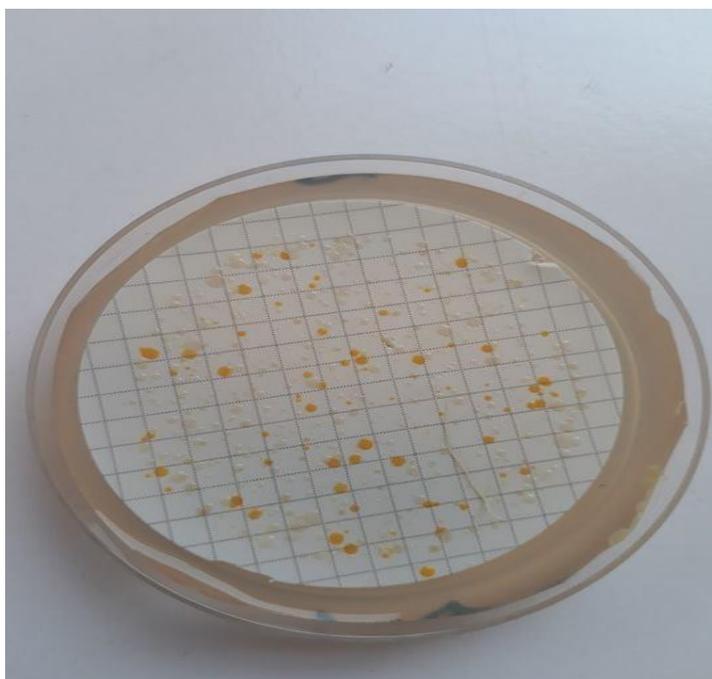
Adoucisseurs duplex « unité de traitement Mustapha Pacha »



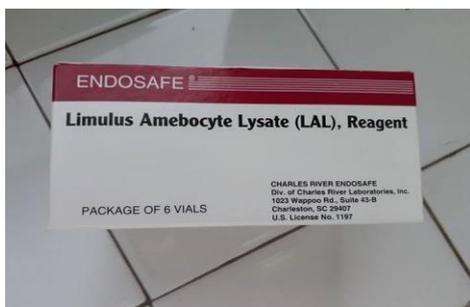
Adoucisseur simplex



Filtre à charbon actif



Formation d'une couche bactérienne (indénombrable)



Limulus Amebocyte de Lysate (LAL)



Parafilm