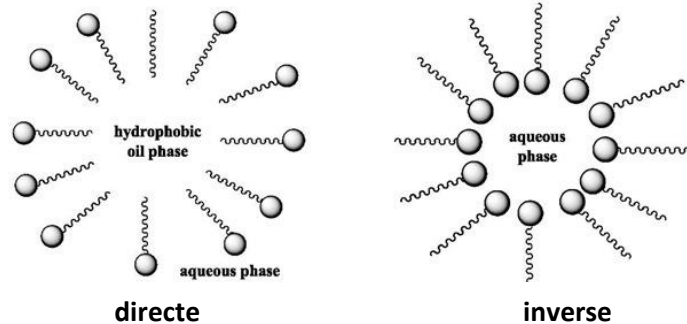


Pr Piccerelle : LES OPERATIONS PHARMACEUTIQUES

I/ DISSOLUTION

= opération consistant à diviser une substance à l'état moléculaire au sein d'un liquide. Elle conduit à une préparation homogène = **une solution**, avec un PA à l'état moléculaire.

Solution colloïdale = les molécules sont associées sous forme de micelles (0,1 à 0,001µm). **Une micelle** = molécule amphiphile (tête polaire et queue apolaire). *La partie centrale permet de récupérer la partie grasse du maquillage solubilisé.*



➔ **Notion de solubilité**

Elle dépend de la nature du corps à dissoudre et du solvant. **Le coefficient de solubilité** = nombre de partie en volume de solvant nécessaire pour dissoudre une partie en poids de la substance.

Solvants polaires	Pour dissoudre des substances riches en groupements hydrophiles
Solvants apolaires	Pour dissoudre des substances riches en solvant hydrophobes

1) Facteurs de dissolution

➔ **Constante diélectrique (ε) :**

Plus elle est importante, plus le solvant est polaire et meilleure sera la solubilité dans l'eau. La propriété fondamentale des liquides polaires est la valeur élevée de leur constante diélectrique.

→ La valeur élevée de la constante diélectrique est due à une importante polarisabilité dipolaire.

Solvant	Constante diélectrique
Eau	78,4
Foramide (non utilisé, toxique)	109

Méthanol	33,6
Ethanol	24

➔ **La Température**

La solubilité varie avec la température. Il existe des lois différentes selon la nature de l'électrolyte (fort, faible ou non électrolyte)

En général la solubilité augmente avec la température sauf :

- Dissolution exothermique
- Gaz (+ soluble à froid)
- Electrolytes selon les formes d'hydratation
- Le Glycérophosphate calcium, le citrate calcium et le méthylcellulose

Le calcium est ainsi – soluble à chaud qu'à froid. Attention aux produits sensibles à la T°

➔ **Le pH**

Paramètre important lors de la **dissolution par ionisation**

Cas des Principe Actifs (P.A Acides) :

- Relation entre solubilité du PA, pH et le pKa du PA
- PA acides comme AINS sont **moins solubles en solutions acides** qu'alcalines car les espèces chimiques **non dissociées prédominantes** ne peuvent avoir les mêmes interactions avec les molécules d'eau que les formes ionisées rapidement hydratées

➔ **Les différentes formes du PA**

Distinction du PA selon sa forme :

crystalline	Structure organisée Certains PA peuvent cristalliser dans plusieurs systèmes cristallins ≠ en fonction de la T°, de la P°, des conditions de conservation et de fabrication → notion de polymorphisme du PA La forme cristalline la moins stable est la plus soluble pour des raisons thermodynamiques
amorphe	Désorganisée Plus soluble qu'à l'état cristallin

Le polymorphisme entre deux composés engendre des différences d'un point de vue physique : **Point de fusion, Solubilité, propriétés optiques et électriques.**

Pour dissoudre une substance, l'eau doit dissocier les molécules liées entre elles.

➔ **Formations d'hydrates et solvates**

Ils se forment pendant la synthèse, la fabrication et le stockage de la forme pharmaceutique.

Durant la cristallisation, l'eau et les molécules de solvant se combinent avec le produit au sein même de sa structure, selon des liaisons +/- stables donnant :

- **Formation d'hydrates** : l'eau devient hydrate au contact du PA
- **Formation de solvates** : le solvant devient solvates au contact du PA

En général, la dissolution aqueuse est + rapide à partir d'une forme anhydre qu'à partir d'une forme hydratée du même PA sauf exceptions ♥ :

- **La fluorocortisone** : solubilité augmentée sous forme d'hydrate
- **Les corticoïdes** en général
- **La tétracycline** (= antibiotique)

Les Adjuvants

La solubilité peut varier en fonction des substances ajoutées :

- Le **salicylate sodium** et le **benzoate sodium** favorisent la dissolution de la caféine.
- **Modification solubilité Ajout de Tensio-Actif** : → obtention d'une **pseudo-solution** avec des micelles (substances hydrophobes non solubles + tensio-actif)
- **Modification structure apparentée** d'une molécule : phénomène de **complexation** pour s'adapter ou s'insérer dans la structure de l'eau

Exemple : EDTA, **cyclodextrines** : ce sont des agents complexants riches en groupements hydrophiles :

Il existe **3 types** de cyclodextrine β , λ et γ . *La forme β est la plus utilisée, tolérée.* Molécule riche en groupements hydroxyles, la molécule peut former des inclusions avec une molécule hôte pour « cacher » le PA dans sa cavité.

*Permettant de modifier la structure apparentée à la molécule qu'elle transporte par le phénomène de **complexation** (augmente artificiellement la solubilité de la molécule complexée) → la cyclodextrine cache le goût amer de l'ibuprofène*

2) Optimisation de la solubilité

Solvants et salification

Utilisation de mélanges de solvants (modifiant polarité, tension interfaciale, dissociation électrolytes) : variation de la constante diélectrique du solvant (*pour les ~~m~~ non polaires*)

Salification : dépend du sel utilisé. *Ex : l'acide carbonique n'est pas très soluble mais si on le salifie (carbonate de calcium) il devient très soluble !*

Exemple de la tétracycline (TTC) :

Solubilité TTC < solubilité Chlorhydrate-TTC < solubilité Phosphate-TTC

Formation d'eutectiques

Eutectique = mélange solide de 2 substances et dont le point de fusion est généralement **inférieur** au point de fusion des substances isolées. Il est obtenu par cristallisation d'un mélange de 2 substances peu ou pas solubles, l'une dans l'autre.

Ex : Lidocaïne /Prilocaine donne la crème EMLA. Ces substances séparées sont solides, mais quand on les mélange dans des conditions contrôlées, le point de fusion général est très inférieur au point de fusion de départ de chacun des composants.

Solution solide (à T°C ambiante)

= fusion et mélange d'une **matrice très hydrosoluble** (inactive pharmacologiquement) et d'une **substance peu soluble**, jusqu'à refroidissement total (= solidification)
Le produit solide est pulvérisé : le PA est à l'état moléculaire.

Au contact de l'eau ou d'un liquide biologique, la matrice se dissout rapidement : libération du PA à l'état moléculaire. (\uparrow vitesse dissolution = \uparrow vitesse absorption dans l'organisme)

Cas particulier : formation d'esters [**alcool + acide \leftrightarrow eau + ester**]

Il y a une modification de la solubilité et de la vitesse de dissolution des PA (en général retardée ++).

On l'utilise pour **retarder la dégradation du PA au niveau gastrique**, par exemple de pro-drug. Inactif en milieu gastrique en raison de son insolubilité ; activé en milieu intestinal par hydrolyse grâce aux estérases libérant le PA

But : retarder ou prolonger l'action de certains PA.

3) Opérations de dissolution

Vitesse de dissolution :

Loi de Noyes et Whitney $Vd = K \cdot S \cdot (Cs - Ct)$

S : surface de contact solide/liquide

Cs : c° à saturation du produit à dissoudre (\uparrow avec la T°)

Ct : concentration en solution à l'instant t

K : constante qui dépend de nombreux facteurs (T°, viscosité, degré d'agitation, diffusion)

Dissolution complète

C'est une **mise en solution** : la dissolution est complète quand 2 phases distinctes en contact n'en donnent plus qu'une.

On obtient un mélange des molécules des deux corps mis en présence, avec **une seule phase** à la fin de l'opération. Pas de résidu à la filtration.

En général, la drogue est divisée sous forme de poudre pour présenter une **+ grande surface de contact** avec le solvant (\nearrow de la vitesse de dissolution).

Dissolution extractive

Extraction par le solvant de certaines parties de la drogue seulement.

Le solvant réalise une **dissolution extractive**.

- Dans la drogue, des substances nécessaires à la vie de plante (sucres, lipides, protéines, sels minéraux, eau, pigments, enzymes)
- Parmi celles-ci, certains seulement utilisées en thérapeutique (principes actifs)
- Dissolution extractive : extraire **1 ou plusieurs PA d'une drogue**. *Exemple opium : morphine (analgésique), codéine (antitussifs), papavérine (vasodilatateur)*

PURIFICATION D'EAU ET SOLUTIONS – OPERATIONS DE SEPARATION :

II/ FILTRATION

➔ Définitions :

Chimique	= séparation au moyen d'un réseau poreux (=filtre), d'une substance solide ou liquide retenue par cette surface d'une autre substance liquide ou gazeuse capable de la traverser.
Pharmaceutique	= opération qui a pour but de séparer les contaminants particuliers ou microbiens d'un liquide ou d'un gaz à l'aide d'un milieu filtrant poreux. Le liquide résultant de la filtration est le filtrat

➔ Objectifs

= **purification d'une solution**, d'un milieu liquide en général, en éliminant toutes les particules solides qu'il renferme :

- Poussières véhiculées par l'air
- Impuretés présentes dans le solvant
- Particules métalliques ou plastiques (parois des mélangeurs)

Toutes les formes pharmaceutiques doivent être filtrées avant conditionnement.

Le **résidu** obtenu, n'est pas là pour éliminer les particules solides en suspension, mais pour les recueillir (précipité) car il contient le PA (phase solide). Le solvant, lui, est purifié (double intérêt).

➔ Mécanisme de rétention

CRIBLAGE OU TAMISAGE	Phénomène mécanique. Le filtre retient les particules avec une <u>taille supérieure</u> de celles des pores du réseau. Il y a une accumulation de particules (phénomène de colmatage : baisse débit, arrêt écoulement du filtrat), pour cela il faut prévoir une grande surface de filtre + préfiltres.
ADSORPTION	Phénomène physique. = rétention à l'intérieur du réseau canaux des particules de <u>taille inférieure</u> à la taille des pores. Dépend de : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Particules ionisées, forces électrostatiques ▪ Débit ▪ Variation de pression (peut entraîner une désorption) ▪ Compétition entre particules absorbables
EFFET D'INERTIE	Les particules sont retenues dans un recoin de la substance poreuse. Influencé par le débit

➔ Caractéristiques du réseau filtrant

Un réseau est défini par sa porosité et son débit.

Porosité	Diamètre des canalicules ou pores
Débit	Approche théorique, loi de Poiseuille : $D = r^4 \frac{N \cdot \Delta P}{8 \eta L}$
	D = débit (ml/min) N = nombre de canalicules ΔP = différence pression (entrée, sortie) r = rayon des canaux η = viscosité liquide (mPa x s) L = longueur des canalicules / épaisseur

Les contrôles à effectuer :

Pendant la filtration	Mesure du débit Mesure Pression amont/aval du filtre (évolution colmatage) Une ↗ de pression indique un colmatage ; une ↘ de pression une déchirure du filtre.
Après la filtration	Point de bulle (on imprime une pression sur le filtre = crée un réseau de bulle ayant la forme des pores → s'il est incohérent, irrégulier = problème au niveau du filtre) Absence de particules en suspension Non adsorption du PA par le filtre Impuretés solubles apportées par le filtre

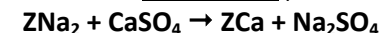
III/ PERMUTATION

= échange d'ions contre d'autres.

➔ Permutation Simple

= **Adoucissement de l'eau.**

Utilisation de minéraux de la classe des **Zéolithes (Z)** permettant échanges $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$



On régénère la zéolithe en trempant le minéral dans une solution concentrée en sodium (NaCl).

L'échange ionique est **réversible** (permettant de capter des ions calcium et de relarguer du sodium).

Les Zéolithes synthétiques, que l'on utilise dans les opérations pharmaceutiques, sont appelés **Permutites** : silicoaluminates alcalin hydratés.

→ Avec cette permutation simple, il n'y a **pas déminéralisation**, mais **adoucissement** (élimination des ions Ca^{2+} pour éviter l'entartrage).

➔ Bipermutation

= formation d'eau pure déminéralisée

Utilisation de résines échangeuses d'ions :

Résine (permutites) anionique hydrogénée	Echange possible d'un cation (Ca^+ , Na^+ , K^+) contre un H^+ sur la résine. Donne des H^+ dans l'eau (les cations sont captés dans la résine)
Résine (permutites) cationique hydroxylée	Echange possible d'un anion (Cl^- , Br^- , SO_4^{2-}) contre un OH^- sur la résine.

→ Tous les ions sont échangés contre des H^+ ou des OH^- , qui forment de l'eau en se combinant.

Régénération des résines par passage sur eau acidulée (acide sulfurique ou chlorhydrique 1%), puis solutions alcalines.

Colonnes dans lesquelles les 2 types de 2 résines sont mélangés : échangeurs à lits mélangés → Problème de **développement de microorganismes** en cas de contamination des résines.

Avantages : eau très pure, grand débit, très bon marché

➔ Intérêts

Permet le traitement d'eaux riches en Calcium (=eau dure), où l'on trouve des sulfites et des carbonates de calcium.

Les sels de calcium sont plus solubles à froid qu'à chaud. Donc cela engendre des problèmes d'**entartrage** avec les distillateurs, les radiateurs et les chaudières.

→ Utilisation pour les bioréacteurs et le nettoyage

IV/ OSMOSE INVERSE

➔ Définitions

PHENOMENE D'OSMOSE	Phénomène naturel de diffusion d'un solvant au travers d'une membrane semi-perméable (perméable au solvant mais peu ou pas aux éléments dissous), séparant 2 solutés. Cela correspond à une pression qui pousse le solvant à quitter le soluté le moins concentré vers le soluté le plus concentré à travers la membrane.
PHENOMENE D'OSMOSE INVERSE	On va appliquer une pression suffisante sur le compartiment contenant la solution la plus concentrée pour faire passer les ions vers la solution la plus concentrée. Elle permet la déminéralisation des eaux salines. Le débit dépend de : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Surpression ▪ Surface membranaire (↑ avec la surface)

Membranes avec matériaux différents : acétate de cellulose, nylon, polyamide

➔ Les avantages de l'osmose inverse

- Obtention d'une eau déminéralisée à prix faible
- Possibilité de **stérilisation** et de rendre l'eau **apYROgène**
- Ø de particules
- Aux USA, cette eau est utilisée pour les préparations en injection (*pas en Europe*)
- Rinçage des flacons pour injections avant d'introduire des médicaments stériles

V/ DISTILLATION

= processus qui consiste à chauffer l'eau jusqu'à évaporation du composé le plus volatil. La vapeur d'eau est ensuite condensée puis collectée, on obtient le distillat.

→ On utilise de l'eau déminéralisée ou peu minéralisée, on ne peut pas faire d'eau distillée à partir d'eau polluée.

➔ Appareillage

- Distillateur
- Evaporation + condensateur acier inoxydable
- Chauffage de l'eau par canalisation avec vapeur d'eau surchauffée
- Déflecteur (piège mécanique) pour éviter le phénomène de primage
- Evaporateur

➔ Précautions à prendre lors d'une distillation

- /!\ à l'**entartrage** (formation sels de calcium) dépendant de la qualité de l'eau utilisée (notamment les eaux dures, présence de calcium en grande quantité)
- **Problème de Primage** : substances non volatiles qui peuvent être entraînées par la vapeur obtenue par distillation lors d'un chauffage et ébullition chaotique.
→ Nécessiter de régulariser l'ébullition en ajoutant un gaz inerte (*ex : azote*) ou de l'air au fond du récipient pour éviter la présence de poches d'air
- **Interposer des obstacles** qui récupèrent les impuretés : anneaux de verre (empêchent les particules d'aller sur le déflecteur), déflecteurs en métal, création de chicanes

➔ Impuretés

Impuretés volatiles (CO₂, NH₃)

Soit existantes dans l'eau à distiller, soit apportées par l'atmosphère.

On fait subir à l'eau un dégazage pour s'en débarrasser :

- **Elimination de la fraction de tête** (= premiers mL de la distillation) où se trouvent le CO₂ et le NH₃
- **Elimination de l'oxygène** (*problème d'oxydation*) par barbotage de l'eau dans l'azote qui va chasser les bulles.

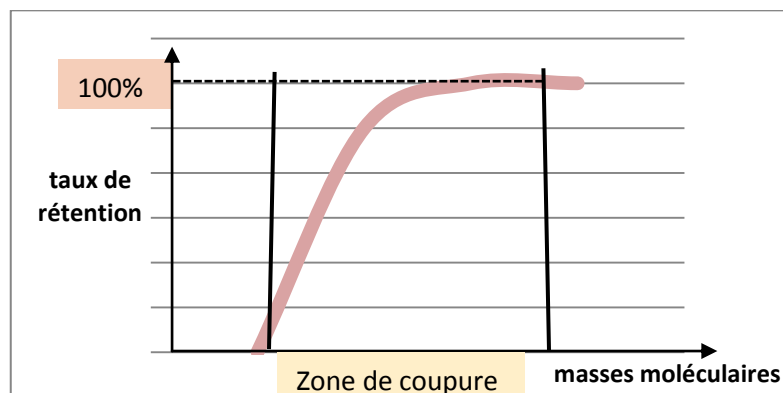
Impuretés cédés par les parois des récipients et distillateurs :

Métaux	Cuivre, fer, zinc
Verre	Silicates, borates, soude

→ Actuellement, on utilise du verre neutre et de l'acier inoxydable et de l'eau p.p.i pour les microorganismes.

VI/ ULTRAFILTRATION

C'est une **méthode de filtration sous pression**. On sépare les molécules dissoutes dans l'eau en fonction de leur taille ou de leur poids moléculaire.



On utilise une membrane de perméabilité sélective = **Ultrafiltre**. Il est caractérisé par :

- **Zone de coupure** : délimite la gamme des masses moléculaires retenues partiellement (0-100%) (*avant la zone de coupure, on n'a pas de rétention*)
- **Seuil de coupure moléculaire** : correspond à la plus petite taille de molécules retenues à 100%.

L'ultra filtre retient donc :

- Les molécules organiques à partir d'une certaine taille (donc les substances pyrogènes)
- Les particules non dissoutes
- Les microorganismes
- Les virus

Mais il ne retient pas les sels minéraux ! Donc cette technique **ne permet pas l'obtention d'eau déminéralisée**.

→ On peut donc faire une préfiltration pour éviter le colmatage.

VII/ DESSICCATION

La dessiccation ou séchage a pour but **d'éliminer un corps volatil contenu dans un autre corps non volatil**.

Les 3 états de l'eau :

Eau de cristallisation ou de structure	Liée chimiquement à la molécule, difficile à éliminer sans dénaturation de la molécule. En modifiant cette eau, on va déstructurer la molécule.
Eau d'adsorption	Une substance dans une atmosphère humide relative déterminée acquiert une humidité en équilibre avec l'humidité atmosphérique, spécificité pour chaque produit Permet de fixer les conditions optimales de séchage d'un produit = <i>humidité atmosphérique adsorbée par la substance</i>
Eau libre	Imprègne la substance à sécher

Quand on sèche, on va d'abord éliminer l'eau libre, puis l'eau d'adsorption et on ne touchera pas à l'eau de cristallisation.

1) Dessiccation par air chaud

Au départ, la dessiccation peut se faire à l'air libre. Elle est utilisée pour les plantes, nécessite un endroit aéré (renouvellement de l'air).

La durée de l'opération est **importante**, avec une possibilité d'hydrolyse.

Pollution par d'autres produits. Elle ne tient pas compte fragilité produits

L'humidité est non contrôlée durant la dessiccation.

Séchage par convection	Calories mobiles et transmises par l'air chaud
Séchage par conduction	Calories immobiles (plateau d'étuves)
Étuves, plateau recevant les produits à sécher	Air chaud brassé, se charge en humidité et s'évacue Utilisé pour la dessiccation de poudres et comprimés
Séchoirs à lit d'air fluidisé	Récipient à fond perforé, traversé de bas en haut par air chaud. Brassage masse humide jusqu'au séchage. Technique plus rapide qu'en étuves

→ Nébulisation

C'est un cas particulier de dessiccation par air chaud (phénomène de convection).

La solution ou la suspension à sécher est **dispersée** sous forme de **fines gouttelettes** dans un courant d'air très chaud :

- Transformation instantanée en poudre
- Procédé augmentant considérablement la **surface de contact** entre l'air et le produit et ainsi l'efficacité du séchage.
- **Air de dessiccation** atteint **150°C**, faite en une fraction de seconde.
- Obtention d'un **nébulisat** à **60°C**

Permet le traitement de produits thermolabiles, on ne modifie pas la structure des molécules : **pas de dégradation** de la structure (car durée très courte)

Surface en contact avec la poudre importante, gouttes d'une taille d'environ **100 µm**

- Obtention d'un nébulisat de globules **poreux**, à dissolution rapide (*car anhydre*)
- On peut sécher de cette façon les PA thermolabiles (= sensibles à la chaleur)
- Phénomène d'oxydation peu important**
- Possibilité de réaliser l'opération sous gaz inerte (surtout avec azote pour les produits très fragiles)
- Appareillage : système de dispersion du liquide, chambre de séchage, cyclone de séparation

Facteurs influençant la nébulisation

- Système de dispersion : + taille des gouttes est faible, + la poudre est fine
- Concentration du PA dans le liquide : dilution
- Tension superficielle : action sur la taille de la poudre
- Avec **Tensioactif**, on va baisser la tension entre le solide et le liquide et obtenir une poudre + fine
- T° de l'air : 150-200°C (si on change la T° on va changer aussi la nébulisation)

Intérêt de la nébulisation

- Facile à remettre en solution**
- Utilisable pour substances thermosensibles
- On peut traiter des **substances sensibles à l'oxydation et l'hydrolyse**
- Ex : Lait pour nourrissons, poudres enzymatiques, extraits plantes, excipients

Vitesse d'évaporation

$$V = \frac{K.S(F-f)}{P}$$

V : vitesse d'évaporation (poids d'eau évaporée par unité de tps)

S : surface à sécher

K : coefficient du produit (nature, porosité), constante dépendante du produit

P : P° ambiante

F : tension de vapeur saturante à une T° donnée (\nearrow avec T°) = *force nécessaire pour que l'eau se détache du produit et s'évapore*

f : pression de vapeur au niveau de l'air ambiant

Comment augmenter la vitesse d'évaporation ?

- Augmenter la surface
- Diminuer la pression ATM, en faisant le vide par exemple
- Augmenter la température donc F va augmenter
- Diminuer f : en balayant la surface avec de l'air (ventilation)

2) Lyophilisation (= cryodessiccation)

C'est le seul procédé de **dessiccation à froid**.

Définition : c'est une méthode de **dessiccation sous vide et à basse température**.

Le produit lyophilisé est le **lyophilisat**.

C'est un produit ayant une réelle **affinité pour les solvants**, car il est complètement déshydraté par séchage, et se dissout très facilement.

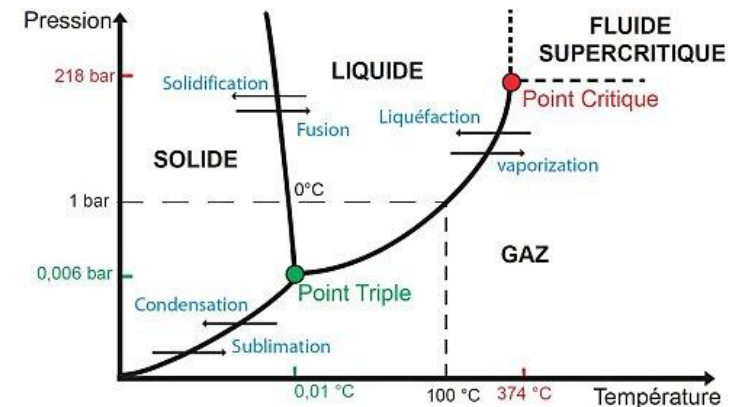
En général, en pharmacie, les produits à lyophiliser sont en solution aqueuse.

Principe

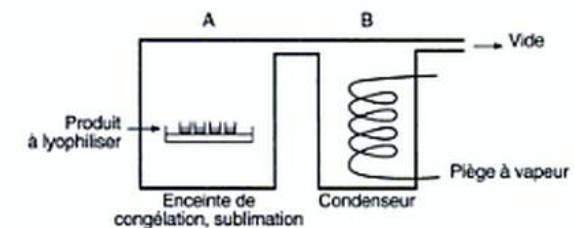
- ✓ Etape de congélation à -40/-50°C
- ✓ Etape de sublimation (solide \rightarrow gaz, afin de ne pas altérer les produits qui sont sensibles à l'eau et à l'hydrolyse)

Point triple de l'eau : T° = 0°C et P° de 6 millibars

- ✓ A une pression normale de 760 mmHg, la forme solide est retrouvée si T° < 0°C ; la forme liquide si T° > 0°C et la forme gazeuse si T° > 100°C
- ✓ A une P° de 4,58 mmHg (= 6 mbar) à 0,0076°C, les 3 phases sont en équilibre, c'est le point triple de l'eau (frontière entre les trois états de l'eau).



La **sublimation** aura lieu en cas de légère augmentation de température ou de baisse de pression si on se trouve à T° < 0°C et P° < 6 mbar.



L'évaporateur (enceinte A) est une enceinte **refroidie** à température constante permettant la congélation du produit à **-40°C**.

A cette température, le phénomène de sublimation de la glace se réalise à une **pression quasi-nulle** $\leq 0,1$ mmHg (**pompe à vide**).

Le condenseur (enceinte B) est un **système réfrigérant** avec une température inférieure à celle de l'enceinte A (environ **-50°C**), et une tension de vapeur F inférieure à celle de l'enceinte A.

La **pression partielle** des molécules d'eau dans l'atmosphère environnante **f** est **inférieure** à la **tension de vapeur** de la glace dans le produit **E** : ce **déséquilibre** (de P° et de T°) permet le **déplacement de la vapeur d'eau** de l'évaporateur vers le condenseur.

La vapeur formée par l'évaporateur est refroidie dans le condenseur, et se congèle à nouveau au contact de la paroi du condenseur : piège à vapeur

Le phénomène de **sublimation** est **accélééré** dans l'évaporateur : **élimination de la vapeur** au fur et à mesure de sa formation.

Remarque : l'évaporation en A provoque la **baisse de température** dans l'enceinte de l'évaporateur, donc **ralentissement** du phénomène de sublimation.

Il faut donc apporter les calories nécessaires dans l'évaporateur par chauffage pour que l'échange puisse continuer. La transformation de la glace en vapeur nécessite **650 calories / gramme de vapeur**. Le produit doit ainsi toujours rester congelé.

Les 3 mécanismes de la cryodessiccation

CONGELATION	<p>L'eau augmente de volume quand elle se change en glace, donc risque de léser les tissus à congeler. Pour limiter ce phénomène :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Congélation rapide (grâce à de la neige carbonique à -80°C ou de l'azote liquide à -196°C) pour garder la glace sous forme de petits cristaux <p>Une congélation lente entraîne des cristaux plus gros (centres de cristallisation)</p> <p>La présence de sels induit une T° de congélation très inférieure à celle de l'eau.</p> <p>Le but est d'atteindre le plus rapidement possible une T° inférieure aux différents eutectiques de la préparation.</p>
SUBLIMATION	<p>Réaction endothermique: absorption de calories donc refroidissement du produit et ralentissement de la réaction.</p> <p>Le maintien de la T° constante s'effectue par chauffage, elle ne doit pas être inférieure à -40°C au niveau de l'évaporateur.</p> <p>En fin de réaction : élimination des fractions difficiles à sublimer (=molécules d'eau très liées), on effectue un vide poussé et chauffage léger du produit à lyophiliser.</p>

CONDENSATION

Réaction **exothermique**, ne nécessite pas d'apport d'énergie donc température maintenue.

Surface de condensation doit être importante pour piéger un maximum d'eau ; mais si surface de glace trop épaisse : réduction des échanges thermiques.

Pour avoir une **bonne opération de lyophilisation** :

- La **pression** doit être **quasi-nulle**
- La **différence de T°** entre les 2 enceintes doit être **bien paramétrée**
- Le **cycle complet** des 3 étapes de lyophilisation dure de **24 à 48h** (méthode onéreuse)
- **Appareils de contrôle** pour suivre les cycles de lyophilisation
- Produits lyophilisés sont ensuite **conditionnés** en flacons ou en sachets (dosette, le plus fréquent)

La lyophilisation s'effectue **stérilement ou non**. Elle est adaptée aux produits sensibles à l'hydrolyse de l'eau et aux produits thermosensibles.

VIII/ STERILISATION

Définition : la **stérilisation** a pour but de **priver un objet ou un produit** des **microorganismes** qui le **souillent**.

La méthode doit être la plus adaptée au produit (forme liquide ou solide, sensibilité à la chaleur, dénaturation...), la qualité du matériel initial est très importante. On réalise la stérilisation à l'intérieur du conditionnement : **l'efficacité de la stérilisation dépend du degré initial de contamination microbienne.**

Selon une loi de décroissance logarithmique, la matière doit donc être **la – contaminée possible**, sous une **zone d'atmosphère contrôlée** (décontaminée, gestes précis, flux laminaire). On peut parfois associer différentes techniques pour être plus efficace.

Il y a différentes méthodes de stérilisation :

- **Par chaleur humide**
- **Par chaleur sèche**
- **Par gaz alkylants**
- **Par irradiation**
- **Par filtration stérilisante**
- **Par gaz plasma**

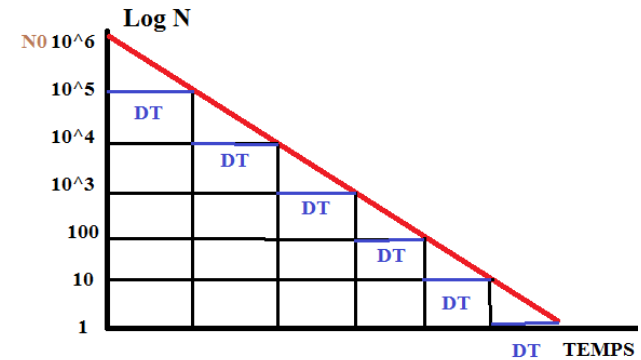
1) Témoins de stérilisation

Ils permettent de vérifier **l'efficacité** de la stérilisation (*vérifier température et durée*)

Témoins physico-chimiques

Substances qui témoignent du passage par la phase de stérilisation :

	<p>Ex : changement de couleur / point de fusion, ... acide benzoïque à T° de fusion à 121°C ; indicateur coloré : éosine passant du rose pâle au orangé</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Chaleur humide</u> : bande thermosensible, changement de couleur au contact de la vapeur d'eau (+ ac. benzoïque) - <u>Chaleur sèche</u> : bande thermosensible, changement de couleur au point de fusion - <u>Par rayonnement</u> : pastilles PVC imprégnées d'un indicateur coloré qui va se fixer sur le chlore - <u>Par gaz plasma</u> : changement de couleur en présence de peroxyde d'hydrogène
<p>Témoins biologiques</p>	<p>Témoins possédant une population dénombrée d'un germe connu : les indicateurs permettent de vérifier la réduction de 6 log soit 10^6 germes de cette population. La décroissance logarithmique du nombre de germes est appelée assurance stérilisation. On doit connaître N_0 (nb germes initialement) et D_T (facteur de décroissance) de chaque indicateur. Ce sont ♥ :</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Chaleur sèche</u> : <i>Bacillus subtilus</i> - <u>Chaleur humide</u> : <i>Bacillus Stearothermophilus</i> - <u>Par oxyde d'éthylène</u> : <i>Bacillus Subtilus var. Niger</i> - <u>Par rayonnement</u> : <i>Bacillus Pumilus</i>



- **Temps de réduction décimale D_T** à une T° donnée, le D_T correspond au temps nécessaire pour réduire la pop de microorganismes d'un facteur 10

Pour *Bacillus stéarothermophilus* (chaleur humide) : 1 min 30 – 2 min. On a donc besoin de 6 D_T donc 12 min (en pratique on met 15 min pour laisser une marge)

- **Valeur d'inactivateur thermique Z** : élévation de T° nécessaire pour réduire la valeur de D_T d'un facteur 10 : + la T° est élevée, - le D_T est élevé. Pour *Bacillus Stearothermophilus* $Z=10^\circ\text{C}$
- **Temps équivalent F_T** qui permet de comparer des traitements thermiques différents : 1min à 121°C ↔ 2min à 118°C
- **Valeur stérilisatrice F_{2T}** : somme des effets stérilisants sur l'ensemble du cycle : permet de prendre en compte tous les paramètres. C'est le temps qu'aurait duré le trt de stérilisation si celui-ci s'était entièrement déroulé à la T° de référence

La valeur stérilisatrice est notée F_0 dans la chaleur humide, c'est le temps équivalent qu'il aurait fallu appliquer au produit si T° stérilisation = 121°C

$F_0 = 8\text{min}$ = minimum acceptable pour dire que la S est acceptable pour la chaleur humide : réduction des bactéries d'un facteur 10^8 pour des spores très résistantes.

↩ Stérilisation par Chaleur humide

Très **efficace** : sous forme de vapeur on a besoin d'une T° moindre que pour chaleur sèche
Innocuité du procédé (pas d'altération du produit, *utilisé pour les médicaments ++*)

T° relativement basses : **120-140°C**

Maîtrise des moyens de contrôle :

- **Qualité de l'eau** : ni impuretés ni entartrage : donc la permuter, la filtrer (eau distillée)
- **Qualité de la vapeur** : purger le système pour éviter les poches d'air qui diminuent l'efficacité de l'opération.
- **Titre de vapeur saturée** : doit être de 99% (poids vapeur/poids d'eau liquide) : 99% de l'eau doit être sous forme gazeuse pendant la stérilisation
- **Pureté chimique de l'eau** : éviter la présence de graisses, particules métalliques

2) Stérilisation par la chaleur

C'est une **méthode de choix** si le produit la supporte.

La sensibilité des microorganismes à la chaleur dépend :

- De l'espèce microbienne
- De la forme (végétative ou sporulée =encapsulée)
- De la durée du traitement
- Du nb de germes avant traitement (= N_0)
- De la T°
- Du milieu de développement des germes

Espèce : caractéristiques différentes, les **spores** sont beaucoup **plus résistantes** que les formes végétatives pour une même espèce (spores = forme de résistance). On prend pour **témoins** des **espèces très résistantes** à la T° (*bacillus subtilus / bacillus stéarothermophilus*)

Durée et nb de germes : le **nb de germes survivants est fonction inverse de la durée de traitement**. Loi de décroissance : $\text{Log}(N / N_0) = -kt$

Cycle de stérilisation :

- Phase de vide pour éliminer l'air
- Phase de plateau : **121°C pendant 15min** (++) car $D_T = 2\text{min}$ (ou 134° pdt 10min)

Avantages	Inconvénients
- Facilité d'utilisation du matériel	- Objets thermosensibles
- Innocuité de l'agent stérilisant	- Objets sensibles à l'oxydation

Applications : médicaments (en priorité : solutions) et matériel médicochirurgical en acier inoxydable, verre, latex.

↪ Stérilisation par chaleur sèche

Air chaud à pression atmosphérique, en étuve, on chauffe à **180° pendant 30min** ♥
Stérilisation des contenants en verre dans le cadre des procédés de fabrication antiseptique

A 220°C, **dépyrogénéisation** (résidus de bactéries, virus...) des contenants en verre
Pourquoi des T° si élevées ? Car l'air a une **faible conductivité thermique**, le temps pour atteindre la T° de stérilisation est long.

Utilisée pour les objets métalliques et récipients en verre ppi (pour préparations injectables, *mais en aucun cas pour les médicaments*).

3) Filtration stérilisante

Application aux fluides : **gaz ou liquides monophasiques**.

Utilisée pour les solutions ayant un **principe actif thermolabile**, mais pas avec des liquides trop visqueux.

On a des filtres à pores (porosité) de diamètre de **0,22 µm (jusqu'à 0,1 µm)** qui doivent être **compatibles** avec le PA dissous, avec un **faible taux de rétention**. En général le pore est fait en cellulose, en nylon, en polypropylène.

Mécanismes : **rétention, impact inertiel, adsorption**. *Il faut vérifier la porosité, le seuil de rétention et la perte de charge des filtres*

L'efficacité de la filtration est confirmée avec une suspension de microorganismes vivants de petite taille. Le témoin biologique de référence = *Pseudomonas diminuta* (0,3 µm). Le filtrat ne doit pas donner le développement microbien dans un milieu approprié.

4) Stérilisation par agents chimiques

↪ Formaldéhyde = formol CHO

Evaporation du formol liquide sous forme de **monomères gazeux**.

Pour stériliser : sous forme de monomères gazeux, à **pénétration lente et faible**.

- Problèmes de polymérisation (efficacité moindre)
- Agit par **alkylation** et dénaturation des protéines des microorganismes.

- N'agit qu'en présence de vapeur d'eau (50°C)
- *Prix de revient faible*
- Pas de système de détection de gaz (car les fuites ont une odeur caractéristique dès une faible concentration 0,2 ppm).

Limites :

- Faible pénétration, maîtrise difficile des paramètres de stérilisation
- Polymérisation des gaz : baisse efficacité
- Corrosion du matériel à stériliser
- **Irritant** pour la peau et les muqueuses respiratoires. Utilisé pour les locaux (*et en aucun cas pour les médicaments*)

↪ Oxyde d'éthylène (OE) :

Gaz inodore, très réactif, inflammable, **explosif si 3% < C < 83%**, **inodore** (danger majeur donc alarmes à gaz)

- Pour abaisser le risque d'explosion, on le mélange avec un gaz inerte : N₂ ou CO₂.
- Action par **alkylation** (intervient dans le métabolisme microbien)
- **Excellent diffusibilité**, pénétration au sein des solides poreux.
- Nécessite une certaine humidité

Paramètres d'efficacité de la stérilisation :

- **Concentration en OE** (600-1700mg/L) dépend de la T°, nature de l'objet, temps contact
- T° : entre 37 et 60°C
- **Humidité relative** : permet la diffusion de l'OE à travers les mb des germes, favorise l'alkylation et la transformation des formes sporulées en formes végétatives
- **Durée d'exposition** : dépend de la concentration en OE et de la T° détermine la qualité de stérilisation, 30 min à 10h selon les systèmes

Avantages	Inconvénients
- Bonne diffusibilité	- Toxicité
	- Désorption lente, adsorption/matériaux
	- Mise en phase de désorption
	- Polyéthylènes relargage rapide ; latex lent
	- H ₂ O et Cl ⁻ transformés en dérivés toxiques éthylène cholrhydrique et éthylène glycol
	- Difficulté maîtrise humidité
	- Seuil olfactif haut (explose avant repérage)
	- Matériel sensible à la chaleur

Applications : **matériel à usage unique** sensible à la chaleur (seringues, sondes urinaires...) médicaments si pas d'autres méthodes possibles ; **matériel médico-chirurgical**

On stérilise le matériel dans son emballage final (traverse l'emballage).

5) Stérilisation par rayonnements ionisants

Formation de radicaux libres instables : espèces très réactives car ayant un électron non apparié oxydant les mb des bactéries (*peroxydation lipidique*) pour les éliminer.

- Action **cumulative** et **proportionnelle à la dose**
- Mécanisme de **radiolyse de l'eau** contenue dans les microorganismes : formation de radicaux libres à partir de l'eau et recombinaison avec des peroxydes

2 sources irradiantes : ^{60}Co (cobalt) et ^{137}Cs (césium) → **rayons gamma**

La dose absorbée dépend :

- **Activité** et configuration de la source
- **Distance** de la source au produit
- **Temps d'exposition** et du **nb de passages** devant la source (rotation des éléments devant la source)
- Nature du produit, sa composition, densité, de son conditionnement
- Rayons gamma car **les plus pénétrants** (*parfois on utilise les rayons beta*)

L'énergie apportée doit être **inférieure à 5 MeV** pour ne pas créer de radioactivité induite.

Avantages	Inconvénients
<p>Pénétration importante : stérilisation dans l'emballage étanche commercialisé</p> <p>Procédé fiable et reproductible</p> <p>Stérilisation à froid</p> <p>Procédé maîtrisé</p>	<p>Modifications possibles des propriétés physico-chimiques des médicaments ou matériaux (changement de couleur, odeur, viscosité, ...)</p>

Contrôle de la répartition et de l'intensité des RI grâce à des **dosimètres** (= intégrateurs). Les témoins sont des bandes de plexiglas qui s'assombrissent en fonction de RI reçue → spectrométrie mesure la densité optique proportionnelle à la dose absorbée.

Applications

- **Médicaments avec radiostérilisation** : Decapeptyl, tétracycline, néomycine
- **Antibiotiques à risque d'hydrolyse** (non stérilisables par chaleur humide)
- Sel ou ester moins sensible que l'acide libre à la radiolyse
- Médicaments solides ou milieux non aqueux plus stables aux RI

Éventuellement, matériel médico-chirurgical, greffons osseux dans certaines greffes

6) Stérilisation par plasma

Cinq phases : vide, injection de peroxyde d'hydrogène, diffusion du peroxyde d'hydrogène, plasma et retour à la pression atmosphérique (*plasma = gaz ionisé*)

Les éléments constitutifs du plasma, incluant des **atomes d'oxygène et d'hydrogène**, de **l'oxygène dans son état excité** et des **radicaux OH°** sont transportés en flux continu vers la chambre de stérilisation pendant toute la phase plasma.

- Stérilisation à **basse température**, réalisée par combinaison des effets du peroxyde d'hydrogène et du plasma de peroxyde d'hydrogène.

Témoin biologique : *Bacillus Circulans*

- Stérilisation par exposition aux espèces issues d'une décharge gazeuse
- Gaz ou mélange de gaz n'a **pas d'effet sporicide** tant qu'il n'est pas activé.
- Durée de vie des espèces du plasma (qq ms)

Caractéristiques :

- Durée < durée de stérilisation sèche ou humide (1h)
- Température < oxyde éthylène (55°C)
- Possibilité de traiter la plus grande gamme d'objet possible
- Absence de risque pour opérateurs, patients, matériel

Intérêt : matériel thermosensible comme ceux en plastique, certaines fibres optiques (fibroscopes)

7) Conditionnement aseptique

L'asepsie est l'ensemble des **précautions prises pour empêcher tout apport exogène de micro-organismes**. La préparation aseptique a pour but de maintenir la stérilité d'un produit obtenu à partir de composants préalablement stérilisés. Pour cela, différents paramètres doivent être contrôlés, tels que l'environnement, le personnel et les surfaces critiques :

- Locaux, atmosphère contrôlés
- Flux laminaires : atmosphère stérile, Ø de particules
 - o Ne rend pas un objet stérile
 - o Permet de garder l'état stérile d'un objet
- Zones atmosphère contrôlées
- **Air propre filtré**
- Sur filtre HEPA (High Efficiency Particular Air filter)
- **Rétention de plus de 99,997% de particules de diamètre > 0,3 µm**
- Circulation d'air : vitesse constante