

# Les opérations pharmaceutiques

---

## I mélange de poudre :

Il faut obtenir un mélange **homogène** ; c'est à dire avoir la même concentration de chaque élément dans un comprimé.

Etapas des mélanges :

- pesée des matières premières
- traitements
- prémélange (notamment pour de très petites quantités)
- mélange

## 1)mécanisme de mélange

### **\*la convection**

- des **groupes** de particules se déplacent les uns par rapport aux autres.
- Elle est utilisée pour des mélanges à **grandes** échelles.

### **\*La diffusion**

- mouvement **individuel** des particules
- mélanges à **petites** échelles

### **\*le cisaillement=glissement**

- c'est une particule qui glisse par rapport aux autres ou un glissement de couche de particules par rapport aux autres.

Dans un mélangeur industriel ces mécanismes **coexistent** dans des proportions plus ou moins importantes.

## 2)démélange=ségrégation

### **\*PERCOLATION**

- c'est le passage de **haut en bas** des particules fines à travers un lit de particules plus grosses.
- elle peut être due à des vibrations lors de la manipulation du produit (vidange, transfert)

Plus les caractéristiques entre deux poudres sont **différentes**, plus le mélange sera **difficile**. On va donc essayer de **rapprocher les granulométries** (tailles des particules).

On broie les grosses particules ou on associe ensemble les petites particules.

Les problèmes de démixage sont dus à :

- la taille
- la densité
- la forme des particules

Les problèmes de démixage ont lieu :

- dans les mélangeurs : si le temps de mélange n'est pas respecté
- lors de la sortie des mélangeurs
- stockage
- transport (vibrations)

### **3) Facteurs influençant le mélange, caractéristiques des poudres à mélanger.**

**\*taille des particules**

**\*densité**

**\*état de surface.**

La géométrie et la surface de la particule vont influencer :

- la solubilité
- l'adhérence :

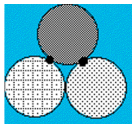
Si on mélange des sphères=> peu de surface de contact=> adhérence faible.

Si on mélange des feuillets => grandes surfaces de contact => adhérence importante.

- la mouillabilité :

C'est la relation entre une poudre, un solide et un liquide.

Ex :eau + papier buvard= mouillabilité maximum.



**\*pourcentage des composés dans le mélange.**

Si vous avez 10 mg de produit à mélanger avec 500kg, ce n'est pas possible. Le mélange ne sera pas homogène. On fait donc un prémélange avec les poudres en faibles quantités.

Ces facteurs sont importants car ils influencent :

- la capacité d'écoulement
- l'uniformité de masse obtenu après compression

## **II. La granulation**

**Granulation** = on transforme des poudres difficilement utilisables en agglomérats solides de particules grâce à **l'ajout de solvant**.

Les grains sont :

**-Directement utilisables comme formes pharmaceutiques.**

**-destinés à la fabrication de comprimés :**

Certaines poudres ne sont pas compactables en comprimés, mais si on les transforme préalablement en granules grâce à un solvant, la formation de comprimé devient possible.

La granulation permet :

-d'**augmenter la densité** : création d'espace entre les particules.

-d'avoir un **meilleur écoulement**

-de **favoriser la dissolution** à l'intérieur du tube digestif :

les grains sont reliés entre eux créant des pores ; cela permet au liquide biologique de pénétrer à l'intérieur du comprimé et de l'éclater.

-la **compression en comprimé est facilitée.**

**\*la granulation humide.**

On utilise un **solvant** pour mouiller les particules, on obtient une pâte puis en séchant on sépare les grains.

La croissance des grains est proportionnelle à :

-la **quantité de solvant de mouillage.**

-l'**agitation mécanique.**

La granulation humide comprend trois étapes.

A chacune d'elle correspond un état de l'eau.

- **Nucléation :**

-apparition de nucléi sous l'effet de la répartition du liant et de l'agitation mécanique.

-l'eau qui intervient pour la cohésion est appelée eau **pendulaire.**

-On peut ne mettre que de l'eau ou un mélange eau/alcool. Souvent on rajoute dans l'eau un polymère qui va un peu plus coller les particules entre elles.

- **Transition :**

-phase de croissance contrôlée du grain.

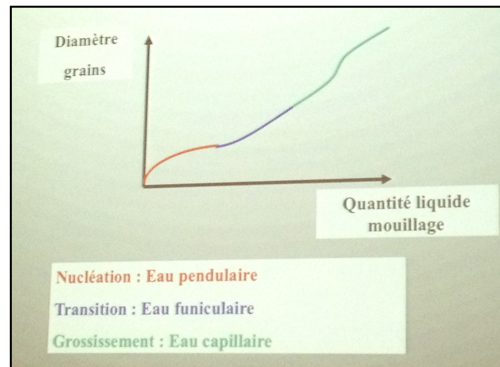
-la courbe est **proportionnelle**

-l'eau est appelée eau **funiculaire.**

- **Grossissement :**

-les grains se collent entre eux pour obtenir le granulé final.

-l'eau intervenant est l'eau **capillaire.**



La granulation humide permet donc :

- homogénéité du principe actif (PA)
- écoulement optimal
- meilleure cohésion des comprimés
- réseau réticulé favorisant la dissolution et donc la biodisponibilité et l'efficacité.

### III. Dissolution.

**Dissolution**= opération consistant à diviser une substance à l'état **moléculaire** au sein d'un liquide.

#### 1) Les facteurs de dissolutions :

##### a) la solubilité :

- Le coefficient de solubilité est le nombre de parties en volume de solvant nécessaire pour dissoudre une partie en poids de la substance.
- Il s'exprime en volume de solvant par rapport au poids de substance.
- Les substances riches en groupements **hydrophiles** se dissolvent dans les solvants **polaires**.
- Les substances riches en groupements **hydrophobes** se dissolvent dans les solvants **apolaires**.

##### b) Facteurs de dissolutions :

###### \* **constante diélectrique $\epsilon$**

-c'est la répartition des charges électriques sur une molécule qui lui permet d'avoir une constante diélectrique plus ou moins élevée. Plus elle est **importante** plus c'est **polaire**.

###### \***la température :**

**EN GENERAL** la solubilité augmente avec la température ;  
 sauf pour certains éléments où la solubilité baisse avec la température :

- le **glycérol phosphate de calcium**
- le **citrate de calcium**
- le **méthylcellulose**

Il faut faire attention aux produits thermosensibles comme la vitamine C qui risquent d'être dégradés lors d'une élévation de la température.

### **\*le PH**

Ce paramètre est important seulement dans le cas de la **dissolution par ionisation**.

La variation de la solubilité en fonction du ph a une influence sur :

- le degré d'ionisation
- la taille des molécules
- les interactions des groupements avec le solvant
- la cristallisation des structures

### **\*Le polymorphisme**

Dans un PA il peut exister des formes :

- amorphes=désorganisées
- cristallines=répétition d'un motif n fois= structurées

**Deux polymorphes diffèrent d'un point de vue physique** mais pas chimique ! Ils peuvent avoir un point de fusion, une solubilité et des propriétés électriques différentes.

En changeant ces caractéristiques physiques on peut modifier l'efficacité du médicament.

Le système **amorphe** est le **moins organisé** et donc le **plus facile à détruire**, c'est le **plus soluble**. **Plus le système est organisé moins il est soluble**.

### **\*formation d'hydrate et de solvate**

-hydrates et solvates peuvent être formés durant la **synthèse** ou le **stockage** de la molécule.

-quand une molécule de **solvant** rentre dans la structure de la molécule on obtient un **solvate**.

-quand quelques molécules d'**eau** rentrent dans la structure de la molécule on obtient un **hydrate**.

-Ce n'est pas de l'eau que l'on peut enlever par évaporation ; on obtient une **nouvelle molécule** avec des caractéristiques différentes.

-**EN GENERAL la forme hydrate est moins soluble que la forme anhydre** car la forme anhydre a tendance à attirer les molécules d'eau.

-**SAUF** :les **corticoïdes** comme la fluorocortisone et la **tétracycline** où la solubilité est augmentée sous forme d'hydrate.

### **\*Adjuvants=ce que l'on met en plus**

La solubilité des produits peut varier en fonctions des adjuvants.

EX :

-Le **salicylate de sodium** et le **benzoate de sodium** favorisent la solubilité de la **caféine**.

-**Tensio actifs** : ils permettent d'optimiser la solubilité d'un PA insoluble dans l'eau. Ils vont s'agréger sous formes de **micelles** et entourer la substance qui n'est pas soluble dans l'eau. On observe une **pseudo solution**, ce n'est pas une véritable dissolution.

**\*modification de la structure apparentée d'une molécule = complexation.**

-la complexation permet de s'adapter ou **s'insérer dans la structure de l'eau**.

EX : **les cyclodextrines**.

Sur le schéma la partie blanche est tournée vers l'eau, au centre on observe une cavité où le PA hydrophobe va se loger, des liaisons vont ensuite se former. On obtient une inclusion, un complexe. Ceci est une **pseudo solution**.



## 2) Optimisation de la solubilité.

**\*Solvant et salification.**

Un produit **non polaire** ne sera **pas soluble dans l'eau** car les constantes diélectriques sont très éloignées. Pour une meilleure solubilisation il faut baisser la constante diélectrique de l'eau, on rajoute de l'alcool par exemple.

Un mélange de solvants de constantes diélectriques différentes va permettre de mieux solubiliser.

La **salification** permet d'**augmenter la solubilité**.

Quand une molécule n'est pas soluble on peut la transformer en sel.

Les sels obtenus ne sont pas tous équivalents au niveau de leur solubilité.

**\*Formation d'eutectique :**

**Eutectique**=mélange solide de 2 substances dont le point de fusion est inférieur au point de fusion des substances isolées.

**\*Solution solide :**

C'est un mélange de solides à **température ambiante** composé d'une **matrice très hydrosoluble inactive du point de vue pharmacologique** et d'une substance peu soluble.

On disperse le PA insoluble à l'état **moléculaire** dans la matrice hydrosoluble.

Au contact des liquides biologiques, la matrice va être dispersée, le PA libéré à l'état moléculaire est absorbé par la muqueuse intestinale.

=>augmentation de la **vitesse de dissolution**

=> augmentation de la **vitesse d'absorption**

=>augmentation de l'**efficacité**.

**\*cas particulier : Les esters.**

**L'estérification diminue la solubilité donc retarde la vitesse de dissolution.**

Lorsque le PA arrive au niveau de l'estomac, pour le protéger des enzymes digestives, on forme un ester . Le PA passe l'estomac et arrive dans l'intestin .

Dans l'intestin les estérases coupent l'ester et activent le PA.  
C'est une **pro-drogue**, elle permet une **libération prolongée**.

### **3) La vitesse de dissolution.**

Loi de Noyes et Hithney :

$$Vd = Ks(Cs - Cy)$$

La vitesse de dissolution Vd est fonction de :

- S**=La surface de contact solide/liquide.
- K**=constante qui dépend de nombreux facteurs ( température, viscosité, diffusion...)
- Cs**=concentration à saturation.
- Ct**= concentration de la solution à l'instant t.

## **IV. Purification eau et solutions : Opérations de séparations.**

Obtention d'eau déminéralisée lors de : +++

- bi permutation
- osmose inverse
- distillation

mais on n'obtient pas d'eau déminéralisée lors de :

- la permutaion simple
- l'osmose
- l'ultra filtration
- filtration

### **1) Filtration .**

-La filtration consiste à séparer au moyen d'un réseau poreux(=filtre) une substance **solide** ou **liquide**, retenue par cette surface, d'une autre substance **liquide** ou **gazeuse** capable de la traverser.

-En pharmaco, on dit que la filtration sépare des compartiments particulières ou des compartiments microbiens.

-Dans la filtration stérilisante, on a un filtre qui retient les bactéries en fonction de leur taille.

-Le liquide résultant de la filtration est appelé **filtrat**.

### \*l'objectif de la filtration :

- purifier, enlever les particules solides(poussières issues de l'air).
- Toutes les formes pharmaco d'eutectiques **liquides** doivent être filtrées avant conditionnement.
- Les médicaments solides ne pourront pas être filtrés.
- On peut aussi faire une filtration pour récupérer le substrat en suspension et non pas pour l'éliminer.

### \*mécanisme de la filtration.

- **Le criblage= tamisage :**

- Le filtre retient les particules dont la taille est **supérieure** à celle des pores du réseau.
- C'est un phénomène **mécanique**.
- Lors du criblage on rencontre un problème de **colmatage** :Les particules les plus grosses bouchent les pores et occasionnent une baisse du débit.
- pour limiter le colmatage il faut prévoir une surface importante de fuite et faire une pré filtration.

- **L'adsorption**

- c'est un phénomène **physique**.
- La taille des particules retenues est **inférieure** à celle du réseau.
- Les particules sont ionisées et vont être retenues par des forces électrostatiques.
- L'adsorption est influencée par le débit : si le débit est trop fort ,les particules n'auront pas le temps de créer de liaisons.
- Une variation de pression peut entraîner une désorption (=les particules se décrochent)
- Si la pression ou le débit est trop important le filtre peut casser.
- Il y a souvent une compétition entre les particules adsorbables.

- **L'effet d'inertie**

- On observe une rétention géométrique due à la forme du filtre : les particules sont retenues au niveau des coins du réseau.
- Pour éviter que les particules aillent dans les coins, on augmente la pression et le débit.

### \*Les caractéristiques du réseau filtrant

- **La porosité**

- la porosité est le diamètre des canalicules ou pores.

- **Le débit**

-le débit s'exprime en ml/min il est fonction de :

-**N**=nombre de canalicules.

-**ΔP**= différence de pression entre l'entrée et la sortie du filtre.

-**R**=rayon des canaux.

-**μ**=viscosité en mPa (millipascal x seconde )

-**L** =longueur canalicules/épaisseur.

$$D = \frac{\Delta P(Nr^4)}{8\mu L}$$

**\*Contrôle de la qualité de la filtration.**

- **Pendant la filtration.**

-**mesure du débit** : Si il est constant c'est bon. Si il augmente ou diminue =>problème.

- **mesure de la pression** en amont et en aval du filtre.

-Brusque variation du débit => altération du filtre ( déchirure)

- **Après la filtration.**

-**Point de bulle** : Vous filtrez un liquide en mettant de la pression. Comme vous mettez de la pression sous forme d'air comprimé, vous formez de petites bulles constituant un train de bulle. Si il est régulier, le filtre marche bien. Si les bulles sont irrégulières il y a un problème dans le filtre.

- **Absence de particule en suspension** : vérifiée visuellement ou au microscope.

-On vérifie la **non adsorption du PA sur le filtre.**

-**impuretés solubles apportées par le filtre.** (très rare)

## **2 ) Permutation.**

### **a. Permutation simple :**

-Les **zéolithes** sont des minéraux qui permettent des échanges entre **sodium** et **calcium**.

- On obtient une **permutation simple**.

- L'échange ionique permet de capter des ions **Ca** et de relarguer du **sodium**, on **adoucit** l'eau et on **évite l'entartrage**.

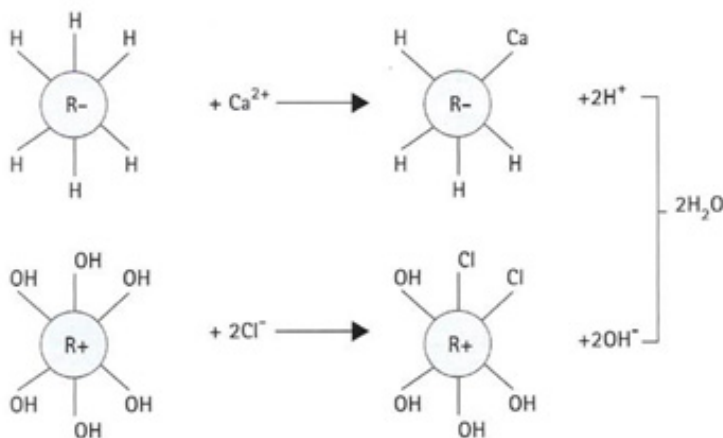
-utiliser pour les **bioréacteurs** et le **nettoyage**

### b. Bipermutation :

- Dans le cadre des opérations pharmaceutiques on utilise des **zéolithes synthétiques = permutites = résines échangeuses d'ions.**
- On obtient une **bi permutation**
- Dans les résines anioniques, il y a des protons  $H^+$  qui vont être libérés et échangés contre des cations. Tous les ions positifs vont être captés par la résine.
- Dans les permutites cationiques : on a un groupement hydroxyle ( $OH^-$ ) qui va être échangé contre des anions

**La permutation simple ne permet pas d'obtenir de l'eau déminéralisée contrairement à la bi permutation.**

**Pb :** Les résines sont des nids à microbes, il faut régulièrement les désinfecter.

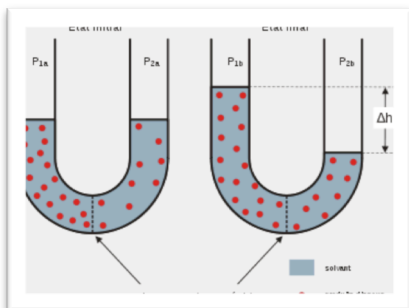


### 3 ) Osmose inverse

#### Osmose simple :

Phénomène naturel lié à une **membrane héli perméable** séparant deux solutés. La membrane est perméable au solvant mais peu ou pas aux éléments dissous. C'est un phénomène de pression qui va pousser le solvant à quitter le soluté le moins concentré pour aller diluer le soluté le plus concentré. Grace aux mouvements d'eau, on modifie la concentration des solutions mais **on ne déminéralise pas l'eau.**

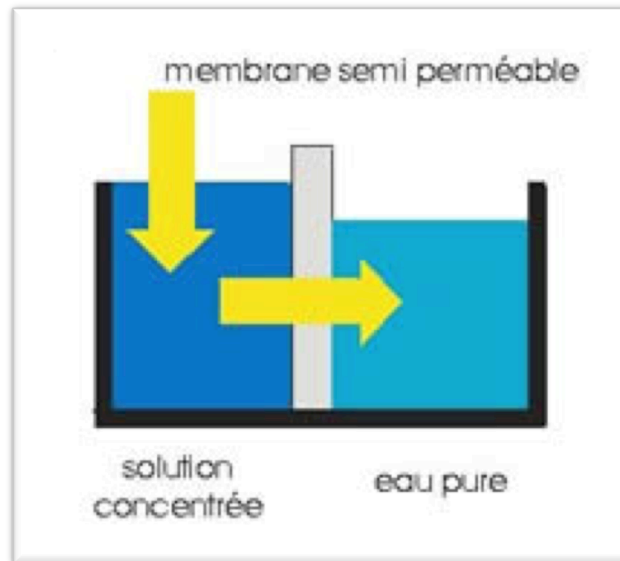
#### Osmose inverse :



On prend une solution d'eau pure et la solution à déminéraliser.  
On pousse sur l'eau concentrée, on fait partir l'eau minéralisée vers le côté eau pure. On observe une augmentation de la concentration de l'eau minéralisée.

**Avantage de l'osmose inverse :**

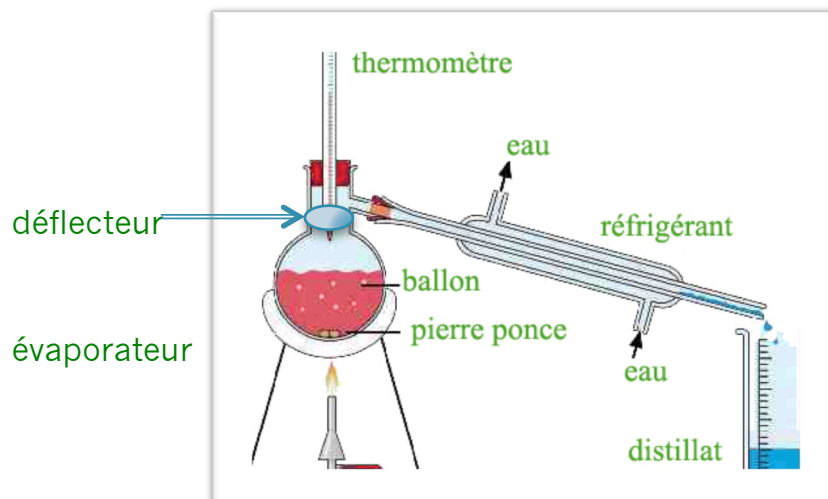
- déminéralisation
- pas de particules
- rinçage des flacons pour injections avant d'introduire des médicaments stériles.
- On peut stériliser cette eau et la rendre apyrogène.



**4) Distillation**

On chauffe, l'eau s'évapore dans l'évaporateur, puis on refroidit les vapeurs qui sont concentrées et que l'on récolte (=distillat).  
Un déflecteur permet de retenir les substances qui ne doivent pas passer dans la vapeur.

**L'eau distillée est la seule eau utilisée pour la préparation de solutions injectables.**



## Précautions :

-Quand on chauffe les ions calciums contenus dans l'eau peuvent **entartre** le système=>l'eau doit être traitée au préalable.

-phénomène de **primage** : Substances non volatiles qui peuvent être entraînées par la vapeur obtenue par distillation lors d'un chauffage. Il peut y avoir des petites gouttelettes de liquide non distillé qui peuvent être véhiculées par la vapeur et venir polluer le distillat.

Pour éviter le primage on règle l'ébullition.

Le primage peut être dû à des poches d'air => on met un gaz inerte ou de l'air au fond du récipient pour chasser les poches. On peut aussi utiliser un obstacle comme un anneau de verre ou un déflecteur en métal qui arrête les gouttelettes lors de l'ébullition.

-présence d'**impuretés volatiles** :  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{O}_2$

Celles-ci existent déjà dans l'eau ou sont apportées par l'atmosphère.

Pb :- si  $\text{CO}_2$  dans l'eau => formation de  $\text{CO}_2\text{H}$  => acidification du pH de l'eau => modification des caractéristiques.

-Plus il y a d' $\text{O}_2$  dans l'eau plus vous avez la possibilité d'oxyder le médicament. Si on a un médicament très sensible à l'oxydation, on va faire un barbotage à l'azote.

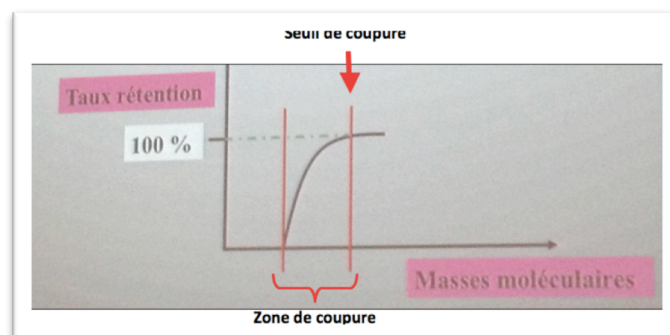
-Pour éviter la présence de gaz on élimine la fraction de tête. Quand vous distillez, les premières vapeurs qui se vaporisent vont contenir le  $\text{CO}_2$  et le  $\text{NH}_3$ , on élimine donc les premiers ml.

## 5) Ultrafiltration.

C'est une méthode de **filtration sous pression**, on sépare les molécules dissoutes dans l'eau en fonction de leurs tailles et de leurs poids moléculaires. On utilise des **membranes à perméabilité sélective** ce sont des ultra-filtres. Un ultra-filtre est caractérisé par sa zone de coupure et son seuil de coupure.

-**Zone de coupure** : elle délimite la gamme des masses moléculaires retenues partiellement.

-**seuil de coupure** : C'est la plus petite taille de molécule retenue à 100%, à partir de cette taille de particules, toutes les molécules sont retenues dans le filtre.



### **Caractéristiques :**

#### **-pas d'élimination des sels minéraux**

-retient les molécules organiques à partir d'une certaine taille comme les substances pyrogènes (débris de bactérie), particules non dissoutes, microorganismes et virus.

-Il faut faire une **pré filtration** pour éviter le **colmatage**.

## **V. La dessiccation**

La **dessiccation** est une opération de **séchage**, elle a pour but d'éliminer un corps volatile contenu dans un autre corps non volatile. Le plus souvent on va vouloir récupérer le solvant.

### **3 états de l'eau :**

**-eau de cristallisation ou de structure** : Elle est liée chimiquement à la molécule et elle est **difficile à éliminer** sans dénaturer la molécule.

**-eau d'adsorption** : Lorsque l'on met une substance dans l'atmosphère, elle en pompe l'humidité. Cette connaissance de l'eau d'adsorption permet de donner les conditions optimales de dessiccation.

**-eau libre** : elle imprègne la substance à sécher, c'est celle qu'on va **éliminer en premier**.

On sèche avec de l'air chaud ou froid=lyophilisation.

### **1) Dessiccation par air chaud**

Au départ la dessiccation pourrait se faire à l'air libre. C'est utilisé pour les plantes, on les laisse sécher. Il faut un endroit aéré pour que l'air soit renouvelé. Le problème c'est qu'il y aura une humidité relative dans l'air et cela risque de dégrader certains produits. De même d'autres substances peuvent venir polluer le produit.

**-Séchage par convection** : Les calories sont mobiles, l'air se déplace et sèche.

**-Séchage par conduction** : Les calories sont immobiles  
(ex : le plateau chaud dans le four qui va chauffer la viande)

On peut utiliser :

-des **étuves avec des plateaux** recevant les produits à sécher. Dans ces étuves on a de l'air chaud brassé qui se charge en humidité (convection). C'est utilisé pour la dessiccation de poudres et de comprimés.

-des **séchoirs à lit d'air fluidisé** : C'est un récipient perforé où l'air passe de bas en haut et sèche la poudre en suspension.

## 2) Nébulisation

- La nébulisation est très utilisée en **industrie**.
- On a une **solution** (soluté dissous) ou une **suspension** (dispersion d'un soluble dans un liquide, le soluble n'étant pas miscible au solvant). Le but est de la sécher pour éliminer le solvant et récupérer le soluble.
- La solution ou suspension est dispersée sous forme de gouttelettes dans un courant d'air chaud ; il y a transformation **instantanée** en poudre.
- C'est un procédé qui augmente considérablement la surface de contact entre l'air et le produit (nombreuse gouttelettes).
- On obtient un nébulisa.
- La température de l'air de dessiccation est de **150°**. La dessiccation est faite en une fraction de secondes. Le nébulisa à une température de **60°**.
- La nébulisation permet de traiter des produits **thermosensibles** car l'opération est très rapide, le PA n'a pas le temps d'être dégradé.
- On obtient des **globules poreux**, donc **dissolution accélérée**. Le fait d'être complètement anhydre rend la matière plus avide d'attirer l'eau.
- Les phénomènes d'**oxydation** liés à la température sont **peu importants**. Dans certain cas, si on a vraiment des produits très sensibles à l'oxydation, on peut remplacer l'air par des gaz inertes.

### Facteurs influençant la nébulisation :

- Le **système de dispersion** : plus la taille des gouttelettes sera faible, plus la poudre sera fine. La taille des particules est liée au système de dispersion du système.
- La **concentration** du PA dans le liquide : Une concentration faible facilite le séchage.
- Les **tensio actifs** : ils baissent la tension entre deux interfaces, donc réduisent la taille des particules.
- La **température de l'air** : elle est de 150°

### Intérêt de la nébulisation :

- facile à remettre en solution**, la poudre se disperse facilement.
- intéressant pour les produits **thermo sensibles**
- intéressante pour les substances **sensible à l'oxygénation, à l'hydrolyse**.

## 3) Le séchage sous vide

Le séchage sous vide permet de **baissier le point d'ébullition** des liquides. Ces séchoirs sont donc intéressants pour des **produits fragiles**.

On a différents types d'appareillage :

- des armoires vides ou on chauffe les plateaux par conduction
- des rayons IR
- des appareils de séchages rotatifs cylindriques qui en tournant va renouveler la matière, l'air chaud va sécher.

#### 4) Vitesse d'évaporation

$$V = \frac{KS (F - f)}{P}$$

Elle dépend de :

-La constante **K** qui dépend de la nature physico chimique du matériel à sécher.

-**S = surface à sécher**

-**P = la pression**

-**F = tension de vapeur** saturante à température donnée. Quand on évapore un matériau, il faut une certaine force pour que l'eau se détache du produit et s'évapore. Plus vous augmentez la température, plus F augmente, plus vous augmentez la vitesse d'évaporation.

- **f = pression partielle de vapeur** niveau air ambiant. D'après la formule, pour augmenter la vitesse, il faut baisser f. Quand vous voulez évaporer l'eau, à la surface de votre produit vous avez de la vapeur qui est formée et elle reste là. Elle va exercer une pression sur le produit, et elle va empêcher l'eau qui reste dans le produit de continuer à s'évaporer. Donc pour diminuer f, on va ventiler afin d'éliminer cette vapeur.

#### 5) Lyophilisation= cryodessication.

La lyophilisation est une méthode de dessiccation **sous vide à basse température.**

Le produit lyophilisé est appelé lyophilisat. Le lyophilisat aura une forte affinité pour le solvant et se dissoudra très facilement.

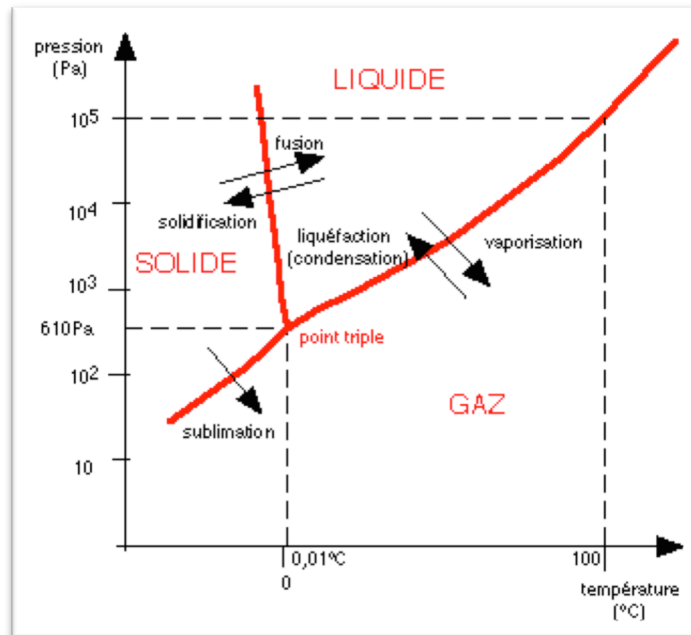
Principe :

1. **congélation**

2. **sublimation** (solide => gaz)

C'est un mécanisme rapide, et on n'a pas le temps d'avoir un phénomène d'hydrolyse qui pourrait dégrader le produit.

## Diagramme du point triple de l'eau :



Le point triple est la frontière entre les états solide, liquide et gazeux. Il est situé à pression et à température très basse : **6 mmbars** et **0°C**

On a 2 enceintes :

- **L'évaporateur :**
  - on y met le produit à lyophiliser.
  - La congélation et l'évaporation ont lieu dans l'évaporateur.
  - La température de congélation est de 40°C
  - A cette température, la sublimation se réalise à une pression  $<$  ou  $=$  à 0,1 mmHg (pompe à vide, la pression est quasi nulle)
- Le **condenseur** permet de recueillir la vapeur d'eau. On la piège pour ensuite l'éliminer.
  - La température et la tension vapeur sont inférieures à celles de l'évaporateur.
  - La pression partielle ( $f$ ) des molécules d'eau dans l'atmosphère environnante est inférieure à la tension vapeur de la glace sur le produit.
  - Si  $F=f$  la vitesse d'évaporation est nulle. Il faut que  $f < F$  pour que la vitesse d'évaporation soit non nulle. C'est ce déséquilibre de température et de pression qui permet le déplacement de la vapeur de l'évaporateur vers le condenseur.
  - Comme la température est plus basse dans le condenseur que dans l'évaporateur, la vapeur se congèle dans le condenseur au contact des parois. Congélation  $\Rightarrow$  sublimation  $\Rightarrow$  condensation

## 6 ) Etapes de la lyophilisation

### 1) La congélation :

La transformation de l'eau en glace entraîne une **expansion de volume importante** qui risque de **léser les tissus** à congeler. En effet, les cellules sont constituées à 80% d'eau.

Quand on congèle on cristallise. Les cristaux formés vont grossir de plus en plus; c'est ce qui induit une expansion de volume.

pour limiter les phénomènes d'altération:

- La **vitesse de congélation doit être très rapide:**

En effet ,plus elle est rapide et plus les cristaux sont petits.

Une congélation lente initie des centres de cristallisation qui vont grossir au fur et à mesure. Les centres de cristallisations sont formés, on a donc une expansion même si on accélère la congélation après.

- Les **sels** dans les tissus peuvent **diminuer la T° de congélation:**

Comme la température de congélation du sel est basse, si on a des tissus avec du sel, cela diminue la T° de congélation.

- Présence d'**eutectiques**: la T° de congélation varie.

Selon la cellule, la T°C de congélation va différer puisqu'on va avoir une composition en produits différente. On utilise une T° inférieure aux différents eutectiques du tissu pour la congélation.

Pour congeler plus rapidement (et donc avoir des cristaux plus petits) on utilise de la **neige carbonique (-80°)** et de l'**azote liquide ++ (-196°C)**.

### 2) La sublimation

La sublimation est une réaction **endothermique:**

on a une absorption très importante de calories

Cette absorption des calories induit un **refroidissement** au niveau de l'évaporateur cela induit un **ralentissement de la réaction**.

Il faut donc **maintenir la température de -40°C au niveau de l'évaporateur** via un petit chauffage.

A la fin de la réaction, le produit à lyophiliser est plus concentré .

Cette concentration plus importante des sels dans l'eau fait baisser la température de congélation.

Il est donc **plus difficile à la fin de la réaction, de sublimer les dernières fractions**.

Pour avoir une bonne lyophilisation, il est nécessaire, à la fin de la réaction, de faire un **vide poussé** et de **chauffer** légèrement le produit à lyophiliser.

### 3) La condensation

C'est le contraire, on a de la vapeur transformée en glace.

C'est un **phénomène exothermique**.

On maintient la T° pour piéger l'eau sur le condenseur et l'éliminer.

La surface de congélation ( surface accueillant la vapeur) doit être la plus importante possible pour piéger.

La surface de glace, si elle est trop épaisse, réduit les échanges thermiques.

### 7 ) Conditions pour une bonne lyophilisation

- Source de **vide**: une pression la plus proche de 0 possible
- **Bon paramétrage de la T° et de la P°**
- Un **cycle complet** dure longtemps : 24-48h
- Des **appareils de contrôle** suivent les cycles de congélation: température, pression, durée
- **Lyophilisation directement dans l'emballage**

## Opérations de Stérilisation

### I. Généralités

#### 1) introduction :

-La stérilisation a pour but de **priver un objet ou un produit des microorganismes** qui les souillent (éliminer les microbes).

-Il n'y a pas de méthode globale de stérilisation, la **méthode est la plus adaptée au produit**.

-On réalise la **stérilisation à l'intérieur du conditionnement** si on le peut .

-**L'efficacité de la stérilisation dépend du degré initial de contamination microbienne**: selon une loi de décroissance logarithmique,

-Tout cela est fait spécifiquement dans une **zone d'atmosphère contrôlée**

-On peut **associer différentes techniques** de stérilisation si une ne suffit pas

Il y a différentes méthodes de stérilisation :

- Par chaleur humide
- Par chaleur sèche
- Par gaz alkylants: stérilisation chimique avec formaldéhyde, formol ou l'oxyde d'éthylène
- Par irradiations: rayons gamma ou bêta
- Par filtration stérilisante: application de la filtration
- Gaz plasma

## **2) Les témoins de la stérilisation**

Ils permettent de vérifier si la stérilisation a été efficace. Il y a des témoins physico-chimiques et des témoins biologiques

### **a) Témoins physico-chimiques**

- Témoins pour la stérilisation par chaleur humide:
  - **Acide benzoïque**
  - **Bandes thermosensibles:** changement de couleur au contact avec la vapeur. En effet c'est la **vapeur d'eau** qui va jouer le rôle de stérilisant.
- Témoins pour la stérilisation par chaleur sèche:
  - **Bandes thermosensibles:** changement de couleur au **point de fusion** 180°C (c'est l'air chaud qui stérilise).
- Témoins de la stérilisation par rayonnement:
  - **Pastilles PVC** (chlorure de polyvinyle): quand on irradie le PVC le chlore se lie à de l'hydrogène pour former de l'HCL, le **pH** change.
- Témoins de stérilisation par plasma: le plasma c'est un autre état de la matière. On a un changement de **couleur** quand le gaz plasma est formé. La matière utilisée c'est le **peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** (eau oxygénée) sous forme de gaz.

### **b) Témoins biologiques**

Les indicateurs permettent de **vérifier la réduction de 6 logarithmes** de cette population après traitement stérilisant.

Ça veut dire qu'on a **1 million (10<sup>6</sup>) de germes au début**, et qu'à la **fin, il ne reste un seul germe** vivant au maximum (on a une décroissance de 6 log).

**La réduction de 6Log est une assurance stérilité.**

Donc si le matériel à stériliser est très contaminé à la fin de la stérilisation il restera des microorganismes. Il est donc important de connaître le **degré de contamination initiale (la contamination initiale doit être la plus faible possible)**.

#### **Germes utilisés comme témoins biologiques de la stérilisation: +++**

- **Chaleur sèche:** *Bacillus subtilus*
- **Chaleur humide:** *Bacillus stéarothermophilus* (penser à la température)
- **Oxyde d'éthylène:** *Bacillus subtilus* variété (var.) *niger*
- **Rayonnement:** *Bacillus pumilus*.

On a donc un témoin de stérilisation pour chaque méthode. Dans l'appareil on a une petite enceinte où l'on met les germes confinés. On déclenche la stérilisation. On sait combien il y avait de germe au début, on analyse les analyse à la fin: s'il n'y a plus de germes c'est que la stérilisation a fonctionné.

### **3) Stérilisation par la chaleur**

C'est la **méthode de choix** si le produit la supporte, c'est la plus efficace.

La sensibilité des microorganismes à la chaleur dépend:

#### **a) de l'espèce microbienne**

On apprécie la méthode par l'utilisation **d'espèces très résistantes à la température**. Les témoins biologiques sont les microorganismes les plus résistants. S'ils sont éliminés, tous les microorganismes le sont.

Les témoins sont des **spores** de l'espèce considérée, car ils sont plus résistants

#### **b) de la forme: végétative ou sporulée**

- **végétative:** bactéries normales
- **sporulée:** lorsque le milieu devient malsain pour la bactérie, elle s'**encapsule**. C'est un moyen de résistance.

#### **c) de la T°**

#### **d) du milieu de développement des germes**

#### **e) de la durée du traitement et du nombre de germes avant traitement** **N<sub>0</sub>**

La durée du traitement et le nombre de germes suit une loi de décroissance logarithmique en fonction du temps, à une température constante. Le nombre de germes survivants est fonction inverse de la durée de traitement.

Loi de décroissance:  **$\text{Log}N/N_0 = -kt$**

## II. Stérilisation à chaleur humide

- **Efficacité:** méthode qu'il faut prendre dès qu'on peut le faire pour stériliser des médicaments
- **Innocuité** du procédé: la vapeur d'eau ce n'est pas toxique
- T° assez basses: **120-140°C**
- Maîtrise des **moyens de contrôle:** on sait mesurer la température et le temps pour une bonne stérilisation. On a des témoins qui nous montrent s'il y a eu destruction de toutes la bactéries ou non.

### Précautions:

- Il faut faire attention à la **qualité de l'eau** (ni impuretés ni entartrage). C'est en effet la vapeur d'eau qui a un effet stérilisant.
- **Il faut assurer aussi une qualité de la vapeur:** le système doit être purgé pour éviter les poches d'air qui conduit mal la chaleur.
- **Titre de vapeur saturée:** il faut que toute l'eau contenue dans le stérilisateur soit changée en vapeur pour avoir une stérilisation optimale. Le titre de vapeur saturé doit être de 99% (poids vapeur/poids d'eau liquide)
  - 99% de l'eau liquide doit être sous forme gazeuse.
- **Pureté chimique de l'eau:** il ne doit pas avoir des traces de graisses ou des particules métalliques qui pourraient s'oxyder.

### Cycle de stérilisation:

On a une phase de vide pour éliminer l'air puis phase de plateau.

Phase de plateau:

- **121°C pendant 15min** (à retenir ++)
- 134°C pendant 10 min

### Avantages :

- facilité d'utilisation du matériel
- innocuité de l'agent stérilisant

### Inconvénients :

- attention aux objets thermo sensibles
- attention aux objets sensibles à l'oxydation

Applications : **médicaments** et matériel médicochirurgical en acier inoxydable, verre, latex..

### III. Stérilisation à chaleur sèche

C'est de la convection: on **chauffe de l'air à pression atmosphérique**.  
→ **180° pendant 30min**.

L'air à une **faible conductivité thermique**, donc le temps pour atteindre la température de stérilisation est plus long qu'avec la chaleur humide.

Donc cette technique ne peut être utilisée pour les médicaments: elle est trop longue, la température est trop élevée.

On l'utilise plutôt pour la stérilisation des **instruments métalliques et des contenants en verre** dans le cadre des procédés de fabrication antiseptique.

**A 220°C on a la dépyrogénéisation**: certaines bactéries présentes sur des flacons peuvent engendrer une augmentation de la température. Le moyen pour détruire ces éléments là sont les **traitements à haute température**.

### IV. Filtration stérilisante

Cette méthode s'applique aux **gaz** (utilisés pour stériliser l'air des locaux) **et aux liquides monophasiques** (solutions micellaires ou solutions vraie).  
Elle est utilisée pour les solutions ayant un principe actif thermolabile

On utilise des **filtres à pores** de diamètre **0,22 micromètres**

Les mécanismes en sont: le **criblage, l'impact inertiel et l'absorption**

#### Le témoin biologique de la filtration → *Pseudomonas diminuta*

L'efficacité de la filtration est confirmée avec une suspension de microorganismes vivants de petite taille.

Vous faites passer un liquide avec des *pseudomonas diminuta*, par le filtre qui a servi à la stérilisation. Ensuite vous ensemencez une boîte de pétri avec le liquide filtré. Si au bout de 24 à 48H on a rien dans la culture, c'est que le *pseudomonas diminuta* a été correctement filtré et donc les autres bactéries aussi.

## V. Stérilisation par gaz alkylants

### 1. Formaldéhyde: formol CHO

Le formaldéhyde stérilise sous forme de monomère. Le formaldéhyde est l'aldéhyde le plus court CHO, c'est un **monomère**.

La pénétration du formaldéhyde dans le produit à stériliser est **lente et faible**.

Ces monomères ont des tendances à **polymériser**. Hors sous forme polymérique, le formaldéhyde est moins efficace.

Le formaldéhyde permet l'**alkylation et la dénaturation** des protéines des microorganismes. Il agit en présence de **vapeur d'eau à température de 50°C**.

Il n'y a **pas de problème de détection de gaz** car les fuites ont une odeur caractéristique dès une faible concentration

Il peut y avoir une corrosion du matériel à stériliser.

C'est irritant pour la peau et les muqueuses respiratoires.

Il est utilisé uniquement pour stériliser les locaux (murs, sols, paillasses).

### 2. Oxyde d'éthylène

C'est un gaz très réactif, inflammable, **explosif entre 3% et 83%**, inodore (danger +++ donc alarmes à gaz).

Pour abaisser le **risque d'explosion**, on le mélange avec un gaz inerte : **N<sub>2</sub> ou du CO<sub>2</sub>**.

Il agit par **alkylation**, agit sur les amines qui composent les bactéries et les protéines.

Il a une **excellente diffusibilité**, et pénètre au sein des **solides poreux**. La réaction nécessite une certaine **humidité** pour fonctionner.

#### Paramètres d'efficacité

1. **Concentration en OE**
2. **Température** supérieure à 37°C
3. **Humidité relative**
4. **Durée** de contact

Avantages	Inconvénients
Bonne diffusibilité.	- <b>Toxicité</b> importante à formation d' <b>éthylène cholrhydrique et éthylène glycol</b>  - <b>Désorption lente</b>  -Seuil olfactif haut

### Application :

- matériels à **usage unique** sensibles à la chaleur: seringues, sondes urinaires etc.
- médicaments si pas d'autres méthodes possibles
- matériel médico-chirurgical

## **VI. Stérilisation par rayonnements ionisants**

Avec les rayonnements ionisants, il y a formation de radicaux libres instables: espèces très réactives car ayant un électron non apparié oxydant les membranes des bactéries pour les tuer.

L'action des rayonnements ionisants dans la stérilisation est **cumulative et proportionnelle à la dose**

**Mécanisme:** quand une bactérie est irradiée, l'eau est scindée en  $\text{OH}^\cdot$  (radical d'hydroxyde) ou en  $\text{O}_2^\cdot$  (radicale superoxyde).

C'est donc les **radicaux libres instables** formés par la **radiolyse de l'eau** qui vont eux même détruire les bactéries.

2 sources de radioéléments utilisés:  $^{60}\text{Co}$  (cobalt) ++ et  $^{137}\text{Cs}$  (césium)

### La dose absorbée dépend de :

- **Activité et configuration** de la source (contenant le radio élément): comment la source est générée.
- **Distance** entre la source et le produit
- **Temps d'exposition et du nombre de passages** devant la source (rotation des éléments devant la source)
- Nature du produit, sa composition, sa densité, son conditionnement
- Rayons gamma car ce sont les plus pénétrants (parfois on utilise les rayons beta).

**L'énergie apportée doit être < 5 MeV** sinon on communique la radioactivité au produit , c'est la **radioactivité induite**.

Témoin biologique: *Bacillus pumilus*

<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Pénétration importante</b> donc dans l'emballage étanche commercialisé</li><li>• Procédé <b>fiable et reproductible</b></li><li>• Stérilisation <b>à froid</b></li><li>• Procédé <b>maîtrisé</b></li></ul>	Attention à la <b>modification des propriétés physico-chimiques</b> des médicaments et des <i>matériaux</i> <b>Changements de couleur voir d'effets, d'odeur, de viscosité..</b>

### Contrôles:

- de la **répartition et de l'intensité** du rayonnement sur le produit
- **dosimètres: variation de la densité optique du plexi-glace proportionnelle à la dose absorbée.**

On met une bande de plexi glace dans l'enceinte de stérilisation. En fonction de la dose d'irradiation, le plexi glace s'assombrit. Donc on le met dans un spectromètre qui mesure l'assombrissement. En fonction de cet assombrissement on a la dose de rayons administrée.

### Applications :

- Médicaments avec radiostérilisation agréée en Europe : Decapeptyl (hormones de croissance), tétracycline (antibiotique), néomycine (pommade ophtalmique).
- Intéressant pour les **antibiotiques** ne pouvant pas être stérilisés par chaleur humide : risque d'hydrolyse.
- **Un sel ou un ester sera moins sensible à la radiolyse que l'acide libre.**
- Médicaments **solides ou en milieu non aqueux** sont **plus stables** aux rayonnements ionisants.
- Eventuellement: matériel médico-chirurgical (spécifique), greffons osseux dans certaines greffe.

## **VII. Stérilisation par gaz plasma**

•Cinq phases: Vide, injection de peroxyde d'oxygène, diffusion du peroxyde d'oxygène, plasma, retour à la pression atmosphérique.

•On utilise de l' $H_2O_2$ , peroxyde d'oxygène. Dans un gaz plasma il y a des molécules à l'état excité: **des atomes d'H et d'O, de l'O dans son état excité et des radicaux OH (hydroxyle).**

•C'est une stérilisation à **basse température** => beaucoup utilisé pour les produits thermo sensibles

•indicateur biologique: *Bacillus circulans*.

•**Le gaz ou le mélange de gaz de peroxyde d'hydrogène n'a pas d'effet sporicide tant qu'il est activé.** La phase plasma est une phase activée, c'est une phase ionisée.

•**La durée de vie des espèces du plasma n'est que de quelques millisecondes.** Il faut donc tout le temps exciter le gaz plasma pour qu'il soit activé.

•La T°C de stérilisation est **inférieure à la stérilisation à l'oxyde d'éthylène**. La **durée** de stérilisation est **inférieure à une stérilisation par chaleur sèche** ou humide. On a la possibilité de traiter **beaucoup d'objets** différents. Il y a une **absence de risques** pour les opérateurs.