

OK

ZV0000933

REPUBLIQUE DU SENEGAL

MINISTRE DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE

INSTITUT SENEGALAIS DE RECHERCHES
AGRICOLES (I.S.R.A.)

LABORATOIRE NATIONAL DE L'ELEVAGE
ET DE RECHERCHES VETERINAIRES

LES ASPECTS THEORIQUES DE LA LYOPHILISATION

STAGE FAO SUR LA PRODUCTION DE VACCINS
DAKAR, DU 17 OCTOBRE AU 5 NOVEMBRE 1983

Par LEFORBAN Y.

REF. N° 78/VIRO.
OCTOBRE 1983.

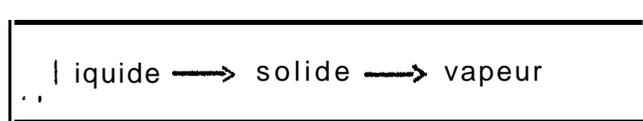
LES ASPECTS THEORIQUES DE LA LYOPHILISATION

Par LEFORBAN Y *

GENERALITES

DEFINITION

La lyophilisation est un moyen de stabiliser un produit se présentant sous forme de liquide en le congelant, puis en l'évaporant. On fait donc passer le produit par les stades suivants :



A l'issue du processus de lyophilisation, on obtient donc une substance sèche et poreuse dans laquelle l'eau a été éliminée.

Les aspects théoriques de la lyophilisation sont complexes et encore incomplètement compris. La lyophilisation comprend 3 phases :

- la congélation
- la dessiccation primaire
- la dessiccation secondaire.

LES STADES DE LA LYOPHILISATION (Résumé)

1 - La congélation

Le produit à lyophiliser est amené rapidement à basse température vers - 50°C - 60°C.

2 - La dessiccation primaire

Le produit étant gardé congelé, on établit un vide dans la cuve, la glace contenue dans le produit est sublimée.

Cette sublimation doit s'effectuer sous température constante.

.../...

* Laboratoire national de l'Élevage et de Recherches vétérinaires
B.P. 2057 - DAKAR-HANN.

3 - La dessiccation secondaire

Quand les derniers cristaux de glace ont disparu, le produit est réchauffé dans le but d'éliminer les dernières molécules d'eau qui n'ont pas cristallisé et qui demeurent fixées au produit par des phénomènes d'adsorption.

L'humidité résiduelle, c'est-à-dire le pourcentage d'eau contenu dans le produit à la fin de la lyophilisation, doit être la plus faible possible pour une conservation optimale du produit lyophilisé.

I - PREPARATION DU PRODUIT

On doit ajouter au produit des substances protectrices pour que les micro-organismes (bactéries ou virus) ne soient pas détruits au cours du processus de congélation ou de dessiccation :

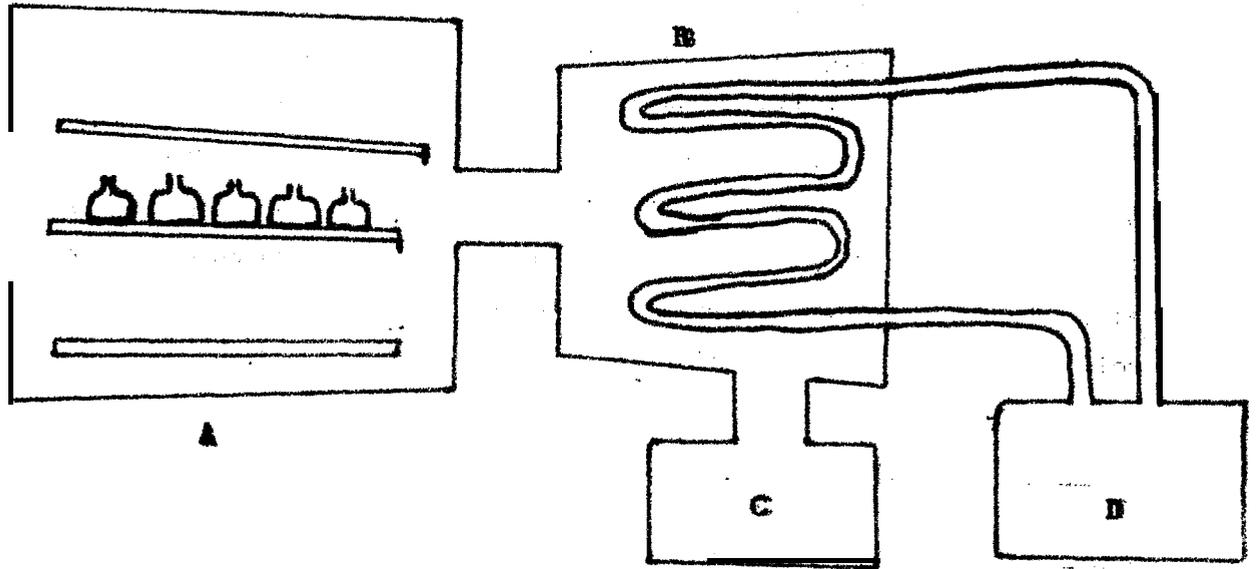
- souvent des hydrates de carbone
 - . lactose
 - . glucose
 - . saccharose
- des produits plus complexes
 - . tris
 - . lait écrémé
 - . peptone.

ii - LA CONGELATION

La congélation n'est pas un simple passage à l'état solide d'un produit liquide. En effet, le processus de cristallisation de l'eau peut entraîner des phénomènes de dénaturation des structures protéiques des bactéries et des virus, celles-ci étant responsables de l'immunité.

De plus, quel que soient les conditions de congélation, il restera toujours une certaine proportion de molécule d'eau intimement liée au produit qui ne se cristallise pas. On l'appelle "l'eau liée".

SHEMA D'UN LYOPHYLISATEUR . /



- A CUVE OU CHAMBRE DE DESSICATION .
- B PIEGE OU CONDENSEUR
- C POMPE A VIDE
- D MACHINE FRIGORIFIQUE .

a) Les fluides interstitiels

Lors de la congélation, se forment des cristaux de glace et ceux-ci sont entourés par des fluides interstitiels. Ces fluides interstitiels contiennent toutes les substances initialement en solution. Plus la température descend, plus la quantité des cristaux de glace augmente et plus la concentration du liquide interstitiel augmente également et à la fin du processus de congélation ; ces fluides interstitiels deviennent également solides. C'est ce que l'on appelle le point de cristallisation eutectique ou température de complète solidification (TCS) ; quand ce point est atteint le produit est prêt par le processus de sublimation. Quand ce point est atteint, rien ne sert de descendre plus bas. Il est bien évident que ce point dépend de la composition du produit à lyophiliser.

b) Les cristaux de glace

Ils apparaissent brusquement sous forme de petits noyaux. Pour que ceux-ci ne dénaturent pas les structures protéiques, ils doivent être distribués de manière homogène et être également de taille homogène. Il ne doit pas en particulier se produire de cristallisation superficielle. Dans tous les cas, il faut trouver la courbe de descente de température optimale pour chaque produit.

Pour une congélation optimale, la température du produit doit descendre de +20°C à -50°C entre une demi-heure et une heure.

Pour la plupart des produits, le point eutectique se situe entre -40 et -60°C.

III - LA DESSICATION PRIMAIRE OU SUBLIMATION

Elle est obtenue en appliquant le vide : le vide doit être de 0,5 à 0,05 Torr.

L'eau des cristaux de glace se transforme en vapeur, celle-ci étant condensée au niveau du piège. La température du piège reste toujours inférieure à celle de la cuve pendant tout le processus de lyophilisation pour que le piègeage de l'eau se fasse correctement.

La sublimation étant un processus endothermique, on doit réchauffer le produit pendant toute la période de sublimation. La température du produit doit être contrôlée précisément pendant tout le processus. Si elle s'élève trop, des fusions peuvent se produire à l'intérieur du produit entraînant des altérations profondes de celui-ci. Ceci se traduit par un bouillonnement du produit avec mousse.

La température à laquelle doit être maintenu le produit pendant la sublimation est donc très importante à connaître pour éviter ce phénomène.

Cette température optimale de sublimation se situe généralement entre -20 et -30°C . Si l'on est en dessous de cette température, la sublimation ne se produit pas, si on est en dessus, le produit se met à bouillir et il est dénaturé. La température de sublimation doit donc se situer en dessous de la température de fusion. Plus la température est élevée, plus la sublimation est rapide ; mais le danger de voir le produit bouillir augmente également.

La température de sublimation doit donc être choisie pour que la sublimation se fasse d'une manière régulière.

IV - LA DESSICATION SECONDAIRE

Quand les derniers fragments de glace ont disparu, la période de sublimation est terminée. Le processus endothermique étant terminé, il est nécessaire de régler le système de chauffage pour ne pas surchauffer le produit. La température maximale à atteindre est d'environ 30°C .

A la fin du processus de sublimation primaire, le séchage du produit n'est pas complet puisqu'il reste l'eau liée au produit. Le processus de dessiccation secondaire consiste donc à évaporer cette humidité résiduelle à température constante et sous forte dépression.

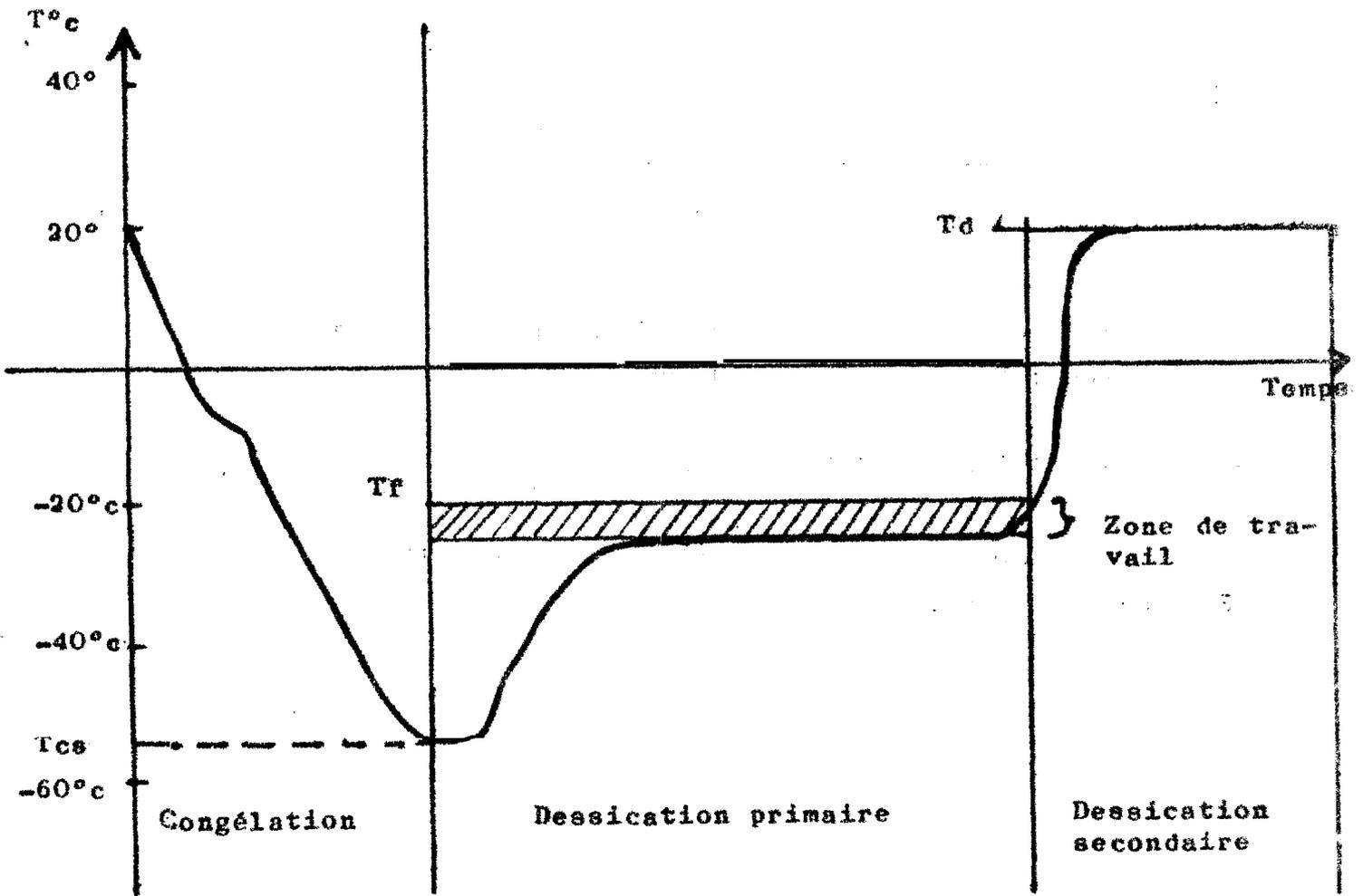
La température de dessiccation secondaire (ou désorption) est T_d .

Cette eau liée est beaucoup plus difficile à extraire que la précédente car intimement liée à la structure du produit. Cependant, en appliquant une dépression suffisante ($< 0,01$ Torr), cette eau est lentement et régulièrement extraite. Cependant, quel que soit le processus utilisé, toute l'eau ne pourra pas être extraite et il restera toujours une légère humidité résiduelle. On devra donc arrêter le processus de dessiccation secondaire après un certain temps qui dépendra du produit et de l'appareil. Ce temps n'est pas facile à déterminer et il sera fonction de l'expérience acquise pour un vaccin donné.

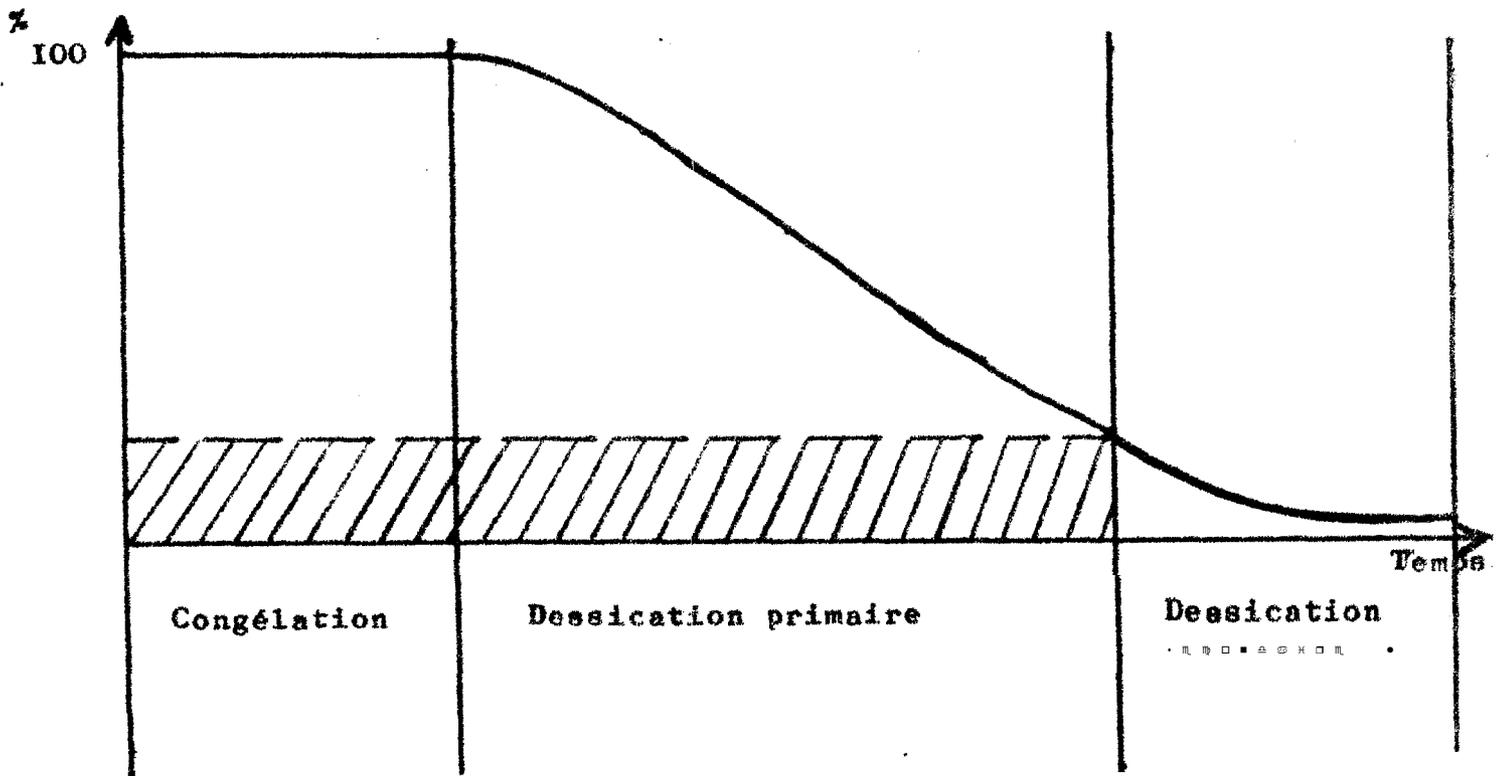
Le taux d'humidité résiduelle du vaccin peut être dosé par une méthode chimique (méthode de KARL FISHER).

Ce taux est très important à connaître, car il détermine la conservation du vaccin. Ce taux doit être compris entre 1 et 1,7 % pour obtenir une bonne conservation.

COURBE DE TEMPERATURE DE LYOPHYLISATION/



COURBE DE DESSICATION



Arret de la lyophilisation

BIBLIOGRAPHIE SOMMAIRE

- REY (L.) - Progrès récents en lyophilisation. Actualités scientifiques et industrielles : 1299 - HERMANN - PARIS, 1962.

- REY (L.) - Traité de lyophilisation. HERMANN - PARIS, 1960.

- REY (L.) - Aspects théoriques et industriels de la lyophilisation. HERMANN - PARIS, 1964.