

**THESE POUR LE DIPLOME
D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Soutenue publiquement le 21 septembre 2026

Par Mme SENECHAL Eva

**QUALIFICATION DES LYOPHILISATEURS SUR UN
NOUVEAU SITE INDUSTRIEL**

Membres du jury :

Président : SIEPMANN Juergen, Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie de Lille

Directeur, conseiller de thèse : SIEPMANN Juergen, Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie de Lille

Assesseur 1 : HAMOUDI Mounira, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie de Lille

Assesseur 2 : LE DEAUT Jonathan, Responsable Support et Amélioration Continue, LFB Biomédicaments Arras

Assesseur 3 : BOUBAKER Aymen, Directeur de production, LFB Biomédicaments Arras

UFR3S-Pharmacie

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Liste des enseignants

Université de Lille

Président	Régis BORDET
Premier Vice-président	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-présidente Formation	Corinne ROBACZEWSKI
Vice-président Recherche	Olivier COLOT
Vice-président Ressources Humaine	Jean-Philippe TRICOIT
Directrice Générale des Services	Anne-Valérie CHIRIS-FABRE

UFR3S

Doyen	Dominique LACROIX
Premier Vice-Doyen, Vice-Doyen RH, SI et Qualité	Hervé HUBERT
Vice-Doyenne Recherche	Karine FAURE
Vice-Doyen Finances et Patrimoine	Emmanuelle LIPKA
Vice-Doyen International	Vincent DERAMECOURT
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires	Sébastien D'HARANCY
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie	Caroline LANIER
Vice-Doyen Territoire-Partenariats	Thomas MORGENROTH
Vice-Doyen Santé numérique et Communication	Vincent SOBANSKI
Vice-Doyenne Vie de Campus	Anne-Laure BARBOTIN
Vice-Doyen étudiant	Victor HELENA

Faculté de Pharmacie

Vice - Doyen	Pascal ODOU
Premier Assesseur et	
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement	Anne GARAT
Assesseur à la Vie de la Faculté et	
Assesseur aux Ressources et Personnels	Emmanuelle LIPKA
Responsable de l'Administration et du Pilotage	Cyrille PORTA
Représentant étudiant	Honoré GUISE
Chargé de mission 1er cycle	Philippe GERVOIS
Chargée de mission 2eme cycle	Héloïse HENRY
Chargé de mission Accompagnement et Formation à la Recherche	Nicolas WILLAND
Chargé de mission Relations Internationales	Christophe FURMAN
Chargée de Mission Qualité	Marie-Françoise ODOU
Chargé de mission dossier HCERES	Réjane LESTRELIN

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BERLARBI	Karim	Physiologie	86
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86

M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bio inorganique	85
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	GILLIOT	Sixtine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M	BEDART	Corentin	ICPAL	86
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
Mme	BOU KARROUM	Nour	Chimie bioinorganique	
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87

Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FRULEUX	Alexandre	Sciences végétales et fongiques	
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	LIBERELLE	Maxime	Biophysique - RMN	
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	

M.	MENETREY	Quentin	Bactériologie - Virologie	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	ROGEL	Anne	Immunologie	
M.	ROSA	Mickaël	Hématologie	87
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mme	KUBIK	Laurence	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BAILLY	Christian	ICPAL	86
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

I. Civ.	II. Nom	III. Prénom	IV. Service d'enseignement	V. Section VI. CNU
M	AYED	Elya	Pharmacie officinale	
M.	COUSEIN	Etienne	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
Mme	DANICOURT	Frédérique	Pharmacie officinale	
Mme	DUPIRE	Fanny	Pharmacie officinale	
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
Mme	GEILER	Isabelle	Pharmacie officinale	
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M	POTHIER	Jean-Claude	Pharmacie officinale	
Mme	ROGNON	Carole	Pharmacie officinale	

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BOUDRY	Augustin	Biomathématiques	
Mme	DERAMOUDT	Laure	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	GISH	Alexandr	Toxicologie et Santé publique	
Mme	NEGRIER	Laura	Chimie analytique	

Hospitalo-Universitaire (PHU)

	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DESVAGES	Maximilien	Hématologie	
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	BERNARD	Lucie	Physiologie	
Mme	BARBIER	Emeline	Toxicologie	
Mme	COMPAGNE	Nina	Chimie Organique	
Mme	COULON	Audrey	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	DUFOSSEZ	Robin	Chimie physique	
Mme	FERRY	Lise	Biochimie	
M	HASYEOUI	Mohamed	Chimie Organique	
Mme	HENRY	Doriane	Biochimie	
Mme	KOUAGOU	Yolène	Sciences végétales et fongiques	
M	LAURENT	Arthur	Chimie-Physique	
M.	MACKIN MOHAMOUR	Synthia	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	RAAB	Sadia	Physiologie	

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	DELOBEAU	Iris	Pharmacie officinale
M	RIVART	Simon	Pharmacie officinale
Mme	SERGEANT	Sophie	Pharmacie officinale
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

LRU / MAST

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FRAPPE	Jade	Pharmacie officinale
M	LATRON-FREMEAU	Pierre-Manuel	Pharmacie officinale
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique

Remerciements

Au jury,

A Juergen Siepmann, qui me fait le plaisir de présider mon jury de thèse, et qui a pu me suivre tout au long de l'écriture de celle-ci. Merci pour votre disponibilité et l'aide apportée pour l'écriture de cette thèse.

A Mounira Hamoudi, merci pour cet accompagnement durant tout la filière industrie, que ce soit pour les recherches de stage, de master, d'école. Vous avez su me guider, me permettant d'arriver là où j'en suis aujourd'hui.

A Jonathan Le Deaut, un grand merci pour l'accompagnement durant mes deux années d'alternance. Cette immersion dans le monde industriel a été très formatrice grâce à ton accompagnement et ta formation. Merci de m'avoir fait évoluer.

A Aymen Boubaker, pour sa confiance de l'alternance jusqu'à l'embauche. Merci de m'avoir laissé l'opportunité d'évoluer au sein de la production. Cette expérience est très enrichissante et je suis ravie de continuer dans ton équipe.

A mes collègues et proches,

A mes collègues, Jean-Michel et Philippe qui m'ont transmis leur savoir concernant la lyophilisation.

A ceux, avec qui je travaille tous les jours, merci, j'ai trouvé en vous plus que des collègues, le soutien, la compréhension, l'écoute, la bonne ambiance, ce serait différent sans vous.

A mes parents, de m'avoir soutenu tout au long de mes études, d'avoir toujours cru en moi. Merci mille fois pour tout ce que vous avez fait pour moi, vous êtes un vrai pilier dans ma vie. Même si je ne vous le dis pas souvent, je vous aime.

A mon frère, qui d'une certaine manière m'a conduite sur cette voie de la pharmacie, puis de l'industrie pharmaceutique. On peut dire qu'on suit son modèle, et en tant que petite sœur, je peux le dire que ton parcours exemplaire a toujours été une ligne directrice pour moi.

A toute ma famille, qui a toujours cru en moi, je suis si heureuse de vous compter dans ma vie.

Enfin, à mes amis de toujours, de collège, de lycée, de fac et d'école d'ingénieur, merci à vous d'avoir rythmé mes années d'études. Merci d'être toujours dans ma vie aujourd'hui. Merci pour ces moments de pleurs, de rires, de joie, vous comptez énormément pour moi, je suis fière de votre parcours, et je peux vous dire aujourd'hui que j'ai accompli ce que j'ai commencé à vos côtés. Tout ça aurait été différent sans vous, donc merci pour tout !

Table des matières

I.	Introduction.....	20
II.	CHAPITRE 1 : Cadre réglementaire, procédés de qualification et application à l'industrie pharmaceutique	21
II.1.	Réglementation.....	21
II.1.a.	Généralités.....	21
II.1.b.	Objectifs.....	21
II.1.c.	Principes fondamentaux.....	21
II.2.	Définitions générales	22
II.2.a.	Définition du médicament.....	22
II.2.b.	Définition du médicament injectable	23
II.2.c.	Définition des médicaments dérivés du sang.....	24
II.3.	Qualification et Validation.....	25
II.3.a.	Importance de la qualification.....	25
II.3.b.	Elaboration d'un cahier des charges.....	25
II.3.c.	Qualification de la Conception (QC)	25
II.3.d.	Test d'Acceptation en Usine / Test d'Acceptation sur Site	25
II.3.e.	Qualification d'Installation (QI).....	26
II.3.f.	Qualification des Opérations (QO).....	26
II.3.g.	Qualification de la Performance (QP)	26
II.3.h.	Requalification	27
II.3.i.	Validation	27
II.4.	La lyophilisation	27
II.4.a.	Histoire de la lyophilisation	27
II.4.b.	Principe de la lyophilisation.....	28
II.4.c.	Présentation d'un lyophilisateur – constituants.....	30
II.4.d.	Risques de contamination liés à la lyophilisation	37
II.5.	Exemple du produit « fibrinogène »	38
II.5.a.	Le produit.....	38
II.5.b.	Son rôle.....	38
II.5.c.	Ses indications	39
II.5.d.	Sa production.....	40
II.5.e.	Place du lyophilisateur dans la fabrication du fibrinogène	40

III.	CHAPITRE 2 : La qualification d'un lyophilisateur.....	42
III.1.	Spécification des besoins utilisateur	42
III.1.a.	Définition du besoin	42
III.1.b.	Dimensionnement d'un lyophilisateur	42
III.2.	La qualification de la conception	44
III.3.	FAT/SAT	44
III.4.	QI/QO	45
III.5.	Les cycles de préparation du lyophilisateur	46
III.5.a.	CIP.....	46
III.5.b.	SIP	47
III.5.c.	Test d'intégrité des filtres	48
III.5.d.	Test d'étanchéité	49
III.6.	L'étape de développement de cycle.....	50
III.6.a.	Principe et intérêt.....	50
III.6.b.	Méthodes de développement d'un cycle.....	52
III.6.c.	Etude du flux évaporatoire	53
III.6.d.	Transposition industrielle	56
III.6.e.	Les différentes étapes et leurs impacts	56
III.7.	La qualification du lyophilisateur	59
III.7.a.	Stratégie de qualification générale.....	59
III.7.b.	Cartographie de température des étagères	60
III.7.c.	Cartographie de température produit.....	61
III.7.d.	Limite de capacité du condenseur	62
III.7.e.	Validation de la stérilité.....	63
III.7.f.	Stratégie de QP	64
III.7.g.	Paramètres suivis au cours d'un cycle de lyophilisation.....	65
III.7.h.	Evènements affectant le cycle de lyophilisation.....	66
III.7.i.	Critères d'acceptation d'un produit lyophilisé.....	68
III.7.j.	Validation du procédé aseptique	69
III.8.	Recommandations et requis de l'annexe 1	70
III.8.a.	Ancienne version	70
III.8.b.	Nouvelle version.....	71

IV.	CHAPITRE 3 : Ouverture : le spectromètre de masse.....	73
IV.1.	Contexte	73
IV.2.	Principe de la spectrométrie de masse.....	74
IV.3.	Intérêt du spectromètre de masse pour les lyophilisateurs	74
IV.4.	Mise en service	76
IV.5.	Analyse des mesures.....	77
IV.6.	Fréquence d'utilisation	78
V.	Conclusion	79

Table des figures

Figure 1 - Procédé de lyophilisation – Source : Référence (7)	27
Figure 2- Diagramme du point triple – Source : Référence (12).....	29
Figure 3 - Chambre de lyophilisateur industriel – Source : Référence (13).....	31
Figure 4 - Schéma de fonctionnement de la pompe à palette – Source : Référence (21).....	35
Figure 5 – Schéma de fonctionnement de la pompe Roots – Source : Référence (22)	35
Figure 6 - Schéma de fonctionnement d'une pompe à anneau liquide – Source : Référence (23).....	36
Figure 7 - Schéma de la cascade de la coagulation – Source : Référence (26)	39
Figure 8 – Exemple d'un condenseur latéral – Source : Référence (29)	43
Figure 9 - Représentation schématique des flux de chaleur et flux de vapeur d'eau – Source : Référence (43)	55
Figure 10 - Variation de température et pression durant un cycle de lyophilisation –	59
Figure 11 - Etapes de qualification – Source : Référence (7)	60
Figure 12 - Photo de flacons lyophilisés collapsés – Source : Référence (53)	67
Figure 13 - Structure chimique de l'huile silicone	73
Figure 14 - Schéma bloc de la spectrométrie de masse	74
Figure 15 - Photo du Lyoplus – Source : Référence (61)	75

Table des équations

Équation 1 - Calcul de F0	48
Équation 2 - Taux de fuite	50
Équation 3 - Puissance thermique, conduction.....	54
Équation 4 - Flux par unité de surface.....	54
Équation 5 - Loi de Fick, diffusion.....	54
Équation 6 - Détermination de la valeur du signal en ppm.....	77

Table des tableaux

Tableau 1 - Concentration maximale de particules totales autorisée - Source : Référence (1)	41
---	----

Liste des abréviations

AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
APS	<i>Aseptic Process Simulation</i> dit en français Simulation de Processus Aseptique
ATEX	Atmosphère Explosible
BPF	Bonnes Pratiques de Fabrication
CCS	<i>Control Contamination Strategy</i> dit en français Stratégie de Contrôle de la Contamination
CIVD	Coagulation IntraVasculaire Disséminée
CSP	Code de la Santé Publique
DM	Dispositif Médical
EFS	Etablissement Français du Sang
EPPI / WFI	Eau Pour Préparation Injectable <i>Water For Injection</i>
ER	<i>Engineering Run</i> dit en français Essais d'ingénierie
FAT	<i>Factory Acceptance Test</i> dit en français Test d'Acception en Usine
ICH	<i>International Council of Harmonisation</i> dit en français Conseil International d'Harmonisation
ISO	<i>International Organization for Standardization</i> dit en français Organisation Internationale de Normalisation
NEP / CIP	Nettoyage En Place <i>Cleaning In Place</i>
QC	Qualification de Conception
QI	Qualification d'Installation
QO	Qualification Opérationnelle
QP	Qualification de Performance
QRM	<i>Quality Risk Management</i> dit en français Gestion des risques qualité
RABS	<i>Restricted Access Barrier System</i> dit en français Système de barrière d'accès restreint
RGA	<i>Residual Gas Analysis</i> dit en français Analyseur de Gaz Résiduel)
SAT	<i>Site Acceptance Test</i> dit en français Test d'Acceptation sur Site
SEM	<i>Secondary Electron Multiplier</i> dit en français Multiplicateur d'Electrons Secondaires
SEP / SIP	Stérilisation En Place Sterilization In Place
SHT	<i>Sterile Holding Time</i> dit en français Temps d'Attente à l'Etat Stérile
TDLAS	<i>Tunable Diode Laser Absorption Spectroscopy</i> dit en français Spectroscopie d'absorption laser à diode accordable
TOC	<i>Total Organic Carbon</i> dit en français Carbone Organique Total
URS	User Requirement Specification dit en français Spécification des besoins utilisateur

UV	UltraViolet
WIT	<i>Water Intrusion Test</i> dit en français Test d’Intrusion à l’Eau

I. Introduction

Un des enjeux majeurs de l'industrie pharmaceutique est de fournir des produits de qualité au service de la santé publique. En effet, son rôle est de mettre à disposition des médicaments pour améliorer la prise en charge des patients. Dans ce contexte, lors de l'ouverture d'un nouveau site pharmaceutique, la qualification des équipements constitue une étape essentielle, conditionnant la mise en exploitation des installations et la production des premiers médicaments.

Dans un premier temps, cette thèse abordera le cadre réglementaire encadrant les activités de qualification, avec un focus sur la qualification des lyophilisateurs. Ces équipements jouent un rôle clé dans la fabrication de médicaments sensibles, tels que certains médicaments dérivés du sang comme le fibrinogène.

Dans un second temps, après les termes généraux, les différentes étapes de qualification d'un lyophilisateur seront présentées. Pour chacune d'elles, une identification de la méthode et une caractérisation des enjeux et des risques seront analysées.

Enfin, la dernière partie sera consacrée à l'utilisation d'un spectromètre de masse pour la détection de fuites d'huile de silicone dans l'enceinte des lyophilisateurs. Cet équipement permet de garantir l'intégrité du lyophilisateur et, par conséquent, la qualité du produit final. Cette problématique, récemment identifiée s'inscrit dans les exigences réglementaires en raison des risques associés.

L'objectif de cette thèse est de décrire l'ensemble des étapes permettant de qualifier un équipement tel qu'un lyophilisateur, tout en considérant les différents risques associés et les enjeux afin de répondre aux exigences d'un cadre réglementaire strict. La finalité étant la production de médicament répondant aux critères de qualité, de sécurité et d'efficacité pour le patient.

II. CHAPITRE 1 : Cadre réglementaire, procédés de qualification et application à l'industrie pharmaceutique

II.1. Réglementation

II.1.a. Généralités

Les produits pharmaceutiques sont soumis à des référentiels dont les plus connus sont les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) (1). Le but étant de maîtriser la production et la qualité des produits à usage pharmaceutique. Les BPF sont parues pour la première fois en 1978. Ce référentiel est applicable par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé (ANSM). Avec la mondialisation, une nécessité d'internationalisation de ces textes a été nécessaire. Ceux-ci, harmonisés, ont été créés par le Conseil International d'Harmonisation (ICH, dit en anglais *International Council of Harmonisation*). Effectivement, fondé en 1990, ce conseil a permis la création de lignes directrices appliquées par les autorités des différents pays adhérents. Cette organisation compte à ce jour 23 membres. Ces différents fils conducteurs sont regroupés en 4 catégories Q-S-E-M (*Quality – Safety – Efficacy – Multidisciplinary*, dit en français Qualité, Sécurité, Efficacité, Multidiscipline). (2)

II.1.b. Objectifs

Les BPF ont pour objectifs principaux d'assurer la qualité, la sécurité et la traçabilité des produits de santé. Ces derniers sont fabriqués de manière à répondre aux normes qualité requises. Ainsi, de nombreux contrôles s'appliquent, que ce soit pendant la production ou après. Également, un des enjeux est de réduire les risques de contamination, d'erreurs de fabrication ou encore de distribution afin de garantir la sécurité du patient, élément primordial. Enfin, toutes les étapes de fabrication et de distribution des produits doivent être tracées. L'intérêt étant de pouvoir identifier et corriger rapidement toute dérive ou évènement.

II.1.c. Principes fondamentaux

Les BPF se divisent en 4 grandes parties. La première concerne les « Bonnes Pratiques de Fabrication des médicaments à usage humain ». Elle est subdivisée en 9 chapitres. La seconde reprend les « Bonnes Pratiques de Fabrication pour les substances actives utilisées comme matières premières dans les médicaments ». Les « Documents relatifs aux Bonnes Pratiques

de Fabrication » font partis de la troisième partie. Enfin, la quatrième et dernière partie repose sur le « Guide des Bonnes Pratiques de Fabrication spécifiques aux médicaments de thérapie innovante ».

A ces 4 parties s'ajoutent 21 annexes, aussi appelées « Lignes directrices particulières ». De nouvelles exigences et clarifications destinées à la fabrication des médicaments stériles sont à prendre en compte avec la révision de 2022 de l'annexe 1 des BPF. Cette révision met en avant des notions tels que le *Quality Risk Management* (QRM, dit en français Gestion des risques qualité) ou encore la *Contamination Control Strategy* (CCS, dit en français Stratégie de Contrôle de la Contamination).

II.2. Définitions générales

II.2.a. Définition du médicament

Selon l'article L.5111-1 du Code de la Santé Publique (CSP), un « médicament à usage humain » est défini comme: « toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou pouvant lui être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier ses fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique. ».

(3)

Le médicament est composé d'un ou de plusieurs principes actifs ainsi que des excipients. Le principe actif est la substance conférant au médicament ses propriétés curatives ou préventives. Les excipients, quant-à-eux, sont toutes les substances autres que le principe actif, c'est-à-dire, ne possédant aucune propriété pharmacologique recherchée.

Afin d'être commercialisé, le médicament doit posséder une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM). Cette dernière est délivrée par une autorité compétente, après dépôt d'un dossier complet reprenant notamment des données concernant la qualité, la sécurité et l'efficacité du médicament. La validation du dossier d'AMM est sous la responsabilité de l'ANSM en France. Le dossier regroupe également des données sur les études pré-cliniques et

cliniques effectuées et sur le procédé de fabrication de la substance active. Cette AMM va également définir le périmètre du médicament : les indications et la population cible. (4)

Parmi l'ensemble des médicaments commercialisés, on retrouve des médicaments injectables.

II.2.b. Définition du médicament injectable

De par leur caractère injectable, ces médicaments sont à risque élevé pour les patients. Ils doivent alors répondre à des exigences supplémentaires, comme définies par les BPF.

La première exigence est la stérilité. Le médicament injectable doit être exempt de tout micro-organisme viable. Différentes techniques peuvent être utilisées afin de garantir la stérilité du produit. La filtration stérilisante se réalise avant la répartition. Le produit traverse un filtre dont les pores mesurent 0,22µm de manière à retenir les particules, les bactéries et les micro-organismes. L'autoclavage ou la stérilisation par la chaleur humide consiste à exposer les éléments à une température supérieure à 121°C pendant plus de 20 minutes. La stérilisation peut également se faire par chaleur sèche. Dans ce cas, l'exposition se déroule à des températures supérieures à 160°C pendant une durée prolongée. Deux autres modes de stérilisation peuvent être utilisés. D'une part, la stérilisation par irradiation utilise les rayons gamma, bêta ou ultraviolet (UV). Celle-ci est notamment utilisée pour les dispositifs médicaux (DM) ou les produits sensibles. D'autre part, la stérilisation chimique utilise des agents chimiques tels que l'oxyde d'éthylène.

La seconde exigence à respecter est le caractère apyrogène, c'est-à-dire, exempt de toute substance pyrogène (substance provoquant de la fièvre chez un individu), soit exempt d'endotoxines bactériennes. La méthode utilisée est la dépyrogénéation par la chaleur sèche à haute température. Il s'agit de chauffer, les conditionnements primaires par exemple, à plus de 250°C pendant plus de 30 minutes.

Enfin, la dernière exigence est l'absence de particule inerte (particule visible ou subvisible). Pour répondre à cette exigence, l'environnement de production est contrôlé et conforme aux normes ISO (*International Organization for Standardization*, dit en français Organisation Internationale de Normalisation), notamment la norme ISO 14644 concernant les « Salles

propres et environnements maîtrisés apparentés » (5). De plus, le produit est filtré avant le remplissage aseptique, et les équipements et matériels sont nettoyés rigoureusement.

Les médicaments injectables, devant répondre à un critère de stérilité, sont soumis aux recommandations de l'Annexe 1 des BPF. Cette dernière permet d'assurer une maîtrise de la contamination pour ce produit qui se veut plus à risque pour le patient.

II.2.c. Définition des médicaments dérivés du sang

L'annexe 14 des BPF est spécifique aux médicaments dérivés du sang. Selon la directive 2001/83/CE ils sont définis comme « des médicaments à base de composants de sang préparés industriellement par des établissements publics ou privés ». La fabrication des médicaments dérivés du sang intègre des étapes de fractionnement et de purification. Ces dernières sont essentielles afin de garantir l'absence de contamination virale dans notre produit final.

Le fractionnement consiste à séparer les composants du plasma par diverses méthodes physiques et chimiques. Après collecte du plasma par des centres de l'Etablissement Français du Sang (EFS), il arrive en poche au sein de l'industrie. Le plasma est congelé le plus rapidement possible après la collecte afin de préserver les protéines thermolabiles. La qualité du plasma répond à de nombreux critères de qualité et de sécurité biologique.

Le sang est composé de 50% de plasma, 42% de globules rouges et 8% de globules blancs. Le plasma est lui-même composé de 7% de protéines, 3% de sels, lipides et hormones et 90% d'eau. Parmi les protéines, on retrouve du fibrinogène, des facteurs de la coagulation, des immunoglobulines, de l'albumine (6). Ces protéines sont importantes puisqu'elles représentent la matière première de nombreux médicaments.

La première étape lors du fractionnement est la cryoprécipitation. Elle permet de séparer les facteurs de la coagulation d'une part (cryoprécipité) et les autres protéines d'autre part (cryosurnageant). Différentes techniques spécifiques peuvent être utilisées ensuite afin de récupérer la protéine d'intérêt. Cela peut être la précipitation éthanolique, la filtration, l'ultrafiltration ou encore la chromatographie.

Afin de sécuriser le processus de fabrication, des étapes d'inactivation virale sont intégrées au procédé de fabrication. Par exemple, on peut utiliser le chauffage à sec, la pasteurisation, le traitement solvant/détergent ou encore le pH4/pepsine. (6)

II.3. Qualification et Validation

II.3.a. Importance de la qualification

La qualification des équipements est une étape cruciale dans le cadre industriel. Elle permet de s'assurer du bon fonctionnement des équipements, de leur reproductibilité ainsi que de leur fiabilité afin de garantir la qualité du produit final.

II.3.b. Elaboration d'un cahier des charges

La première étape consiste en la rédaction du cahier des charges. Ce dernier a pour but de définir le besoin et les exigences de l'utilisateur. Il devra notamment définir les dimensions, les spécificités propres à l'installation, les capacités de production, les performances à atteindre, les critères d'acceptation et les normes à respecter. Également, on y intègre les spécifications concernant les utilités et la qualité exigée. C'est le document de référence tout au long de la qualification de l'équipement.

II.3.c. Qualification de la Conception (QC)

La Qualification de la Conception consiste à démontrer la conformité avec les BPF. Aussi les différentes exigences mentionnées dans le cahier des charges sont vérifiées. Cette phase implique l'analyse des plans, l'étude des spécifications fonctionnelles et techniques mais aussi l'évaluation des dispositifs de sécurité, de nettoyage, de maintenance et de contrôle.

II.3.d. Test d'Acceptation en Usine / Test d'Acceptation sur Site

Une fois le cahier des charges validé, l'équipement sera évalué chez le fournisseur. Ce sont les FAT (*Factory Acceptance Test*, dit en français Test d'Acceptation en Usine). Ces essais permettent de vérifier la conformité de l'équipement par rapport aux spécifications du contrat et du cahier des charges. Puis après réception sur le site, de nouveaux tests sont effectués, ce sont les SAT (*Site Acceptance Test*, dit en français Test d'Acceptation sur Site). Les tests sont

réeffectués dans l'environnement final afin de s'assurer que le trajet n'a pas eu d'impact sur l'équipement et qu'il est bien intégré à son environnement.

II.3.e. Qualification d'Installation (QI)

La Qualification d'Installation correspond à la vérification de la bonne installation de l'équipement par rapport aux schémas techniques et aux spécifications. Également, on contrôle la conformité par rapport aux critères prédéfinis, on récupère des informations concernant le fonctionnement, la maintenance, l'étalonnage ou encore la vérification des matériaux. Cette phase est essentiellement documentaire.

II.3.f. Qualification des Opérations (QO)

La Qualification des Opérations est effectuée soit après la Qualification d'Installation, soit en complémentarité de cette dernière. C'est la réalisation de tests à partir de la connaissance des procédés pour vérifier le bon fonctionnement de l'équipement lors d'un cycle mais aussi le fonctionnement des alarmes. Etape durant laquelle on confirme les limites inférieures et supérieures d'utilisation ainsi que la définition du *worst case* (les conditions les plus contraignantes).

Les FAT et SAT peuvent aussi être valorisées pour les QI/QO. Dans ce cas, les QI/QO prennent principalement la forme d'un travail de documentation visant à démontrer la conformité de l'équipement.

II.3.g. Qualification de la Performance (QP)

Différents essais sont réalisés dans les conditions de routine avec les tailles de lots *worst case* (le cas le plus défavorable correspondant le plus souvent au plus gros ou au plus petit volume). Cette phase démontre la performance de l'équipement vis-à-vis des exigences de production. Plusieurs essais consécutifs sont réalisés. On y mesure la variabilité et la reproductibilité des résultats. Cette phase est critique puisque c'est la dernière phase de qualification avant la production de routine.

II.3.h. Requalification

Afin de conserver l'état qualifié d'un équipement, des requalifications périodiques sont déroulées. La périodicité est définie dans les procédures internes. Cela permet de sécuriser le procédé et de détecter toute dérive potentielle. Ainsi, on peut prévenir les non-conformités et garantir la conformité de l'équipement.

II.3.i. Validation

La validation permet de démontrer que le processus global permet d'obtenir un produit conforme aux exigences définies, de manière répétable et maîtrisée. Pour cela, plusieurs lots consécutifs sont réalisés et analysés. Contrairement à la qualification qui porte sur un équipement, la validation porte sur l'ensemble du procédé.

II.4. La lyophilisation

II.4.a. Histoire de la lyophilisation

La lyophilisation permet à un produit de changer d'état, c'est-à-dire de passer d'un état liquide à un état solide (*figure 1*), en séchant le produit initial. (7)

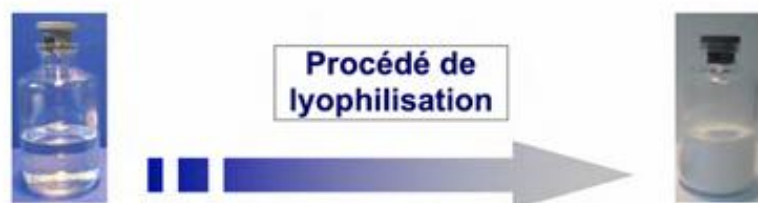


Figure 1 - Procédé de lyophilisation – Source : Référence (7)

Au commencement lors du XIII^{ème} siècle

Les débuts de la lyophilisation remontent au XIII^{ème} siècle. Les Incas, peuple d'Amérique du Sud, utilisaient cette méthode de déshydratation afin de conserver leurs pommes de terre. Ces aliments étaient laissés dehors toute la nuit, ils étaient alors congelés. Puis ils séchaient au soleil la journée. Le milieu naturel permettait de rassembler les conditions optimales pour « lyophiliser » ces aliments. Effectivement, alliant haute altitude donc basse pression et le soleil, l'eau présente dans les aliments pouvait successivement être congelée puis éliminée par

sublimation. Ainsi, la conservation de ces pommes de terre était améliorée par cette méthode. (8)

En passant par un développement industriel

La technique de la lyophilisation a été inventée par deux français : Arsène d'Arsonval et Frédéric Bordas, au début du XX^{ème} siècle. (9) Cette technique fut plus largement utilisée pendant la Seconde Guerre Mondiale. Effectivement, afin de conserver le plasma sanguin et les médicaments comme la pénicilline, pour le transport et le stockage, les américains ont eu recours à la lyophilisation. (8) Les astronautes ont également commencé à utiliser cette technique afin d'alléger le poids des repas à emporter dans l'espace. Puis il y a eu un déploiement plus large à échelle industrielle et agro-alimentaire avec par exemple le café lyophilisé.

Jusqu'à la lyophilisation aujourd'hui

La lyophilisation est, de nos jours, utilisée dans de nombreux domaines. En premier lieu, on note une forte utilisation dans le domaine agro-alimentaire. Elle permet de prolonger la durée de vie des aliments tout en préservant leur valeur nutritionnelle, leur goût et leur texture. Ainsi, on retrouve de plus en plus de produits lyophilisés, que ce soit pour la vie de tous les jours, comme pour les sportifs en recherche d'aliments faciles à transporter et légers. Également, on retrouve une large exploitation de ce procédé dans le domaine médical. La lyophilisation est utilisée aussi bien pour stabiliser des kits et réactifs de diagnostic que dans le domaine de la recherche et du développement. (10) L'industrie pharmaceutique, elle aussi, souhaitant améliorer la stabilité et la conservation de ses produits, va utiliser cette technique, notamment pour des produits initialement sensibles comme les vaccins, les protéines, les anticorps monoclonaux, les thérapies géniques ou encore les produits biologiques. (11)

II.4.b. Principe de la lyophilisation

La lyophilisation est un procédé qui permet de stabiliser un produit. Pour cela, un séchage du produit à basse température est effectué afin d'éliminer respectivement par sublimation puis par désorption, l'eau libre et l'eau liée présentes dans la solution aqueuse.

Différentes étapes s'enchaînent durant un cycle de lyophilisation. La première est la congélation. La solution passe d'un état liquide à un état solide. Ensuite, par augmentation de la température et sous des conditions de pression précises, a lieu la dessiccation primaire, ou sublimation. L'eau passe alors d'un état solide à un état gazeux. Enfin, la dessiccation secondaire, ou désorption, consiste à éliminer l'eau liée aux molécules de produit. On obtient alors un produit final dépourvu d'eau. Comme le montre le diagramme du point triple en *figure 2 (12)*, pour passer de l'état solide à l'état gazeux, les conditions de pression et de température doivent être définies, notamment, la pression doit être inférieure à 0,006 atm. Le point triple représente, thermodynamiquement, un point au niveau duquel l'eau se trouve dans les trois états de la matière, c'est-à-dire solide, gazeux et liquide.

En termes de correspondance, 1atm correspond à 101 325Pa et 1bar correspond à 100 000Pa. Le Pascal (Pa) étant l'unité du système international de mesure. Le bar est principalement utilisé en industrie, tandis que l'atmosphère (atm) est utilisée dans des contextes plus historiques ou scientifiques. En termes de comparaison, la pression atmosphérique est de $1,013 \times 10^5$ Pa.

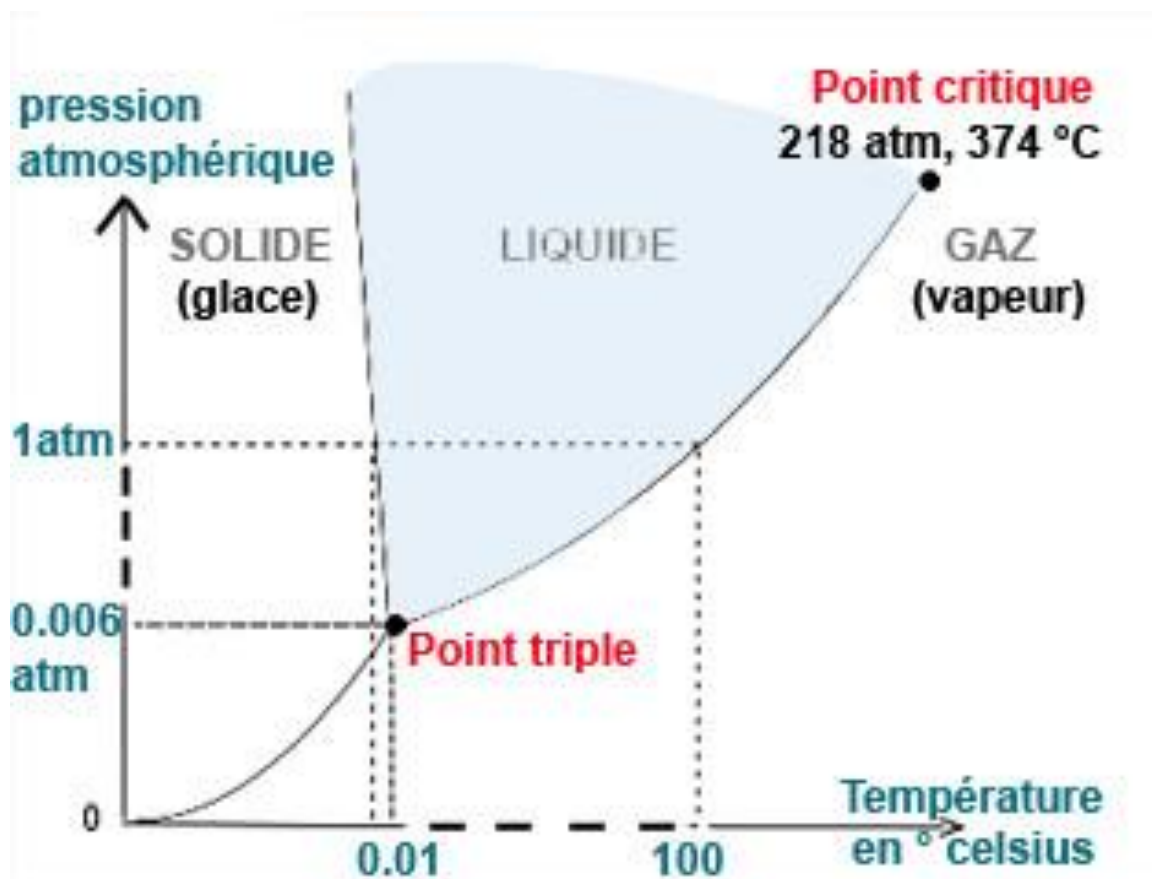


Figure 2- Diagramme du point triple – Source : Référence (12)

L'étape de lyophilisation est la dernière étape de la répartition, avant le sertissage du flacon et la mise en conditionnement. Cette étape est critique puisqu'une anomalie sur un cycle de lyophilisation peut entraîner un rejet du lot, une perte de matière coûteuse ou encore un rappel de lot. La lyophilisation nécessite des paramètres de pression, durée et température stricts et critiques. Cette étape va influencer directement la qualité, la stabilité et la sécurité du produit final. Une maîtrise de ce procédé, passant par une bonne qualification et validation du lyophilisateur, est primordiale.

II.4.c. Présentation d'un lyophilisateur – constituants

Enceintes principales

Les lyophilisateurs peuvent avoir des designs différents mais les constituants principaux restent identiques. (13) On retrouve, en premier lieu, la chambre du lyophilisateur (*figure 3* . C'est l'endroit dans lequel le produit à lyophiliser se trouvera. Elle contient plusieurs étagères en fonction de son dimensionnement ainsi que des capteurs de pression et température. Un mécanisme de mouvement des étagères peut être présent. Il sera utile pour boucher les flacons, si cette étape est réalisée à l'intérieur de la chambre du lyophilisateur, ou encore pour charger et décharger les flacons dans le cas d'un chargement et d'un déchargement automatique.



Figure 3 - Chambre de lyophilisateur industriel – Source : Référence (13)

Le deuxième élément primordial est le condenseur ; élément essentiel pour capter toute la vapeur d'eau éliminée. Ce condenseur se trouve soit au sein d'une autre enceinte, soit directement dans la chambre du lyophilisateur. Si le condenseur est dans une autre enceinte, il peut se situer sur le côté de la chambre du lyophilisateur ou en-dessous. Une vanne peut être installée entre les deux enceintes. La capacité du condenseur sera fonction de la quantité d'eau à éliminer et donc à piéger par cycle de lyophilisation. Celui-ci sera dégivré en fin de cycle afin d'éliminer toute l'eau condensée au cours du cycle.

Associé à ces deux éléments, on retrouve le système frigorifique permettant de refroidir les étagères afin de procéder à l'étape de congélation, mais aussi de refroidir le condenseur afin de condenser les vapeurs d'eau éliminées. Ce système frigorifique utilisera un fluide frigorigène. Le fluide frigorigène utilisé a besoin d'avoir un bas point d'ébullition, d'être azéotrope s'il s'agit de mélanges (c'est-à-dire un équilibre liquide-vapeur tel que le liquide et la vapeur aient la même constitution), avec une chaleur latente d'évaporation élevée, une température critique élevée, qu'il soit miscible aux huiles à basse température, neutre vis-à-vis de l'ozone atmosphérique, stable et non agressif vis-à-vis du personnel et des composants des circuits frigorifiques.

On peut noter deux températures importantes : la température de rosée et la température de bulle. La température de rosée est la température à laquelle apparaît la première goutte de liquide lors de la condensation de la vapeur. La température de bulle est celle à laquelle apparaît la première bulle de vapeur lors de l'évaporation d'un liquide.

Le système permettant la régulation de la température repose sur un fluide frigorigène et un fluide caloporteur. Le fluide caloporteur, en général l'huile silicone, circule dans les étagères, les parois et le serpentin du condenseur afin de permettre les échanges thermiques avec le produit ou de refroidir le serpentin du condenseur. L'huile silicone sera régulée en température grâce à l'azote liquide (fluide frigorigène) pour le refroidissement ou des résistances pour augmenter la température du fluide. Ainsi, le fluide frigorigène permet de produire le froid, alors que le fluide caloporteur permet de transporter le froid ou la chaleur en fonction de l'étape du procédé.

Il est important de prendre en considération les caractéristiques des fluides frigorigènes afin de faire le meilleur compromis entre les différents choix présents sur le marché. Tout d'abord, les hydrocarbures, comme l'éthane, possèdent un bas point d'ébullition, mais ils se veulent explosifs, et doivent donc être manipulés avec précautions en suivant la Directive ATEX (ATmosphère EXplosible). Ensuite, on retrouve des hydrocarbures halogénés, tels que les chlorofluorocarbures ou encore les hydrofluorocarbures. Ces derniers sont de moins en moins utilisés à cause de leur impact environnemental négatif, que ce soit sur la couche d'ozone ou

sur le réchauffement climatique. Des substances inorganiques pures telles que l'ammoniac, le dioxyde de carbone ou encore l'eau, sont également des fluides frigorigènes utilisés. (14) (15)

En revanche, l'azote liquide est un très bon choix de fluide frigorigène, permettant un compromis entre les différentes contraintes. Il est stocké liquide à -196°C et au-delà, il change vers un état gazeux (il récupère les calories du fluide caloporteur qui lui se refroidit). Les avantages de l'azote sont sa puissance disponible, une consommation de 11 à 17kg d'azote liquide pour 1 kg d'eau lyophilisée, une réduction des temps de refroidissement, un faible coût de maintenance, une faible consommation électrique, une installation silencieuse, un espace réduit, un respect de l'environnement et il ne nécessite pas de consommation d'eau de refroidissement. (16)

En fonction du fluide choisi, soit il circule en cycle fermé avec des changements d'état assurés par un condenseur et un évaporateur, soit il est consommé, nécessitant un approvisionnement constant.

Plus récemment, on a vu apparaître des lyophilisateurs dotés d'une technologie de refroidissement par l'air, gaz naturel. L'enchaînement de différents cycles de compression et détente permet de refroidir jusqu'à -100°C . Ainsi, son côté naturel permet un respect de l'environnement, tout en garantissant une efficacité de refroidissement qui se veut plus économique que l'azote liquide. (17)

Régulation de pression

Comme vu précédemment, la pression au sein des enceintes du lyophilisateur est un paramètre critique, qui influence le déroulement du cycle de lyophilisation. Ainsi, il est important de posséder un système de régulation de la pression. Pour cela, il est possible d'utiliser deux types de sondes différentes.

Le premier type est la jauge Pirani. Elle permet de mesurer la pression dans la chambre du lyophilisateur tout en étant sensible à la composition du gaz. En effet, elle possède un filament chauffé dont la résistance varie en fonction de la quantité de chaleur dissipée dans le gaz ambiant, étant donné qu'à basse pression le gaz évacue moins bien la chaleur. Elle permet alors d'estimer la phase du cycle de lyophilisation en détectant la vapeur d'eau présente. Par

exemple, la pression absolue sera plus élevée lors de l'étape de dessiccation primaire que lors de la dessiccation secondaire. (18)

Le second type est la sonde capacitive, comme la jauge MKS. Elle va mesurer la pression absolue par déformation d'un diaphragme métallique sous l'effet de la pression. La variation de résistance sera proportionnelle à la pression appliquée. Etant totalement indépendante de la nature du gaz, sa mesure sera plus précise et reproductible. (19)

L'utilisation de ces deux types de sondes peut-être complémentaire. Effectivement, les valeurs de pression convergent lorsque la quantité d'eau dissipée diminue. Ainsi, on peut définir avec précision la fin de l'étape de dessiccation primaire durant le cycle de lyophilisation. (20)

Mise sous vide

Pour atteindre la pression souhaitée, il est nécessaire de disposer d'un système de mise sous vide. Le vide correspond à une pression très basse, inférieure à la pression atmosphérique, qui est de 1 atm, soit 1,013 bar ou encore $1,013 \times 10^5$ Pa. On distingue alors la pression relative, dans ce cas, la pression atmosphérique est considérée comme nulle. La pression mesurée pourra donc être soit positive, soit négative relativement à la pression atmosphérique. Par exemple, une pression relative de -100 mbar, correspond à la pression atmosphérique à laquelle on soustrait 100 mbar. Concernant la pression absolue, elle tient compte de la pression atmosphérique. Elle correspond à la somme de la pression atmosphérique et de la pression relative.

Les pompes à vide vont permettre d'éliminer les particules de gaz présentent dans l'enceinte. Dans un processus de lyophilisation, il est nécessaire de pouvoir atteindre un niveau de vide de l'ordre du μ bar. Le premier type de pompe pouvant être utilisé est la pompe à palettes. Ce type de pompe est constitué d'un rotor, de palettes et d'un système de pompage. La rotation du rotor va permettre de créer une dépression au niveau du compartiment nouvellement créé, ce qui va permettre d'aspirer le fluide dans la chambre de la pompe. Toujours par la rotation du rotor, le fluide va se retrouver comprimé dans un faible volume, ce qui lui permet d'augmenter sa pression à une valeur supérieure à la pression atmosphérique. Ainsi, le gaz est refoulé vers l'extérieur par ouverture de la soupape de refoulement (*figure 4*). (21) Des pompes à vide à double étages peuvent être utilisées en lyophilisation pour atteindre des

pressions moindres dans la chambre du lyophilisateur. Effectivement, de par les étages successifs, l'efficacité du pompage est augmentée et la performance améliorée.

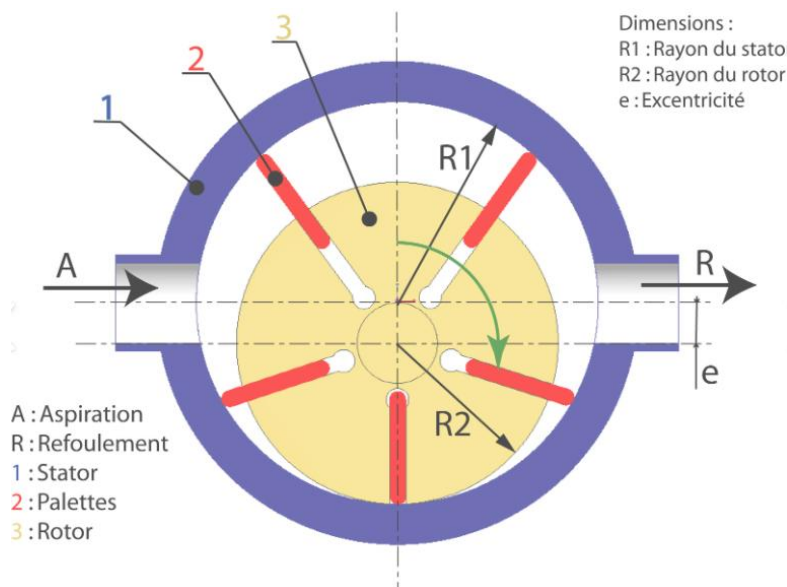


Figure 4 - Schéma de fonctionnement de la pompe à palette – Source : Référence (21)

Le second type de pompe est la pompe Roots. Elle est souvent associée à une pompe primaire, comme une pompe à palettes, pour atteindre des niveaux de vide poussés. Elle permet une capacité d'aspiration du gaz élevée, puis un refoulement de ce gaz vers la pompe primaire (figure 5). (22)

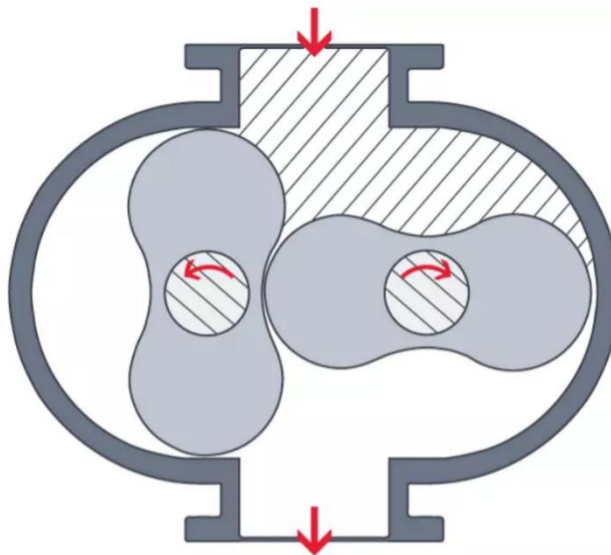


Figure 5 – Schéma de fonctionnement de la pompe Roots – Source : Référence (22)

Également, il existe la pompe à anneau liquide. Ce type de pompe est utilisée pour évacuer un mélange de gaz et d'eau, comme durant un cycle de stérilisation. Celle-ci nécessite une alimentation en eau pour fonctionner. Par rotation de la turbine, l'eau est centrifugée en périphérie formant alors l'anneau liquide. L'excentricité du rotor permet la formation d'espaces de volume variable entre les ailettes du rotor et l'anneau liquide. L'augmentation du volume de ces chambres permet l'aspiration du gaz, alors que leur réduction entraîne la compression du gaz puis son refoulement (*figure 6*). (23)

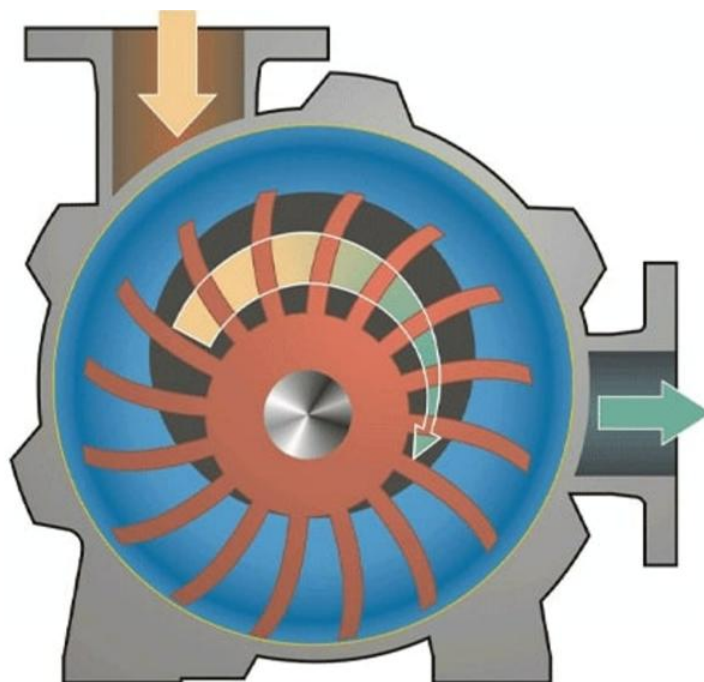


Figure 6 - Schéma de fonctionnement d'une pompe à anneau liquide – Source : Référence (23)

Un ajustement plus fin de la pression est réalisé grâce à l'azote gazeux. Ce gaz, inerte, n'interagit pas avec les produits lyophilisés, mais permettra d'augmenter légèrement la pression dans la chambre du lyophilisateur. Ainsi, la régulation de pression est précise et optimale et permet de répondre aux paramètres de pression définis dans la recette. L'azote sera également utilisé pour remonter à pression atmosphérique en fin de cycle, tout en maintenant la stérilité dans l'enceinte du lyophilisateur.

Filtration

L'environnement des flacons à lyophiliser doit être contrôlé pour garantir et conserver la stérilité du produit. Pour cela, deux filtres de 0,22µm sont situés en série afin de stériliser l'air

ou l'azote entrant dans la chambre du lyophilisateur. Ces filtres stérilisants garantissent une barrière efficace contre les particules et bactéries. Ils sont testés avant et après un cycle afin de s'assurer de leur efficacité.

II.4.d. Risques de contamination liés à la lyophilisation

Différents risques de contamination existent lors d'une étape de lyophilisation, dernière étape d'un processus aseptique, ayant un impact majeur sur la qualité du produit final et la sécurité du patient. Le premier risque identifié est un risque microbien. Lors de l'étape de lyophilisation, les flacons sont pré-bouchés : le produit stérile est exposé à l'environnement. Cet environnement doit être dépourvu de bactéries, virus, moisissures ou encore d'endotoxines afin d'éviter une contamination du produit injectable, qui par définition doit être stérile, exempt de particule et apyrogène. Une contamination particulière (verre, caoutchouc, particules présentes dans l'environnement) représente, également, un risque majeur pour le patient. Enfin, une contamination chimique est à surveiller. Cette contamination peut provenir d'une fuite du fluide caloporteur (soit d'huile silicone), d'agents de nettoyage ou de résidus des lots précédents. (24)

Le procédé de lyophilisation doit pouvoir maîtriser ces différents risques de contamination. La conception du lyophilisateur est primordiale afin de réduire les sources de contamination. Par exemple, le choix d'un système de chargement et déchargement automatique du lyophilisateur permet la maîtrise de la première source de contamination en environnement aseptique : une contamination humaine. Grâce à ce système, le chargement et le déchargement se déroulent sous un environnement de grade A pharmaceutique, selon l'annexe 1 et la norme ISO 14644-1, offrant une atmosphère très faiblement contaminée en particules et micro-organismes. Le lyophilisateur doit être nettoyé et stérilisé avant le chargement des flacons, de manière que les surfaces en contact avec l'environnement soient exemptes de toute contamination potentielle. En complément, les utilités tels que l'azote, la vapeur, l'air comprimé doivent être qualifiés afin de ne pas introduire de contamination chimique ou particulière. Concernant la contamination chimique par l'huile de silicone, une méthode de détection appropriée doit être mise en place pour détecter toute fuite d'huile présente dans l'enceinte du lyophilisateur. Enfin, si plusieurs produits sont lyophilisés dans un même équipement, le risque de contamination croisée sera à prendre en considération, et les

cycles de préparation du lyophilisateur devront être suffisamment robustes pour éliminer tout résidu potentiel du cycle précédent.

II.5. Exemple du produit « fibrinogène »

II.5.a. Le produit

Le fibrinogène est un exemple de produit lyophilisé afin d'améliorer sa stabilité et sa conservation. C'est une protéine fragile possédant une température de dénaturation de 94°C.

Le fibrinogène est le facteur I de la coagulation. Ainsi cette protéine sanguine est essentielle à la coagulation et à l'hémostase (processus permettant l'arrêt d'un saignement). C'est également un marqueur de la réaction inflammatoire. Le fibrinogène est fabriqué par le foie.

II.5.b. Son rôle

Lors d'un événement hémorragique, les plaquettes, présentes dans le sang, vont se lier au collagène de la paroi vasculaire. Également, on observe une libération de différentes molécules (facteur de Willebrand, ADP et thromboxane A₂), qui potentialiseront l'agrégation des plaquettes. Le fibrinogène se fixe aux plaquettes grâce à la glycoprotéine IIb/IIIa reliant les plaquettes entre elles.

La cascade de la coagulation permet de transformer la prothrombine inactive en thrombine active et cette dernière permettra au fibrinogène soluble de se transformer en fibrine insoluble et ainsi de gélifier le sang en formant un caillot insoluble (*figure 7*). (25) (26)

CASCADE DE LA COAGULATION

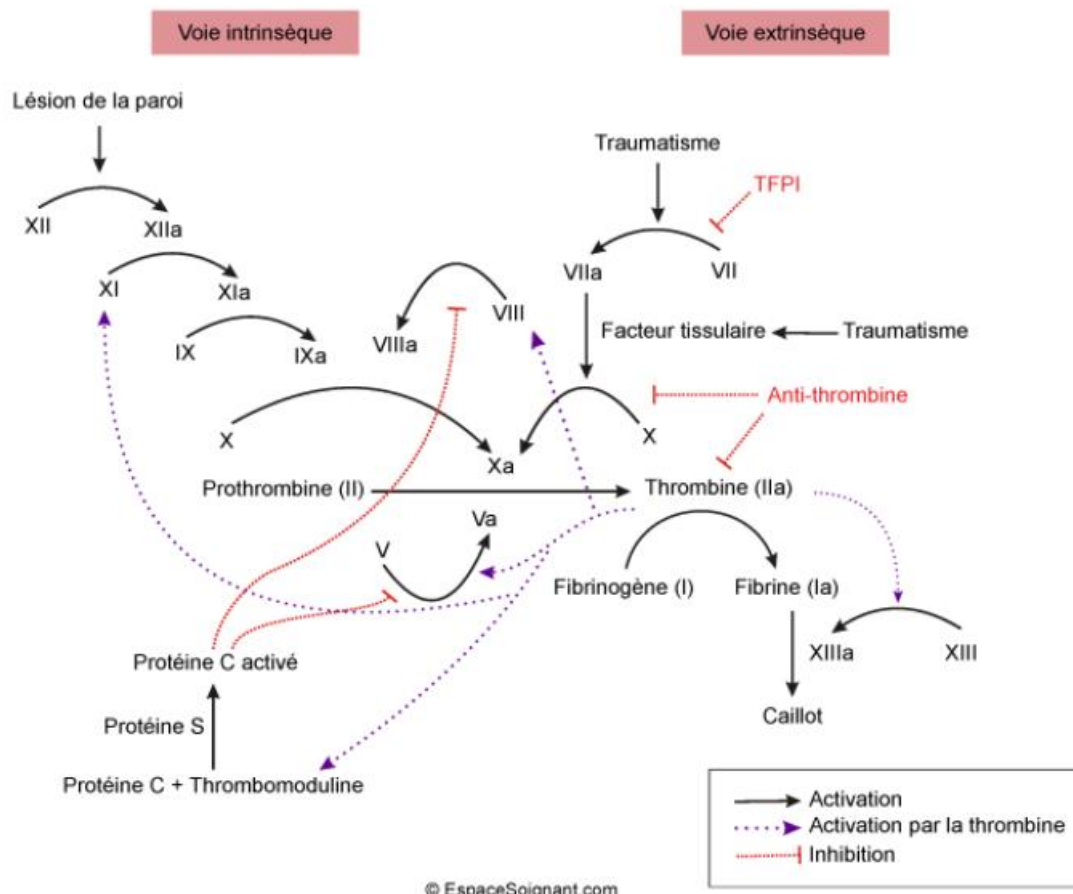


Figure 7 - Schéma de la cascade de la coagulation – Source : Référence (26)

II.5.c. Ses indications

Le fibrinogène est un médicament indiqué chez les patients atteints d'hypofibrinogémie constitutionnelle (taux < 1.5g/L pour une norme entre 2 et 4g/L), de dysfibrinogémie (fonctionnement anormal du fibrinogène) ou d'afibrinogémie (absence de fibrinogène), présentant une hémorragie. Il est également indiqué comme traitement complémentaire chez les patients ayant un taux de fibrinogène dans le sang inférieur à la normale (hypofibrinogémie acquise). (27)

Une hypofibrinogémie peut survenir dans différents cas. D'une part, une diminution de synthèse, dans les cas d'hypofibrinogémie congénitale, d'insuffisance hépatique ou encore de malnutrition sévère. D'autre part, d'une augmentation de la consommation en cas de fibrinolyse, de Coagulation IntraVasculaire Disséminée (CIVD) ou d'utilisation de médicaments thrombolytiques.

Certains patients peuvent être atteints d'afibrinogémie, c'est-à-dire l'absence de fibrinogène. C'est une maladie congénitale rare.

II.5.d. Sa production

Ce médicament est fabriqué à partir de plasma humain provenant de dons du sang. Avant la répartition aseptique du produit puis la lyophilisation, il y a différentes étapes de purification et de filtration du produit.

Après production, le fibrinogène se conserve pendant 3 ans (sous sa forme de lyophilisat) à une température inférieure ou égale à 25°C. Il doit être utilisé immédiatement après reconstitution à l'Eau Pour Préparation Injectable (EPPI). Également, il ne faut pas le congeler.
(28)

II.5.e. Place du lyophilisateur dans la fabrication du fibrinogène

Une fois le plasma isolé du sang, une extraction puis purification sont réalisées afin de récupérer la protéine d'intérêt : le fibrinogène. Une fois le fibrinogène récupéré en solution, de nombreuses étapes en amont de la répartition sont effectuées pour préparer le remplissage aseptique. Les cuves contenant le produit sont elles-mêmes nettoyées et stérilisées par des cycles de Nettoyage en Place (NEP) et Stérilisation en Place (SEP).

Tout d'abord, les flacons sont chargés et lavés. Ils passent ensuite dans un tunnel de dépyrogénéation afin d'éliminer les endotoxines bactériennes par exposition à une très forte chaleur. Les endotoxines bactériennes sont des pyrogènes, c'est-à-dire qu'elle provoque une forte fièvre chez les personnes à qui elles sont injectées. Les flacons arrivent ensuite sous Système de barrière d'accès restreint (RABS, *Restricted Access Barrier System*) ou sous isolateur. La différence majeure entre un RABS et un isolateur est son ouverture à l'environnement adjacent. Un isolateur est totalement clos, créant un espace indépendant pouvant être biodécontaminé tandis que le RABS est semi-ouvert, il dépend alors de la salle adjacente et de son niveau de propreté. L'intérieur d'un isolateur sera un environnement de classe A et la salle dans laquelle il se trouve pourra être de classe C. Un RABS lui sera également de classe A, mais la salle adjacente sera une classe B. Selon les BPF, 4 classes existent, de A à

D respectivement de la plus propre à la moins propre. Le nombre de particules en classe A ainsi que le nombre de contamination seront plus restrictifs, qu'en classe B, C et D selon le *tableau 1.(1)*

Classe	Nombre maximal autorisé de particules $\geq 0,5 \mu\text{m}/\text{m}^3$		Nombre maximal autorisé de particules $\geq 5 \mu\text{m}/\text{m}^3$	
	au repos	en activité	au repos	en activité
A	3 520	3 520	Non spécifié ^(a)	Non spécifié ^(a)
B	3 520	352 000	Non spécifié ^(a)	2 930
C	352 000	3 520 000	2 930	29 300
D	3 520 000	Non prédéfini ^(b)	29 300	Non prédéfini ^(b)

(a) Les particules de taille égale ou supérieure à $5 \mu\text{m}$, peuvent être prises en compte dans la classification lorsque cela est préconisé dans la CCS ou dans l'historique des tendances.

(b) Pour la classe D, les limites « en activité » ne sont pas prédéfinies. Le fabricant doit établir ces limites sur la base d'une analyse des risques et sur l'historique (données de routine), le cas échéant.

Tableau 1 - Concentration maximale de particules totales autorisée - Source : Référence (1)

La solution de fibrinogène présente en cuve va passer par un filtre stérilisant $0,22\mu\text{m}$ avant d'être répartie dans les flacons. Cela permet d'obtenir une solution stérile et exempte de particule, par réduction de la charge microbienne. Les flacons sont ensuite pré-bouchés et chargés dans le lyophilisateur. Une fois le cycle de lyophilisation terminé et les flacons bouchés, ils sont déchargés, capsulés afin de garantir leur intégrité et une dernière étape d'inactivation virale se déroule. Cette dernière étape de chauffage garantie la qualité du produit, provenant du sang, par inactivation virale.

L'étape de lyophilisation est donc une des dernières étapes de répartition aseptique du fibrinogène.

III. CHAPITRE 2 : La qualification d'un lyophilisateur

III.1. Spécification des besoins utilisateur

III.1.a. Définition du besoin

La première étape lors de la rédaction des Spécification des besoins utilisateur (URS, *User Requirement Specification*) est de définir le ou les produits à lyophiliser. Il faut alors prendre en compte la catégorie du produit (antibiotique, vaccin, composé sanguin...), sa stérilité et ses constituants. Ensuite, il faut évaluer le conditionnement prévu en termes de volume, de diamètre et de hauteur. Enfin, les tailles de lot, ainsi que les volumes de remplissage par conditionnement mais surtout la quantité d'eau à éliminer par cycle sont nécessaires pour définir le besoin final.

Lors de la rédaction de l'URS, il faut aussi s'intéresser au lyophilisateur en lui-même. Par les informations récoltées, il faut pouvoir définir la taille de l'équipement. De plus, les caractéristiques telles que le type de chargement et de déchargement, le design, les matériaux utilisés, les éléments de sécurité, de contrôle et de régulation, le système de refroidissement, de mise sous vide, de stérilisation et de nettoyage sont primordiaux. Ainsi, ces éléments permettront d'avoir un équipement adapté à l'environnement, aux locaux, aux produits et tailles de lots souhaités ainsi qu'aux performances attendues.

III.1.b. Dimensionnement d'un lyophilisateur

Pour dimensionner le lyophilisateur, il faut définir la surface totale occupée par l'ensemble des flacons d'un lot. En fonction de la surface occupée par un flacon (notamment le diamètre du flacon), on pourra déterminer la surface d'une étagère et le nombre d'étagères requis. Concernant la hauteur de la cuve, on tient compte de l'épaisseur du nombre d'étagères requises, de la hauteur du flacon et du bouchon ainsi qu'une marge définissant l'espacement entre chaque étagère.

L'emplacement et la capacité du condenseur sont à déterminer. Ce piège, ou condenseur, permet de capter la vapeur d'eau sublimée des flacons au cours du cycle. Ce condenseur doit avoir une place stratégique de manière à capter l'eau sans induire de rétro contamination du produit. Il peut être soit intégré à la chambre, permettant une configuration compacte, principalement pour les lyophilisateurs pilotes. Soit externe et latéral, comme le montre la

figure 8 (29), permettant une vidange de la glace facilitée et une optimisation du flux de vapeur, mais entraînant un encombrement bien plus important. De la même manière, il peut être situé sous la chambre du lyophilisateur, dans ce cas, l'espace en hauteur doit être bien plus important de manière à pouvoir contenir le condenseur et la chambre. La dernière possibilité est un condenseur distant, privilégié pour une production en continue avec plusieurs chambres de lyophilisation, cependant, une attention particulière est nécessaire concernant la tuyauterie afin d'éviter une condensation dans les tuyaux et un colmatage. Dans le cas d'un condenseur externe, le raccord entre la chambre et le condenseur doit être au plus court et le plus large possible pour favoriser le passage de la vapeur d'eau. Une vanne peut être intégrée entre ces deux enceintes pour les isoler l'une de l'autre si nécessaire.

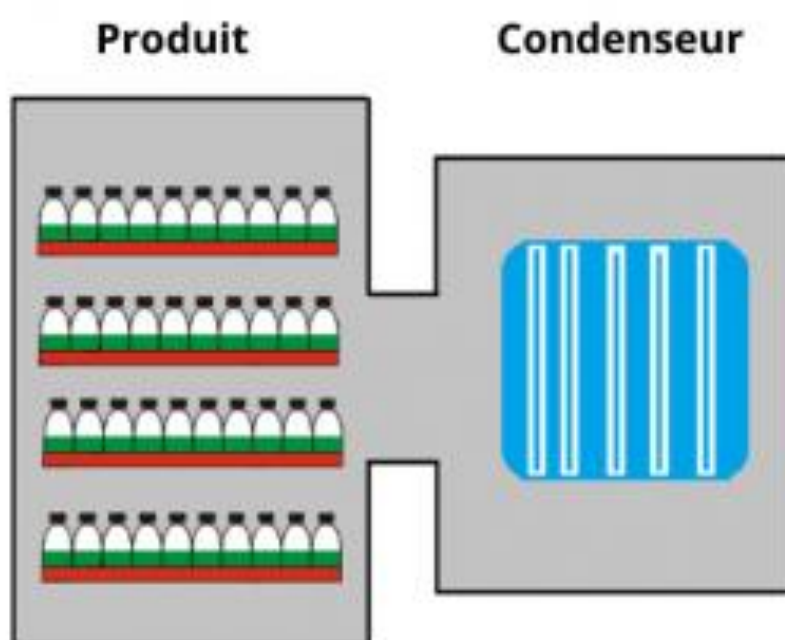


Figure 8 – Exemple d'un condenseur latéral – Source : Référence (29)

La capacité d'un condenseur se définit par la quantité maximale de glace qu'il peut piéger par cycle. Cette quantité est exprimée en litres ou en kilogrammes. Ainsi, cette capacité devra être supérieure à la quantité d'eau maximale sublimée lors d'un cycle. La pression dans le condenseur doit être inférieure à la pression dans la chambre permettant à la vapeur sublimée de se diriger vers le condenseur. La vapeur d'eau va alors être attirée par le serpentin ou parois du condenseur, dans lequel circule un fluide, régulant la température à une valeur extrêmement basse. La vapeur d'eau va se condenser pour former de la glace et ainsi être « piégée » au niveau du condenseur, protégeant ainsi la pompe à vide de la vapeur d'eau. Plus

la température du piège sera basse, plus la sublimation de la glace du produit sera rapide (généralement entre -60 et -80°C). (30)

En connaissant la teneur en eau libre du produit et la masse totale par flacon, on peut trouver la masse d'eau présente dans un flacon. Multipliée par le nombre de flacons dans un lot, et en prenant une marge de sécurité, on peut déterminer la capacité minimale requise pour le condenseur.

III.2. La qualification de la conception

Cette étape va permettre de détecter les non-conformités vis-à-vis de l'URS défini et des textes réglementaires. La première étape consiste en une revue de la documentation technique fournie par le fabricant. On peut contrôler les matériaux, les finitions, la séquence programmée, les exigences de sécurité, les plans ou encore les spécifications fonctionnelles. Elle garantit que l'équipement répond aux besoins de l'utilisateur, tout en garantissant un environnement sécurisé pour le produit et pour l'utilisateur.

Ainsi, grâce à la qualification de la conception, on va s'assurer que le lyophilisateur répond à son usage tout en respectant les Bonnes Pratiques de Fabrication, mais aussi, on pourra identifier des écarts entre les exigences de l'URS et la proposition du fournisseur. Après évaluation des impacts, échanges avec le fournisseur pour justifier les écarts, l'équipement peut passer à l'étape suivante de la qualification.

III.3. FAT/SAT

Une fois la solution proposée acceptée et conforme aux besoins et exigences réglementaires, l'équipement passe en étape de FAT. Ces tests ont lieu chez le fabricant de l'équipement, une fois la conception finie. On vérifie que le lyophilisateur construit répond toujours aux URS, plans approuvés durant la Qualification de la Conception et aux exigences réglementaires.

Les objectifs sont de s'assurer que l'équipement fonctionne normalement : le condenseur, les pompes à vide, les capteurs de pression et température, les automates. Il s'agit de vérifier aussi

l'automatisation de l'équipement en termes de séquençages d'un cycle, d'alarmes. Des cycles à vide sont lancés afin de détecter toute non-conformité.

Après les FAT, l'équipement est expédié chez le site client. Une fois le lyophilisateur installé, c'est l'étape de SAT. Il s'agit de contrôler que l'équipement reste conforme après installation et accordement aux utilités (eau, vapeur, vide, azote, électricité). Également, cela permet de s'assurer qu'aucun endommagement lié au transport n'est visible. De nouveaux essais à vide sont effectués, afin de contrôler que l'équipement monte en température, peut refroidir et qu'il peut aussi être mis sous vide. (31)

III.4. QI/QO

La qualification d'installation permet de vérifier la conformité aux spécifications de conception, notamment en vérifiant la conformité de la documentation et des plans. De plus, l'emplacement du lyophilisateur, sa mise en place, les raccordements électriques et aux fluides ainsi que la sécurité vont être contrôlés à cette étape. Les différents composants annexes au lyophilisateur seront aussi vérifiés, tels que le condenseur, les pompes à vide, les systèmes de nettoyage et de stérilisation (CIP/SIP), les réseaux d'alimentations en utilités (gaz, eau, vapeur). Les capteurs de pression et température sont calibrés et étalonnés durant cette étape. L'étalonnage va venir comparer les résultats du capteur à une référence connue et stable. L'objectif étant de déterminer l'écart entre la valeur mesurée et celle de référence. Cela permettra de calibrer le capteur, c'est-à-dire que le capteur va être ajusté afin de donner des résultats plus précis. La QI sert également à contrôler l'intégrité de chacun des éléments et plus spécifiquement l'étanchéité de la chambre du lyophilisateur.

Durant la qualification opérationnelle, on vérifie que l'équipement fonctionne conformément aux spécifications techniques. Ainsi, on vérifie de manière fonctionnel les différents éléments contrôlés durant la QI. A cette étape, on peut vérifier le fonctionnement des séquences de nettoyage et stérilisation, le contrôle des alarmes mais aussi l'utilisation de l'équipement aux limites basses et hautes définies (en termes de pression et température). La vérification de la répétabilité des cycles et de la conformité des appareils de mesure démontre alors que le lyophilisateur fonctionne correctement, de manière juste et répétable.

Les étapes de QI/QO peuvent, dans certains cas, n'être que documentaires. Dans ce cas, les résultats des FAT/SAT sont utilisés afin d'être valorisés comme preuves préexistantes de conformité technique et fonctionnelle. Cette valorisation permet d'optimiser le temps et les ressources grâce à l'utilisation de données issues des essais en usine et sur site, tout en garantissant la conformité réglementaire et la maîtrise du procédé.

III.5. Les cycles de préparation du lyophilisateur

III.5.a. CIP

Description du cycle

Le cycle de *Cleaning In Place* (CIP, dit en français NEP ou Nettoyage En Place) est un procédé de nettoyage automatique de l'enceinte du lyophilisateur. Son objectif est d'éliminer toutes les traces de corps étrangers et particules. Ce nettoyage est réalisé avec de la WFI (*Water For Injection* dit en français EPPI, Eau Pour Préparation Injectable). Ce cycle est généralement composé de plusieurs phases d'injection d'eau ou rinçage.

Validation du CIP

Une validation de nettoyage est effectuée au préalable. Elle permet de valider les paramètres du cycle. Pour cela, plusieurs cycles sont réalisés après souillage du lyophilisateur. A la fin de ces cycles, un contrôle visuel et une mesure de la conductivité et du Carbone Organique Total (TOC, *Total Organic Carbon*) des eaux de rinçage sont effectués. Ces mesures vont permettre de détecter des impuretés. (32)

La conductivité d'une eau de rinçage correspond à la capacité de l'eau à conduire un courant électrique, induit par la concentration en ions dissous. Si la conductivité est faible, cela signifie que la qualité chimique de l'eau est bonne, soit peu d'ions présents dans l'eau. Au contraire, en cas de conductivité élevée, une quantité importante d'ions est présente dans l'eau (acides, sels, bases, minéraux), signification d'une contamination ionique, soit des impuretés inorganiques.

Le TOC mesure la quantité totale de carbone présente dans l'échantillon d'eau. Ce carbone provient des composés organiques (protéines, sucres, lipides, alcool, détergent...).

Un cycle CIP robuste permet la suppression de contaminations organiques et inorganiques après nettoyage.

III.5.b. SIP

A la suite du cycle de nettoyage, le lyophilisateur doit être stérilisé ; c'est le *Sterilization In Place* (SIP, dit en français SEP ou Stérilisation En Place). L'objectif est ainsi de neutraliser les sources de contamination, notamment les micro-organismes pathogènes. Cette étape vise à garantir la stérilité des médicaments lyophilisés. Ce cycle commence par une phase de mise sous vide, permettant d'évacuer l'air. S'en suit une injection de vapeur, permettant d'atteindre une température minimale de 121,1°C pendant une durée variant de 15 à 30 minutes. Cette étape critique doit être contrôlée mais également validée au préalable. Ce maintien de la température supérieur à 121,1°C va permettre de maîtriser la stérilité de l'environnement, notamment par une réduction de la charge microbienne initiale. Au-delà de la réduction de la charge microbienne, le cycle de stérilisation permet d'éliminer les formes résistantes telles que les spores bactériennes. Après le plateau de stérilisation, une nouvelle étape de mise sous vide contribue à l'élimination de la vapeur et au séchage des filtres. La mise sous vide permet également le séchage de la chambre et du condenseur, qui seront refroidis par circulation d'huile silicone.

Le périmètre de stérilité sera défini durant les validations de stérilité. Ces essais, décrits au paragraphe *III.7.e*, vont délimiter la zone couverte grâce aux différentes sondes de température disposées. Ainsi, pour couvrir les tuyauteries, les filtres et les drains, des sondes de température devront y être disposés durant ces validations.

Lors de la réalisation de ces cycles de stérilisation, la température devra être monitorée aux points les plus froids, soit les points les plus critiques. L'objectif étant que l'ensemble de la zone stérile validée atteigne la température ainsi que le temps de maintien validés.

Le paramètre clé de la stérilisation est le F_0 . Ce paramètre, clé dans la validation des procédés de stérilisation par chaleur humide, quantifie l'effet létal total d'un cycle de stérilisation par chaleur humide. Le F_0 est exprimé en minutes et désigne la durée nécessaire à une température de référence (121,1°C) pour obtenir la même réduction du nombre de micro-organismes qu'un traitement donné à une température variable. Elle permet de réduire la

durée du plateau de stérilisation en augmentant la température, tout en conservant l'équivalence létale. Ainsi, le F_0 est utilisé pour comparer différents cycles : un F_0 de 3 indique un temps de 3 minutes à 121°C, équivalent à un temps de 12 minutes à 115°C.

Le F_0 est calculé selon cette formule :

$$F_0 = \sum 10^{\frac{T - 121}{z}} \cdot \Delta t$$

Avec F_0 : le facteur stérilisant en minutes

Δt : l'intervalle de temps entre 2 mesures de T

T : la température à l'instant t

z : le coefficient de température, généralement égal à 10°C

Équation 1 - Calcul de F_0

La valeur D-value, appelé temps de réduction décimale, est la durée nécessaire pour détruire 90% des micro-organismes d'un échantillon, à une température donnée. Ainsi, plus D est grand, plus le pourcentage de micro-organismes détruits est grand.

La valeur z , appelé facteur de résistance thermique, permet de montrer la variation de l'inactivation du micro-organisme en fonction de la température. Ainsi, un z de 10°C indique que la température doit être augmentée de 10°C pour réduire par 10 la D-value. Cette valeur de z indique alors la sensibilité du micro-organisme à la température. (33)

Pour un cycle de stérilisation d'un lyophilisateur, la valeur de F_0 recherchée est d'environ 15 permettant une réduction microbienne de 10^{-6} pour *Geobacillus stearothermophilus*.

III.5.c. Test d'intégrité des filtres

Le test d'intégrité des filtres permet de détecter une potentielle fuite au niveau du filtre 0,22µm situé en amont du lyophilisateur. Ce filtre permet de filtrer toute utilité arrivant au niveau du lyophilisateur. Ainsi, l'intégrité de ces filtres garantit l'absence de contamination de la chambre lors d'un cycle de lyophilisation. Ces filtres hydrophobes ou hydrophiles sont testés soit par diffusion soit par point de bulle soit par diffusion à l'eau. Ces tests sont non destructifs permettant un test avant et après utilisation.

Le test de point de bulle consiste à vérifier la pression requise pour évacuer le liquide présent dans les pores du filtre préalablement mouillé. En effet, une certaine quantité de liquide est retenue dans les pores d'un filtre après mouillage. Le fabricant définit une pression minimale requise pour évacuer ce liquide. Cette pression est directement fonction du diamètre des pores. Ainsi, si la pression utile pour apparition du bullage, soit la sortie de l'eau des pores, est inférieure à la pression de point de bulle spécifiée par le fabricant, cela peut signifier une membrane endommagée. Pour s'assurer que le problème vienne bien de la membrane, il est recommandé de vérifier que le liquide utilisé est celui recommandé, la température n'est pas trop élevée ou la membrane pas assez mouillée. (34)

Le test d'intégrité par diffusion consiste à mesurer un débit d'air diffusant à travers les pores préalablement mouillés. La diffusion des molécules de gaz à travers les pores suit la loi de Fick. Selon la loi de Fick, les molécules se déplacent d'une zone à forte concentration vers une zone à plus faible concentration. Ainsi, pour une pression donnée, on mesure le débit de gaz diffusant à travers les pores du filtre. Le débit mesuré doit être inférieur au débit spécifié. Si l'air diffuse trop rapidement, cela peut indiquer une membrane endommagée. (34)

Le dernier test pouvant être utilisé est le test de maintien en pression. Ce test est une variante du test de diffusion. Ce test peut être réalisé sous la forme de *Water Intrusion Test* pour les filtres hydrophobes (WIT, dit en français Test d'Intrusion à l'Eau). De l'eau est poussée vers le filtre avec de l'air comprimé process. On monte en pression jusqu'à un seuil défini puis on observe la chute de pression au niveau du filtre. Si la pression diminue, cela signifie que l'eau passe à travers la membrane. On mesure alors une chute de pression, qui doit être la plus faible possible. (34)

III.5.d. Test d'étanchéité

Le dernier test de préparation du lyophilisateur est un test d'étanchéité. Celui-ci permet de garantir l'intégrité du lyophilisateur par l'absence de fuite. Une fuite au niveau du lyophilisateur peut compromettre la stérilité par entrée d'air non filtré provenant de la zone autour de l'équipement. De plus, une fuite peut aussi interférer avec le cycle de lyophilisation pour lequel la pression et la température sont des paramètres cruciaux. Il est donc réalisé avant chaque cycle de lyophilisation.

Pour ce test, après mise sous vide de l'enceinte du lyophilisateur et arrêt des pompes à vide, on observe la remontée de pression. Une pression qui remonte indique une entrée d'air dans le lyophilisateur. Un taux de fuite est défini. Les BPF demandent à ce que ce taux de fuite soit justifié par une CCS. (35)

Le taux de fuite est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de fuite} = \frac{V \times \Delta P}{\Delta t}$$

Avec le taux de fuite en $\mu\text{bar.L/s}$

V le volume de l'enceinte en litres

ΔP le différentiel de pression en μbar

Δt la durée du test en secondes

Équation 2 - Taux de fuite

Les seuils maximaux se situent entre 10 $\mu\text{bar.L/s}$ et 50 $\mu\text{bar.L/s}$ en fonction du lyophilisateur, avec un seuil couramment utilisé de 20 $\mu\text{bar.L/s}$. Un seuil plus élevé doit être justifié et documenté dans la CCS. Une analyse de tendance est à réaliser afin de détecter toute dérive du taux de fuite lors des tests d'étanchéité.

En cas de fuite, les premiers éléments à vérifier sont les joints, les clamps, les portes, ainsi que toute connexion du lyophilisateur à un élément extérieur. Il faut aussi écarter toute augmentation du taux de fuite induite par une présence d'humidité dans le système.

III.6. L'étape de développement de cycle

III.6.a. Principe et intérêt

Un cycle de lyophilisation est spécifique du produit à lyophiliser. Ce procédé est complexe, il faut donc trouver le compromis parfait entre la qualité du produit, passant par l'apparence du cake, le temps de reconstitution, le taux d'humidité résiduelle et les autres critères vérifiés après un cycle de lyophilisation (voir paragraphe III.7.i) et les conditions optimales garantissant la robustesse, c'est-à-dire une durée de cycle idéale. Si le cycle est trop court, la qualité du produit risque d'être réduite. En effet, il restera sûrement de l'humidité résiduelle ce qui

engendra une mauvaise stabilité du produit et une dégradation de ce dernier. Au contraire, si le cycle est trop long, on aura une perte d'efficacité ainsi qu'un coût supplémentaire inutile. De plus, le cycle se doit d'être reproductible. Cela contribue au processus de qualité. Une fois le cycle validé, sa reproductibilité nous assurera un produit de qualité. (36)

Le principe du développement de cycle est de reprendre les différentes étapes du cycle de lyophilisation, et de modifier les paramètres de pression, température ainsi que les durées de chaque pallier afin de trouver les paramètres optimaux. Pour cela, il faut en premier lieu analyser les propriétés thermiques et physiques du produit à lyophiliser (la teneur en eau, la matière première, les excipients). Ces propriétés vont permettre de définir des points cruciaux que sont le point eutectique et la température de transition vitreuse.

Le point eutectique correspond à la température la plus basse à laquelle le produit congelé restera entièrement solide. Une fois cette température dépassée, la fusion du produit commencera, passant d'un état solide à un état liquide. C'est à cette température que les phases liquide et solide coexistent en équilibre. Ce point joue un rôle important durant la phase de sublimation primaire. En effet, l'eau doit passer d'un état solide à un état gazeux sans passage par l'état liquide, mais le produit lui doit rester à l'état solide. Un passage à l'état liquide, en dépassant le point eutectique, entraînerait une dénaturation du produit en endommageant les éléments sensibles à la chaleur (ce qui est le cas des protéines comme le fibrinogène) ou encore le maintien d'humidité à l'intérieur du flacon. Ainsi, durant la dessiccation primaire, il est nécessaire de rester à une température inférieure à cette température eutectique. (37)

La température de transition vitreuse, communément appelée T_g , est la température à laquelle un matériau amorphe, comme une protéine, passe d'un état vitreux rigide à un état plus souple, dit caoutchouteux. A l'état vitreux, le produit est stable car les molécules sont peu mobiles, alors que lorsque la température est supérieure à la température de transition vitreuse, les molécules seront plus mobiles et plus sujette à la dégradation. Ce phénomène s'explique physiquement par une diminution des liaisons intermoléculaires tels que les liaisons de Van der Waals. Cette température est primordiale pour le stockage du produit. (38) Il existe également la température de transition vitreuse de la phase gelée, ou T_g' . Cette température est importante durant la phase de dessiccation primaire, lorsqu'il reste de l'eau dans la matrice,

liée aux protéines d'intérêt et solutés. Au-delà de cette température, les risques de collapse sont plus importants. La température de collapse se trouve généralement un peu au-dessus de la T_g' . (39)

La nature du produit soit sa température de transition vitreuse peut se déterminer par la méthode *Differential Scanning Calorimetry* (DSC, dit en français Calorimétrie différentielle balayage). Cette méthode mesure un flux de chaleur en fonction d'une rampe température induite sur un échantillon en comparaison à une référence, le vide. Pour augmenter la précision, la mDSC (modulated, dit en français modulée) est privilégiée. Celle-ci permettra de différencier des transitions réversibles (transition de la glace d'un état à un autre) à des transitions non réversibles (comme lors d'une fonte eutectique où les cristaux fondent définitivement) étant donné les oscillations réalisées, en plus, en mDSC. Lors des différents événements, en fonction du caractère endothermique ou exothermique du processus et en fonction de la transition réversible (plusieurs pics) ou irréversible (un seul pic), on pourra déterminer l'évènement exact. Aussi, grâce à la cryomicroscopie, on peut déterminer la température de collapse (légèrement supérieure au T_g'). Grâce à cette technique microscopique, on peut visualiser des micro-effondrements, première étape d'un collapse. (39)

III.6.b. Méthodes de développement d'un cycle

Les paramètres d'un cycle sont étudiés en fonction de différents critères. Notamment durant l'étape de sublimation, la pression et la température doivent être choisies précisément étant donné que ces paramètres influent directement sur la qualité du produit.

Pour choisir les différents paramètres, de nombreux essais doivent être réalisés, en étudiant certains aspects du lyophilisat final. Les différents critères peuvent être l'humidité résiduelle du produit ou encore l'aspect du « cake ». Afin de déterminer les paramètres appropriés, soit une étude expérimentale est menée à l'aide d'équipements de laboratoire, soit des modèles sont utilisés, tels que le lyophilisateur SMART ou le LyoDriver. (40)

Pour réaliser une étude expérimentale en laboratoire, le recours à des lyophilisateurs pilote est nécessaire. Ces équipements possèdent de nombreuses sondes de température et

pression. Bien que de petite taille, les lyophilisateurs pilotes vont pouvoir reproduire les exigences des lyophilisateurs industriels, de manière à développer et optimiser les cycles industriels.

Des modèles existants sont aussi utilisés pour le développement d'un cycle de lyophilisation. La technologie SMART est basée sur un modèle de transfert de chaleur et de masse et est le résultat de nombreuses années d'études et d'observations. Avec cette technologie, le cycle pourra être optimisé grâce à des données d'entrée comme le nombre de flacons, le volume de remplissage, les caractéristiques du lyophilisateur et la température critique du produit telle que le point eutectique. Grâce à cette donnée critique et par le réglage de la pression dans la chambre du lyophilisateur, l'algorithme pourra déterminer la température cible du produit, maintenue sous cette température critique afin d'éviter le collapse. Un capteur de débit massique de vapeur d'eau par spectroscopie d'absorption laser à diode accordable (ou TDLAS Tunable Diode Laser Absorption Spectroscopy) peut être associé à cet algorithme. Ce capteur va pouvoir mesurer le flux de la vapeur d'eau et en déduire le taux de sublimation et la température produit, sans avoir recours à l'augmentation de la pression. Les méthodes traditionnelles, contrairement au TDLAS, mesurent le taux de sublimation en isolant temporairement la chambre du lyophilisateur, puisque la vapeur d'eau produite provoque une augmentation de la pression. (41)

III.6.c. Etude du flux évaporatoire

La sublimation permet le passage de l'eau d'un état solide à un état gazeux grâce à un apport de chaleur approprié. Au point triple de l'eau, soit à une température de 273,16 K et à une pression de 611 Pa, l'eau peut se trouver dans les trois états physiques que sont liquide, solide et gazeux. L'enthalpie de sublimation de l'eau, c'est-à-dire la somme des énergies internes nécessaires pour le passage d'un état solide à un état gazeux, au point triple, est de l'ordre de 2 800 kJ.kg⁻¹. Ce qui signifie que pour transformer 1 kg de glace en vapeur, dans ces conditions, il faut fournir 2 800 kJ. (42)

Afin d'apporter l'énergie nécessaire au changement d'état, un apport de chaleur est réalisé. Ce transfert de chaleur, de l'étagère du lyophilisateur au produit présent dans le flacon s'effectue par conduction. Par définition, la conduction thermique est un mode de transfert de chaleur

se produisant lorsque deux régions d'un même milieu ou de deux milieux en contact ont une différence de température. L'énergie se transmet alors sans déplacement de matière. La conduction est décrite par la Loi de Fourier. La densité de flux thermique est proportionnelle au gradient de la température. De plus, le transfert se fait des zones les plus chaudes vers les zones les plus froides.

$$\Phi = J.S$$

Avec Φ : la puissance thermique en W

J : le flux par unité de surface en $W.m^{-2}$

S : la surface en m^2

Équation 3 - Puissance thermique, conduction

Le flux par unité de surface est défini par :

$$J = -\lambda. \nabla T$$

Avec J : le flux par unité de surface en $W.m^{-2}$

λ : conductivité thermique du matériau en $W.m^{-1}.K^{-1}$

∇T : le gradient de température en $K.m^{-1}$

Équation 4 - Flux par unité de surface

Plus la conductivité thermique est faible, plus le matériau est isolant. Le gradient de température mesure la variation de température par unité de distance. Si la température varie de 100°C à 0°C sur un mètre, le gradient de température sera de 100°C/m.

Lorsque l'étape de sublimation débute, un transfert de matière du flacon vers l'enceinte du lyophilisateur s'opère. Ce transfert de matière suit la loi de Fick. Selon cette loi de diffusion, les particules se déplacent des zones concentrées vers les zones diluées.

$$J_m = -D\nabla c$$

Avec J_m : le flux massique en $kg.m^{-2}.s^{-1}$

D : le coefficient de diffusion en $m^2.s^{-1}$

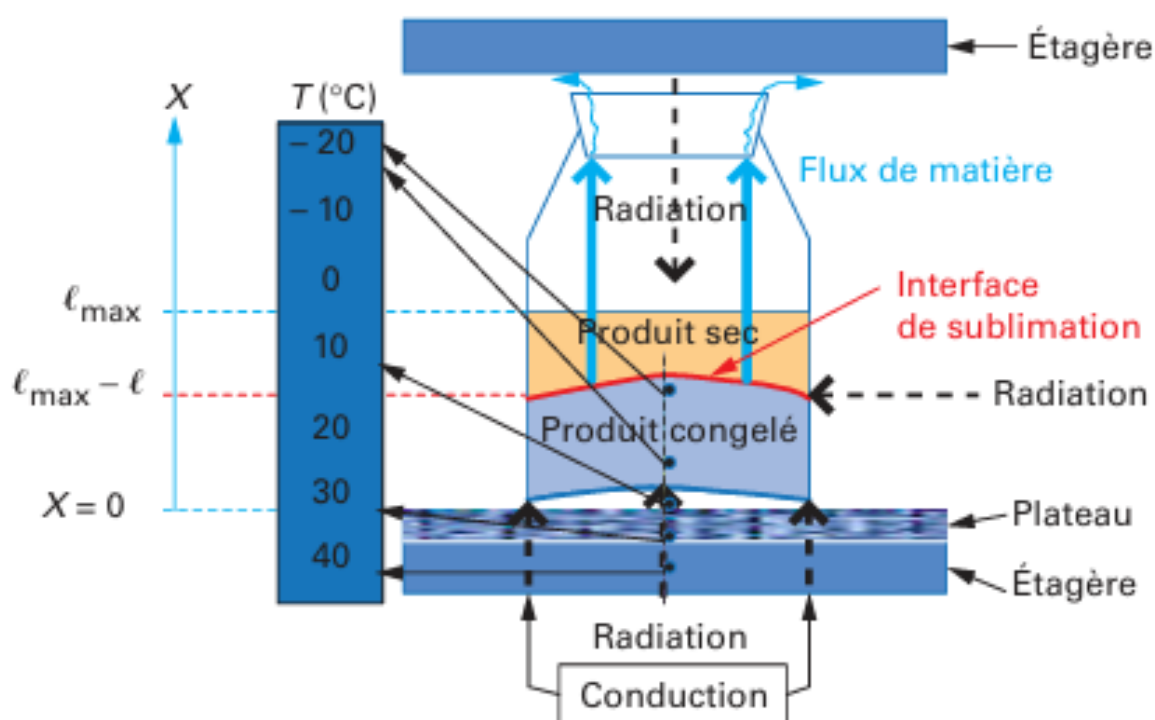
∇c : le gradient de concentration en $kg.m^{-4}$

Équation 5 - Loi de Fick, diffusion

La sublimation commence en surface du produit congelé vers le fond du flacon. Le front de sublimation sépare la partie sèche et la partie encore congelée. La vapeur d'eau passe alors par le produit préalablement séché afin d'être éliminée. La *figure 9* présente ce phénomène.

Pour application de la loi de Fick, au niveau du front de sublimation, la concentration en eau est élevée, par exemple $0,1\text{kg.m}^{-3}$. Si la surface sèche a une épaisseur de 5mm , le gradient de concentration sera alors de $0,1\text{kg.m}^{-3}/5 \times 10^{-3}\text{m}$, soit 20kg.m^{-4} . Le coefficient de diffusion se détermine de manière expérimentale ou par modélisation.

Dans le cadre de la lyophilisation d'un médicament, le flacon contenant le liquide à lyophiliser est pré-bouché. Ce bouchon est conçu et disposé de la sorte que la vapeur d'eau puisse être éliminée du flacon sans trop de résistance. (43)



Flux de chaleur : flèches en tiretés
Flux de vapeur d'eau : flèches bleues

Figure 9 - Représentation schématique des flux de chaleur et flux de vapeur d'eau – Source : Référence (43)

Les méthodes vues dans la partie *III.6.b Méthodes de développement d'un cycle*, permettent la quantification de ce flux de matière et permettent de suivre l'avancement du séchage et ainsi ajuster les paramètres du procédé.

III.6.d. Transposition industrielle

Après développement du cycle à échelle de laboratoire, il doit être optimisé pour être adapté à une utilisation industrielle. Différents facteurs influencent ce changement d'échelle. Tout d'abord, il faut tenir compte de la géométrie et la taille du lyophilisateur, influençant directement les variations de pression au sein de l'enceinte principale. Les transferts de chaleur vont être différents en fonction du fluide caloporteur utilisée et du design des étagères ainsi que de la circulation de ce fluide. Aussi, la configuration du condenseur et sa capacité peuvent limiter le transfert de matière des flacons vers celui-ci. Ainsi, le changement d'échelle nécessite de nouveaux essais et des ajustages de manière à adapter le cycle à ce nouvel environnement.

Les principales difficultés du scale up sont de réussir à homogénéiser la température et la pression dans une enceinte plus grande. En effet, lors de la transposition à échelle industrielle, il faut prendre en considération les capacités du lyophilisateur, les limites du condenseur ainsi que les facteurs limitant la performance.

III.6.e. Les différentes étapes et leurs impacts

Le cycle de lyophilisation comporte trois grandes phases. La structure finale du produit, son aspect, la stabilité et la durée de conservation sont directement impactés par ces grandes phases.

Le processus de lyophilisation génère automatiquement une hétérogénéité. Les flacons chargés ne recevront pas tous le même apport d'énergie, en fonction de l'emplacement en bord d'étagère ou au milieu d'une étagère, à l'entrée du fluide caloporteur ou à la sortie ou encore le positionnement du flacon par rapport au condenseur. Cependant, il faut pouvoir maîtriser cette hétérogénéité de manière à garantir la qualité du produit final.

La congélation, première étape, consiste à former des cristaux de glace. La structure et l'homogénéité de ces cristaux vont découler de cette étape. Elle est donc cruciale puisqu'elle influence directement la qualité du produit fini.

La cristallisation de l'eau est appelée nucléation. Ainsi, lorsque le produit descend sous 0°C, les premiers cristaux commencent à se former. Si le refroidissement se fait rapidement ($>1^{\circ}\text{C}/\text{min}$), un phénomène de surfusion peut se produire. Ce dernier apparaît lorsque la cristallisation se produit à une température inférieure à la température de congélation. Dans ce cas, la nucléation n'est ni contrôlée ni homogène. De nombreux petits cristaux se formeront. La présence de petits cristaux ralentit la dessiccation primaire par une plus grande résistance au transfert de matière (les pores étant plus petits, l'eau a plus de difficulté à s'échapper lors de la sublimation). Un ralentissement du refroidissement ($<0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$) diminue ce phénomène de surfusion. La congélation est alors plus rapide avec une apparition de cristaux hétérogènes à une température plus élevée. Ces cristaux se développent laissant apparaître de gros cristaux. Ces gros cristaux permettent un séchage plus rapide lors de la dessiccation primaire, mais la grande hétérogénéité peut impacter la stabilité du produit. Lors de ce phénomène, les solutés, devenant solide à des températures inférieures, peuvent être poussés à la surface, formant une sorte de « croûte », ralentissant le passage des vapeurs d'eau lors de la sublimation. (16)

Ainsi, l'objectif est d'avoir une nucléation homogène et reproductible. Ce phénomène est difficile à obtenir et est directement dépendant de la vitesse de refroidissement. Il faut pouvoir maîtriser la pente de refroidissement et éviter une descente trop rapide ou trop lente. Une des manières pour contrôler la nucléation est de pressuriser la chambre lors de la descente en température, puis de dépressuriser rapidement une fois la température de nucléation atteinte. (44)

La seconde étape est la dessiccation primaire. Le bon déroulement de cette étape est directement corrélé à la taille des cristaux formés lors de l'étape de congélation. Afin de sublimer la glace, la pression doit être diminuée de manière à ce que les conditions de passage de l'état solide à l'état gazeux soient réunies. Lors de cette étape, si la température est trop haute et dépasse la température critique ou que la pression dans la chambre remonte anormalement, on observerait une fusion et non une sublimation, réhydratant le produit et

entraînant un collapse. Le collapse se constate visuellement par un affaissement, des fissures ou un rétrécissement du cake.

Ainsi les deux grands facteurs jouant sur la température du produit et la vitesse de sublimation sont : la température des étagères et la pression dans la chambre.

La tension de vapeur à la surface du produit doit être supérieure à la pression dans la chambre du lyophilisateur afin de sublimer la glace. Cette tension de vapeur représente la pression de la vapeur d'eau en équilibre avec la glace située en surface. Elle est directement corrélée à la température du produit. Plus le produit sera chaud, plus la tension de vapeur sera élevée. Il ne faut pas non plus trop remonter la température du produit, de manière à rester en dessous de la température de fusion.

Pour le bon déroulement de cette étape, le choix de température du condenseur est importante. Ce condenseur est maintenue à une température extrêmement basse (inférieure à -60°C), permettant une tension de vapeur relativement basse, voire nulle. La vapeur d'eau, une fois sortie du flacon, viendra vers le condenseur, étant donné que la tension de vapeur au niveau du condenseur est inférieure à la pression dans la chambre du lyophilisateur. La température de ce condenseur étant inférieure à la température de condensation de l'eau, l'eau s'y condensera et passera ainsi de l'état de vapeur à un état solide.

Lors de la dessiccation secondaire, dernière étape, la température est la plus élevée possible et la pression la plus basse, afin de retirer les dernières molécules d'eau, adsorbées au produit. Cette étape permet ainsi d'avoir une eau résiduelle dans le produit la plus faible possible. Le risque majeur est de dépasser la température de fusion une nouvelle fois, réhydrater le produit et entraîner un collapse. De plus, il ne faut pas dépasser les limites de stabilité du produit afin de ne pas dénaturer les protéines, fragiles, ou diminuer l'activité du principe actif. Également, si la durée de ces étapes est insuffisante, on pourrait avoir une humidité résiduelle trop élevée et une diminution de la stabilité lors du stockage. (45)

Durant ces différentes étapes, afin de sublimer l'eau, un apport calorique est nécessaire. Celui-ci est réalisé par le biais des étagères, réglées en température durant l'entièreté du processus.

Le bouchage est réalisé, à la fin du cycle de lyophilisation, sous vide ou sous gaz inerte. Cela permet de conserver le produit dans son état de fin de lyophilisation. En effet, le contact du produit avec de l'air engendrerait une réhumidification du lyophilisat et son oxydation. Aussi, cela permet de préserver la stérilité du produit. Un bouchage réalisé sous vide facilitera la remise en solution, qui sera plus rapide et plus efficace.

L'ensemble des variations de température et pression durant un cycle sont schématisées dans la *figure 10*. (46)

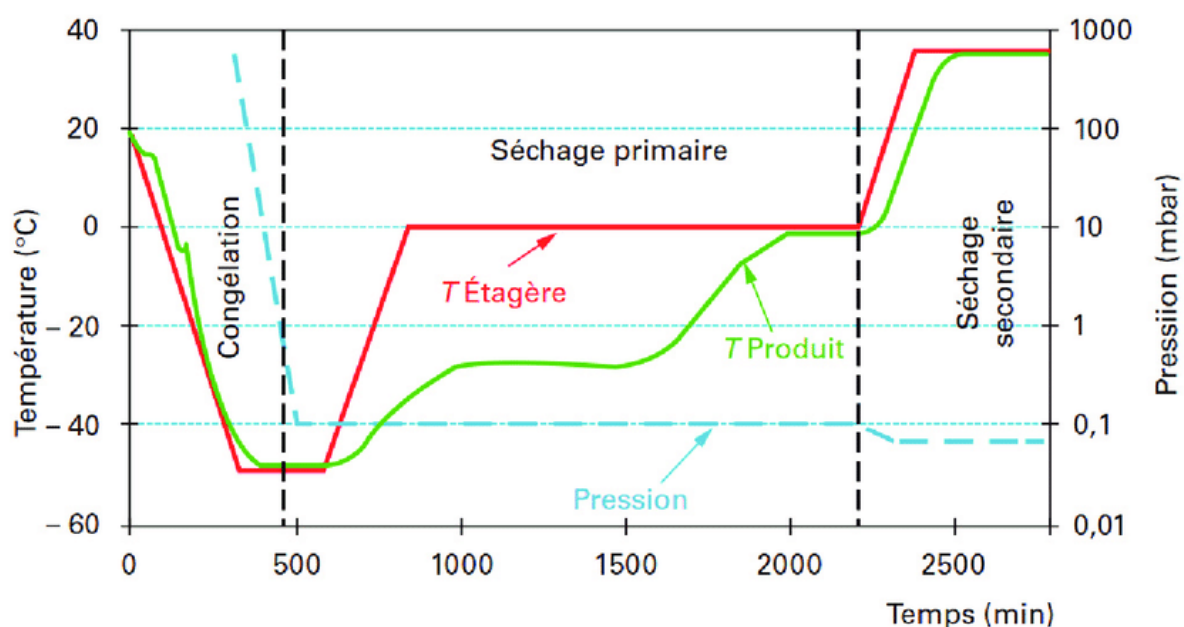


Figure 10 - Variation de température et pression durant un cycle de lyophilisation –
Source : Référence (46)

III.7. La qualification du lyophilisateur

III.7.a. Stratégie de qualification générale

La qualification d'un lyophilisateur passe par différentes étapes. Après l'étape de QI/QO, on aura l'étape de QP. Durant celle-ci, on procédera à la cartographie de la température des étagères et on définira le cycle « worst case », qui est le plus souvent un cycle avec une charge maximale.

Le procédé sera lui aussi qualifié, après l'étape de transposition industrielle, on effectuera une cartographie des températures produit.

Enfin, la dernière étape est la validation. Les cycles de validation sont la dernière étape avant la production de routine. Ils permettent de valider le procédé en réalisant de nombreuses analyses sur le produit. (figure 11) (7)

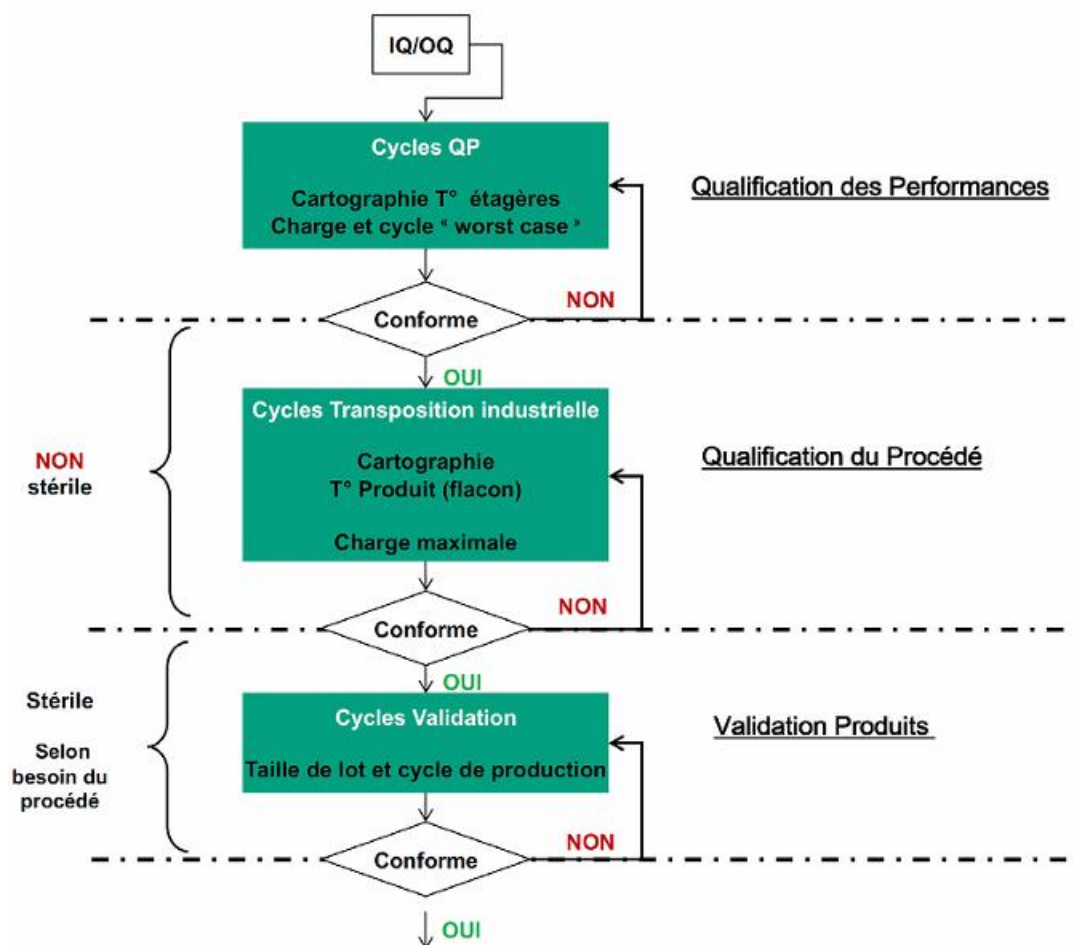


Figure 11 - Etapes de qualification – Source : Référence (7)

III.7.b. Cartographie de température des étagères

La cartographie de la température des étagères est une étape essentielle permettant de contrôler la température du produit ainsi que l'homogénéité thermique dans l'enceinte du lyophilisateur. Les échanges thermiques s'effectuent principalement par conduction à travers les étagères et les parois du lyophilisateur, grâce au fluide caloporteur qui circule dans ces derniers. En régulant précisément la température des étagères, on maîtrise la température du produit au sein des flacons. Les différentes phases durant le cycle de lyophilisation dépendent directement de la température du produit. Pour garantir l'uniformité du lot, il faut s'assurer de l'homogénéité de température sur les étagères ainsi qu'un transfert de chaleur efficace entre les étagères et les flacons.

Cette cartographie s'effectue, en premier lieu, à vide. Cela consiste à mesurer la température de surface des étagères du lyophilisateur, sans présence de flacons à l'intérieur. Cette cartographie permet de vérifier la bonne circulation du fluide caloporteur et l'homogénéité thermique au sein d'une même étagère et entre les étagères. Pour cette mesure, des sondes de température sont disposées à différents endroits du lyophilisateur, contre les étagères ou les parois. Les emplacements sont définis selon un mapping afin de couvrir les worst case et les best case. Cela signifie que l'on va disposer les sondes aux coins des étagères et au centre pour comparer les emplacements opposés.

Deux technologies de mesure de température existent : les thermocouples et les résistances à platine (de type Pt100 ou Pt1000). Le thermocouple est un capteur thermoélectrique constitué par l'assemblage de deux métaux dissemblables joints à une extrémité, formant une jonction chaude. Le gradient thermique entre la jonction chaude et l'autre extrémité, nommée jonction froide, génère une tension proportionnelle à la différence de température par l'effet Seebeck. Pour une sonde à résistance de type Pt100, la résistance d'un fil de platine variera proportionnelle à la température, cette variation étant linéaire. La mesure de cette résistance détermine précisément la température. (47)

III.7.c. Cartographie de température produit

De nombreux facteurs peuvent influencer l'homogénéité d'un lot. Durant les phases de qualification et même durant la production de lots commerciaux, des sondes de température peuvent être disposées dans certains flacons produit de manière à suivre la température du produit tout au long du cycle. Les sondes seront réparties dans différents flacons selon un plan défini afin de couvrir les points les plus opposés, ceux supposés être les plus froids et les plus chauds. Cette cartographie permettra de contrôler cette homogénéité, mais sera aussi utile durant le développement d'un cycle, de manière à réduire la durée du cycle sans compromettre la qualité du produit.

Concernant l'homogénéité, il faudra alors calculer les écarts de température maximum au sein d'une même étagère et entre les étagères, comme le suggère la norme ISO 13408-3. Ces écarts doivent être les plus faibles possible de manière à garantir une homogénéité dans l'entière du lot. Également, la température produit doit rester inférieure à la température critique. En

phase de qualification, la recette peut être ajustée de manière que la consigne des étagères permette de conserver le produit le plus chaud sous la température critique, et le produit le plus froid à une température permettant son séchage complet. En phase de routine, si les sondes sont toujours utilisées durant les cycles, le contrôle de ces températures permet de justifier le respect des températures durant tout le cycle et ainsi participe à la conformité du lot.

La recommandation est de réaliser au moins 5 mesures par étagères, de manière à couvrir les 4 coins et le centre de l'étagère.

La cartographie comprend le plan des sondes, des données et des statistiques ainsi qu'une justification des différents critères par le biais d'une analyse de risque.

Les sondes utilisées peuvent être filaire, type Pt100 ou thermocouple, ou alors sans fil, type data logger. Si la sonde est filaire, un flacon sonde, de la même taille que les flacons produit peut être utilisé. Celui-ci contiendra l'électronique de la sonde. Dans ce cas, un flacon intermédiaire doit être positionné entre le flacon produit et le flacon sonde. Celui-ci contiendra du produit mais limitera l'impact en termes de conduction de chaleur du flacon sonde par rapport à un flacon produit, et limite ainsi un biais possible sur la température mesurée. Les sondes utilisées doivent permettre de mesurer des températures très basses (inférieures à -60°C) et des températures plus élevées (supérieures à 70°C), mais aussi supporter la mise sous vide. L'utilisation de thermocouples filaires est plus fastidieuse et est de plus en plus remplacé par des data logger, soit des enregistreurs de données autonomes, ayant un coût plus élevé mais une flexibilité supérieure. (48)

III.7.d. Limite de capacité du condenseur

On peut vérifier la capacité d'un condenseur avec le test de sublimation d'eau pure. Ce test est un essai worst case étant donné qu'on lyophilise uniquement de l'eau. Ainsi, on va mesurer la quantité d'eau que le condenseur peut capter au maximum. Pour cela, on remplit soit des flacons, soit des plateaux avec de l'eau purifiée à un volume connu. Une fois l'eau chargée, on réalise un cycle permettant la congélation puis un séchage à basse pression.

A la fin de ce test, on compare la masse d'eau sublimée, que l'on peut calculer connaissant le volume initial, à la capacité du condenseur, donnée par le fournisseur. En connaissant le temps nécessaire, on peut déterminer un débit de sublimation en kg/h. Ce débit représente la performance du condenseur.

Durant ce test, il faut aussi surveiller que la pression dans la chambre et au niveau du condenseur reste stable. Une remontée de pression peut supposer une surcharge de vapeur, non condensée, et donc une limite du condenseur. Également, une remontée de température au niveau du condenseur suggère une surcharge en glace.

Si le condenseur a pu prendre en charge l'entièreté de l'eau sublimée sans anomalie, cela signifie que sa capacité est adaptée aux cycles de lyophilisation, possédant moins d'eau à sublimer. (49)

III.7.e. Validation de la stérilité

La validation de la stérilité permet de valider le cycle de stérilisation vu précédemment. Cet essai rassemble une cartographie de température et une analyse biologique. Les indicateurs biologiques contiennent une souche bactérienne *Geobacillus stearothermophilus* à une population de 10^6 à 10^7 spores par indicateur. Cette bactérie est thermophile, c'est-à-dire qu'elle se développe à des températures élevées, elle est aussi considérée comme le micro-organisme le plus résistant à la vapeur saturée. Ces indicateurs vont permettre de prouver l'efficacité du cycle de stérilisation par destruction de l'entièreté des spores bactériennes.

Ainsi, 3 cycles consécutifs sont réalisés relevant les points chauds et points froids et démontrant l'efficacité du cycle par absence de développement bactérien des indicateurs. Chaque indicateur biologique est associé à un thermocouple permettant de mesurer la température tout au long du cycle. Ils sont disposés dans le lyophilisateur et les tuyauteries représentant le domaine stérile de l'équipement.

A la fin d'un cycle, les indicateurs biologiques sont incubés. Si des spores bactériennes n'ont pas été éliminées par le cycle, un développement sera visible par changement de couleur. Un témoin positif est également incubé. Celui-ci n'aura pas été exposé au cycle, il doit présenter

un changement de couleur démontrant un développement bactérien. Les données de température sont analysées, et comparées aux sondes de température présentes au sein de l'équipement, afin de justifier d'un écart minimal entre ces deux données. Également, les points chauds et les points froids sont identifiés. Ces points permettront la régulation et le monitoring du cycle de stérilisation.

Selon la pharmacopée européenne, la durée d'exposition doit être au minimum de 18 minutes à 30 minutes à 121,1°C, de manière à avoir un F_0 supérieur à 18. (50)

Cette validation, à la suite des 3 runs consécutifs conformes, détermine un F_0 minimal à atteindre durant les phases de routine. Si le cycle de validation possède un plateau de stérilisation de 20 minutes, soit 20 minutes à 121,1°C, le F_0 sera de 20, il devra alors être supérieur à 20 sur les cycles de routine.

Plusieurs types d'indicateurs biologiques peuvent être utilisés. Les premiers sont sous forme de languette ou strip. Ceux sont des bandes de papier inoculées dans une enveloppe de glassine, qui est un type de papier perméable à l'eau, l'air et le gras. L'incubation se fait durant 7 jours à 55-60°C. (51) On peut aussi les trouver sous forme de tube dans lequel on trouve une ampoule en verre ainsi qu'un milieu de culture avec un indicateur de couleur pH. Cet indicateur change de couleur lors du développement des spores. Cet indicateur biologique est autonome, le résultat est lisible sous 24 à 72h. (52)

III.7.f. Stratégie de QP

Avant la fabrication de lots commerciaux, la dernière étape est la Qualification de Performance (QP). Elle suit les étapes d'*Engineering Run* (ER, dit en français, essais d'ingénierie). Ces essais sont des lots de production sans conformité aux BPF. L'intérêt est d'identifier les risques tout en optimisant le procédé et la recette, reprenant l'ensemble des paramètres de l'équipement. C'est durant ces essais que l'on pourra résoudre les problèmes rencontrés, avant de commencer les essais conformes aux BPF. Aussi, les paramètres critiques du procédé seront définis. Le nombre d'essais est variable, mais plus il y aura d'essais, plus on aura des données contribuant à l'amélioration du processus. Ces cycles réduisent coût et délais des étapes suivantes grâce à l'optimisation et la résolution des problèmes.

Pour les étapes de QP, un cycle de lyophilisation est réalisé, tout en surveillant les paramètres critiques définis durant les ER. Ces essais de QP sont couverts par un protocole et des fiches essais. Des sondes de température sont insérées dans certains flacons produit, de manière à suivre la température du produit tout au long du cycle. Aussi, de nombreuses analyses du produit vont contribuer à la conformité du cycle. Des cycles avec une charge maximale, c'est-à-dire avec toutes les étagères possédant des flacons avec du produit, mais aussi des cycles avec une charge minimale, soit une seule étagère complète, sont effectués. Cela permet de couvrir les différents cas de production, soit une charge comprise entre 1 étagère et l'ensemble des étagères du lyophilisateur.

Ainsi, pour une bonne exécution des QP, il est nécessaire d'obtenir un profil thermique, grâce aux sondes de température insérées dans le produit, et celles présentes dans l'équipement, la pression durant le cycle conforme à la recette, ainsi qu'une conformité des différents cycles de préparation. De plus, les flacons produit sont analysés pour justifier de la conformité du cycle, soit avec un taux de protéines totales, une teneur en eau et d'autres critères conformes. Aussi, des essais sur l'intégrité des flacons définissent le maintien de la stérilité et le maintien au vide à l'intérieur des flacons, ce qui contribue directement au maintien de la stérilité et à une bonne conservation, bien que pour ces essais, le respect de la stérilité n'est pas une obligation.

Plusieurs essais consécutifs conformes doivent être réalisés afin de justifier d'une reproductibilité des lots.

III.7.g. Paramètres suivis au cours d'un cycle de lyophilisation

Le déroulement d'un cycle de lyophilisation est suivi par l'intermédiaire de plusieurs paramètres : la température des étagères, la température du piège, la pression dans l'enceinte du lyophilisateur, et si possible la température du produit. Toutes ces valeurs sont interdépendantes. La température produit est la plus représentative du cycle de lyophilisation, mais dans les cas où celle-ci n'est pas disponible due à l'impossibilité de mettre des sondes de température dans le produit, il faudra se référer aux températures des étagères.

Concernant la température du produit, une remontée en température durant la phase de congélation est significative de la formation de cristaux.

Pour la température du piège, on peut observer un pic au moment de la mise sous vide, significatif du piégeage de l'humidité présente dans l'enceinte du lyophilisateur. Durant la sublimation, il est possible d'observer une légère remontée du fluide en sortie du condenseur, induite par la chaleur latente de condensation des vapeurs d'eau. A la fin du cycle, la température au niveau du condenseur est augmentée afin de procéder au dégivrage. La glace fond et est purgée.

La température des étagères, et notamment de chacune des étagères est utile en cas de constatation de défaut dans certains lyophilisats. En effet, il est nécessaire de vérifier l'homogénéité de température entre les différentes étagères. Si le fluide caloporteur n'a pas une température homogène, certains produits auront un échange thermique insuffisant pour éliminer l'eau présente dans le flacon sur la durée de l'étape de sublimation. Aussi, si de l'air ou un morceau de glace est présent dans le réseau de fluide, celui-ci peut s'opposer aux échanges thermiques, et empêcher le bon déroulement du cycle.

Le respect des différentes températures est dépendant du réseau de refroidissement du fluide caloporteur et de son chauffage. (16)

III.7.h. Evènements affectant le cycle de lyophilisation

Certains évènements peuvent affecter le produit. Ces évènements sont souvent liés aux paramètres de pression et température ou à des contraintes mécaniques.

Le premier évènement est le collapse, causé par un dépassement de la température critique du produit. Il est caractérisé par un effondrement de la structure du lyophilisat (*figure 12*). (53)



Figure 12 - Photo de flacons lyophilisés collapsés – Source : Référence (53)

Aussi, on peut avoir une humidité résiduelle trop élevée, en cas de séchage insuffisant. Soit le cycle est trop court, soit la pression est inadaptée, soit le piège est saturé. Une humidité résiduelle trop élevée augmente les risques de dégradation du produit au cours du stockage.

Un autre défaut concerne la présence de lyophilisat remontant jusqu'au bouchon. Cela peut se produire si le volume de remplissage est inadapté ou si du produit liquide atteint les parois lors de la répartition ou du cheminement des flacons jusqu'à l'intérieur du lyophilisateur. Sous des conditions de pression et température inadaptées, le produit peut remonter le long des parois par capillarité lors de la sublimation. La présence de lyophilisat au niveau du bouchon peut entraîner une perte d'étanchéité, ayant un impact direct sur la stérilité du produit. Le choix du contenant et du bouchon peut influencer ce phénomène. La propriété hydrophobe de ces derniers limitera ce phénomène. (54)

Durant l'étape de bouchage, un phénomène appelé «sticky stopper » désigne une adhérence des bouchons aux étagères, entraînant un soulèvement des flacons concernés. En effet, le bouchage est réalisé par descente des étagères, de manière à enfoncer les bouchons des flacons situés sur l'étagère inférieure, puis par remontée progressive des étagères. Le soulèvement des flacons peut entraîner leur casse lorsqu'ils retombent sur l'étagère. Ce

phénomène peut être limité grâce aux bouchons utilisés, ou par une remontée plus progressive et une température des étagères plus adaptée. (54)

Aussi, une perte d'intégrité peut survenir à cause d'un défaut de bouchage ou d'un défaut dans le contenant. Un test d'intégrité des contenants (CCIT, soit Container Closure Integrity Testing) permet de contrôler l'étanchéité des contenants par une méthode de détection du vide.

Un autre évènement connu de l'industrie pharmaceutique est les casses flacons lors du processus de lyophilisation. L'apparition de casse est multifactorielle et aléatoire. Elle peut dépendre de la fragilité du contenant, des contraintes exercées sur le flacon, l'impact du chargement, déchargement ou encore la robustesse des flacons. (55) Une congélation inadéquate ou encore une variation brutale de la température, associé à un verre déjà fragilisé augmente le risque de fissure et de casse des flacons.

III.7.i. Critères d'acceptation d'un produit lyophilisé

Plusieurs critères sont utilisés afin de statuer de la conformité d'un produit lyophilisé. Le premier étant l'aspect du produit. Des critères d'acceptabilité concernant l'aspect du lyophilisat sont à définir, tels que la couleur, la densité, l'uniformité, l'intégrité, l'absence de fissures ou d'effondrement. Toute unité présentant un défaut sur l'aspect physique du cake doit être écarté. Ces défauts peuvent être signe de dégradation, d'humidité, et donc de mauvaise qualité du produit, pouvant engendrer un manque de stabilité du produit lyophilisé.

Le deuxième critère est le taux d'humidité résiduelle. Ce taux doit être acceptable de manière à éviter la dégradation du produit durant le stockage. L'humidité résiduelle doit être déterminée par le biais d'études de stabilité. Aussi, il faut s'assurer de l'homogénéité de cette valeur au sein des flacons situés à des emplacements extrêmes dans le lyophilisateur. De manière générale, cette valeur n'excède pas 1% en masse du produit total. Ce critère est aussi significatif d'un cycle de lyophilisation efficace, permettant une élimination quasi-totale de l'eau produit initialement.

Le temps de reconstitution est également déterminé durant des études. C'est le temps nécessaire pour remettre en solution le lyophilisat. Ce temps doit être reproductible sur les différents cycles de validation. Il dépend des excipients présents initialement dans la solution, et sera utile pour l'administration du médicament. En effet, plus ce temps est court, plus l'administration sera facilitée. Aussi, durant la reconstitution, aucun agrégat ne doit être visible. La présence d'agrégat est dangereuse pour l'administration au patient. (56)

Des études de stabilité définissent les conditions de stockage du produit une fois lyophilisé, en termes de durée, température, humidité et toute autre condition permettant une conservation sans perte de stabilité, ni sans perte d'activité du principe actif.

Le produit étant stérile, aucune contamination microbienne ni particulière ne sont tolérées.

Pour des produits plasmatiques, le taux de protéines totales ainsi que le taux de la protéine concernée sont également des critères essentiels. Dans le cadre du fibrinogène, le taux de fibrinogène coagulable sera défini. Le fibrinogène coagulable est la fraction fonctionnelle du fibrinogène, qui aura un intérêt thérapeutique, c'est-à-dire qui pourra se transformer en fibrine et participer au processus de coagulation du patient. Le fibrinogène coagulable doit représenter une grande partie du fibrinogène total afin de s'assurer de l'activité du médicament produit.

Ces différents critères sont vérifiés durant les phases de qualification, permettant de statuer de la conformité du cycle de lyophilisat et de la qualité du produit final.

III.7.j. Validation du procédé aseptique

Le procédé aseptique doit être validé par le biais d'*Aseptic Process Simulation* (APS, dit en français Simulation de Procédé Aseptique). C'est une simulation complète du procédé aseptique de production, y compris la lyophilisation pour valider le contrôle et l'absence de contamination microbienne lors d'une répartition. Pour cela, du Bouillon Trypticase Soja est utilisé. C'est un milieu de culture universel utilisé pour la croissance de bactéries, levures et moisissures en aérobiose, soit avec présence d'oxygène. Lors de cet exercice, on simule les différentes manipulations réalisées en production et les conditions worst case. À la suite de

cette répartition, les flacons sont incubés puis inspectés visuellement. Tout développement microbien sera observable par l'apparition d'un trouble. (57)

Cette étape garantit l'asepsie de l'environnement de répartition et ainsi la stérilité des flacons répartis y compris durant l'étape de lyophilisation. Bien que représentatives, ces étapes ne peuvent pas garantir la stérilité d'un lot réparti à un autre moment. En effet, la contamination peut provenir de l'environnement, des opérateurs, des équipements, des surfaces... Ces paramètres étant variables, de nombreux contrôles supplémentaires doivent être mis en place.

Durant les APS, des *Sterile Holding Time* (SHT, dit en français Temps d'Attente à l'Etat Sterile) vont être définis. C'est le temps maximal validé durant lequel un équipement ou une charge stérilisée reste à l'état stérile avant utilisation. Afin de démontrer la performance aseptique d'une nouvelle installation, trois APS consécutifs validés doivent être réalisés. Une validation périodique doit être réalisée afin de couvrir la période de production réalisée. (58)

III.8. Recommandations et requis de l'annexe 1

III.8.a. Ancienne version

L'annexe 1 des BPF concerne les médicaments stériles. Elle est parue pour la première fois en 1996. Par la suite, on compte trois révisions : 2003, 2008 puis la nouvelle version applicable depuis 2022. La version de 2008 décrit uniquement les conditions de transferts avant et après lyophilisation ainsi que le contrôle du maintien du vide si le scellage se fait sous vide. (59)

Tout d'abord, l'annexe 1 demande dans l'item 34, à ce que le chargement de produits non bouchés, tels que les produits avant lyophilisation, soient transférés dans un environnement de classe A, comme sous un isolateur. L'item 116 indique également qu'avant le bouchage complet, les flacons lyophilisés restent dans un environnement de classe A. Enfin, la dernière précision concernant la lyophilisation, item 123, se base la vérification, après une durée définie, de l'étanchéité du flacon scellé sous vide. Cela permet de s'assurer du maintien de la qualité et de la stérilité du produit. (60)

III.8.b. Nouvelle version

La nouvelle version de l'annexe 1 de 2022 se veut plus précise concernant l'étape de lyophilisation. Dans la partie 6 « Utilités », la mise en place d'un système empêchant le reflux, lorsque le système de mise sous vide est à l'arrêt, est requis (item 6.20). Concernant les systèmes de chauffage, de refroidissement et hydrauliques, ils doivent se trouver à l'extérieur de la salle de répartition et la contamination croisée associée à ces fluides doit être maîtrisée (item 6.21), tout comme les fuites engendrant un risque pour le produit doivent être détectables (item 6.22). Ces points ont pour but de contrôler et protéger l'environnement stérile de toute contamination physique, chimique ou encore microbiologique.

La partie 8 « Production et technologies spécifiques » intègre la recommandation de système de chargement automatique du lyophilisateur, dans le but de réduire les interventions en classe A (item 8.9). Ce point est repris également dans le tableau récapitulatif des opérations à réaliser en classe A (item 8.10). De la même manière que dans la version de 2008, il est demandé de vérifier le maintien sous vide des récipients lyophilisés, une fois scellés. Ensuite, le processus de stérilisation de la chambre du lyophilisateur doit se réaliser une fois l'air présente dans l'enceinte, éliminée (item 8.61). Pour cela, l'étape de stérilisation doit succéder une mise sous vide. Toujours concernant la stérilisation, la limite de stérilisation doit être prouvée grâce à une étape de validation de stérilisation. Cela permet de vérifier que toutes les zones comprises dans cette limite de stérilisation voient bien la vapeur et atteignent la température requise durant le temps défini. De plus, le choix de l'emplacement des sondes doit être cohérent aux essais réalisés en amont, notamment en reprenant les zones les plus froides. Aussi, après stérilisation, il faut éviter toute recontamination, soit en utilisant un filtre stérilisant de 0,22µm lors d'un équilibrage de pression, soit en appliquant une légère surpression dans l'enceinte, empêchant alors l'air extérieur de contaminer l'environnement stérilisé, si présence d'une fuite. (Item 8.63)

Une partie complète est même dédiée au processus de lyophilisation. En premier lieu, la lyophilisation est décrite comme une étape « critique ». Dans ce sens, il est nécessaire de maîtriser la stérilité du produit et du matériel durant cette étape, afin d'empêcher une contamination microbiologique et particulaire (item 8.121). Le lyophilisateur doit être stérilisé et le temps maximal défini entre la stérilisation et la lyophilisation doit être déterminé durant les *Aseptic Process Simulation* (APS, dit en français Simulation de Procédé Aseptique) (item

8.122). L'opérateur doit limiter au maximum son intervention pour le chargement et le déchargement du lyophilisateur. En cas d'opérations manuelles, le lyophilisateur devra être stérilisé avant chaque chargement. Sinon, la fréquence est définie et documentée par la CCS (item 8.123). Concernant les cycles de préparation du lyophilisateur, il est nécessaire de maintenir l'intégrité du lyophilisateur, de la stérilisation à la fin de la lyophilisation. Pour cela, il faut vérifier l'intégrité du filtre, filtre qui sera stérilisé au préalable. Également, le test d'étanchéité, ou test de fuite, doit être réalisé à fréquence définie et la valeur du taux de fuite maximal autorisé doit être vérifié avant chaque cycle (item 8.124). Il faut aussi vérifier le bon état des plateaux du lyophilisateur (item 8.125). Enfin, une description claire du processus de chargement est explicitée, en allant du schéma de chargement, soit la disposition des flacons à l'intérieur du lyophilisateur, au transfert des flacons pré-bouchés, dans un environnement de classe A et en limitant les interventions des opérateurs. De plus, les flacons bouchés non scellés doivent eux aussi se trouver dans un environnement de classe A et tout le matériel utilisé lors du chargement ou déchargement doit être stérile (item 8.126).

L'étape de lyophilisation doit être intégrée au processus d'APS (item 9.33). Aussi, lors de la production de lots de produits lyophilisés, des échantillons doivent être prélevés sur chaque charge effectuée, permettant de s'assurer que chaque cycle de lyophilisation abouti à un produit stérile (item 10.6). (1)

Ainsi, toutes ces nouvelles recommandations et requis sont désormais à prendre en compte, afin de répondre aux exigences réglementaires.

IV. CHAPITRE 3 : Ouverture : le spectromètre de masse

IV.1. Contexte

Pour se conformer à la réglementation, et plus particulièrement à l'Annexe 1 des BPF, mais aussi de manière à maîtriser l'usure de l'équipement et la qualité du produit final, des spectromètres de masse sont utilisés. Cela permet une meilleure anticipation et une meilleure maîtrise de la contamination. En effet, les lyophilisateurs sont des équipements coûteux et limitant dans les étapes de production, ils représentent également la dernière étape critique du process. Ainsi, ce spectromètre va permettre de trouver un compromis dans la maintenance trop régulière des éléments, notamment liés à l'huile silicone, qui est source de contamination chimique majeure, et l'apparition de fuite engendrée par l'usure des éléments. Il est difficile de déterminer la durée de vie d'un lyophilisateur, cette dernière étant dépendante de nombreux facteurs, tels que sa fréquence d'utilisation, les procédés de stérilisation, le cycle de lyophilisation, ainsi que les différents événements de routine.(61)

L'huile silicone, utilisée dans la régulation thermique durant un cycle de lyophilisation, circule dans les étagères, la double enveloppe, le condenseur et différents flexibles. Elle se compose d'un enchaînement de chaînes composées de silicium et d'oxygène (*figure 13*).

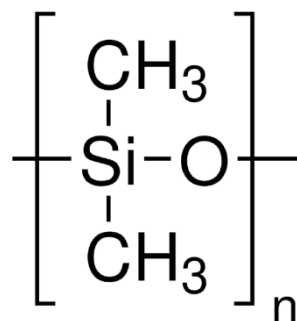


Figure 13 - Structure chimique de l'huile silicone

Le principal avantage de cette huile étant son faible point de congélation, Cela lui permet de rester liquide même à de très faibles températures. Elle est ainsi utilisée pour une régulation sur une large gamme de température.

IV.2. Principe de la spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est une technique analytique permettant de détecter et identifier des molécules grâce à leur masse moléculaire. Son principe réside en une séparation des molécules de gaz chargées en fonction de leur rapport m/z . Le rapport m/z représente le rapport de la masse de la molécule sur sa charge, soit son degré d'ionisation. Pour cela, le gaz, initialement présent dans la chambre du lyophilisateur, va être ionisé puis accéléré. Les ions vont être analysés et triés en fonction de leur rapport m/z puis un détecteur va renvoyer le signal sur un ordinateur (*figure 14*).



Figure 14 - Schéma bloc de la spectrométrie de masse

Pour cela, le spectromètre de masse est mis sous vide, à une pression inférieure à celle présente dans la chambre du lyophilisateur. Cela permet d'attirer les gaz du lyophilisateur vers le spectromètre. Une fois dans la chambre du spectromètre, ils vont être ionisés. L'ionisation est réalisée par un filament chauffé, générant des électrons. Les molécules subissant l'ionisation peuvent dans certains cas être fragmentées. Les fragments produits sont spécifiques de la molécule de départ. Une fois ionisés, ils passent par l'analyseur. C'est un quadripôle, c'est-à-dire, un élément constitué de quatre tiges dont les tiges opposées sont soumises à un même potentiel. En appliquant une certaine tension aux bornes de ces tiges, les molécules ionisées oscilleront de manière à traverser le quadripôle et rejoindre le détecteur. L'oscillation dépend du rapport m/z de la molécule, ainsi, cet analyseur joue le rôle de filtre en ne faisant passer que les ions sélectionnés. Le détecteur, ici de type Faraday ou SEM (Multiplicateur d'Electrons Secondaires), enverra un signal à l'enregistreur qui permettra de remonter les informations sous forme de graphique.

IV.3. Intérêt du spectromètre de masse pour les lyophilisateurs

Le spectromètre de masse, par exemple de type Lyoplus® (*figure 15*), est un RGA (*Residual Gas Analysis*, dit en français Analyseur de Gaz Résiduel). Cet outil est utilisé pour mesurer les

pressions partielles des gaz présents dans un mélange, même en très faible concentration, ce qui lui donne un rôle clé dans la recherche de fuite d'huile silicone, en détectant une fuite précocement. Il peut être fixe ou mobile. L'avantage d'un spectromètre mobile est qu'il peut être utilisé sur plusieurs lyophilisateurs. (61)

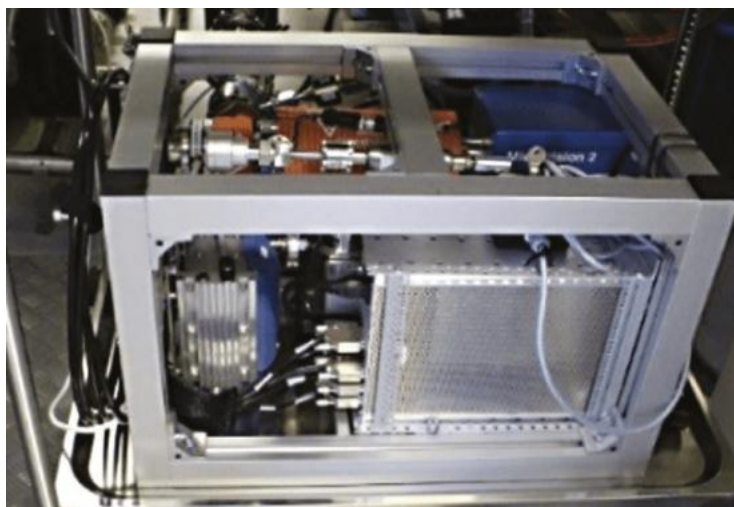


Figure 15 - Photo du Lyoplus – Source : Référence (61)

Les rôles de ce spectromètre sont multiples, bien que son rôle primordial soit la détection d'huile silicone. Il peut aussi être utilisé pour vérifier la teneur en humidité ou la réaliser une recherche de fuite à l'hélium.

La première utilité du Lyoplus est de contrôler la teneur en humidité dans la chambre du lyophilisateur au cours d'un cycle. Cette mesure est principalement effectuée en fin de cycle, lorsque l'humidité dans la chambre est faible. Effectivement, une trop grosse quantité d'humidité pourrait endommager l'équipement. Ce rôle n'est pas le rôle principal du lyoplus, cependant, cette fonction peut permettre de suivre précisément le séchage, en garantissant que le produit soit totalement sec à la fin, sans pour autant que le cycle soit trop long. Ainsi, cette fonctionnalité permet de garantir la qualité du produit. En effet, un produit contenant trop d'humidité perdra en stabilité.

Ce dernier peut aussi être utilisé lors des recherches de fuite à l'hélium. Avant chaque cycle, un test d'étanchéité est réalisé sur les lyophilisateurs. Il permet de garantir l'intégrité de ce dernier et le maintien de la stérilité de la fin du cycle de stérilisation jusqu'au déchargement des flacons. Un taux de fuite important pourrait entraîner une contamination de l'enceinte du lyophilisateur par entrée d'air non stérilisé et non filtré à l'intérieur de la chambre. Ainsi, si une

fuite est suspectée par un taux de fuite trop élevé, il est nécessaire de trouver son origine afin de régler le problème. Pour cela, il est possible d'effectuer une recherche de fuite à l'hélium. De l'hélium est injecté à différents endroits, notamment aux endroits critiques comme les clamps. Habituellement, un détecteur à hélium est branché sur le lyophilisateur et la pompe à vide est en marche. Ainsi, si l'hélium entre dans l'enceinte du lyophilisateur par un endroit moins étanche, le signal du détecteur d'hélium augmentera. Sur le même principe, le Lyoplus étant sous vide, le gaz y est attiré. Ainsi, si de l'hélium entre dans la chambre du lyophilisateur, il sera détecté par le Lyoplus et cela permettra de mettre en avant une fuite.

La dernière utilité et la plus importante d'un point de vue réglementaire est la détection de fuite d'huile silicone. De l'huile silicone circule dans les étagères et les parois du lyophilisateur, mais également dans le condenseur. Une fuite d'huile silicone peut entraîner une contamination du produit. Les flacons n'étant pas bouchés durant le cycle de lyophilisation, si de l'huile est présente dans l'enceinte, sous les conditions de pression et température, elle s'évaporerait. Ainsi, on pourrait retrouver des traces d'huile dans le produit, ce qui représente une source de contamination à maîtriser. Le spectromètre de masse permet alors la détection de l'huile silicone. En effet, en réalisant une mesure avant ou après un cycle de lyophilisation, on peut voir si le spectromètre détecte ou non de l'huile silicone. S'il en détecte, cela signifie qu'on a potentiellement une fuite dans l'enceinte du lyophilisateur et une investigation est à mettre en place. Pour cela, des seuils de détection et d'alerte doivent être définis, ainsi qu'une procédure d'utilisation, pour éviter de détecter de l'huile résiduelle déjà présente dans l'enceinte du spectromètre de masse, ou encore un bruit de fond dû à l'usure du lyophilisateur.

IV.4. Mise en service

La mise en service de cet équipement est relativement compliquée. De nombreuses précautions sont à prendre en compte afin que les mesures effectuées soient fiables, que les résultats soient reproductibles, sans endommager l'équipement qui est fragile.

Les premières étapes dans la mise en service de l'équipement sont la définition de la recette : il est nécessaire de savoir sous quelle pression, quelle température, quelle durée et dans quelles conditions réaliser les essais. L'élaboration de cette recette est primordiale pour que les mesures soient réalisées toujours dans les mêmes conditions, et ainsi être interprétables.

Les recommandations des premiers retours d'expérience sont de réaliser les mesures à environ 100µbar, à température ambiante définie (par exemple 25°C), sur une durée d'environ 30 minutes. Le lyophilisateur doit être sec avant de lancer une mesure.

Une fois la recette définie, il s'agit de déterminer les seuils d'acceptation. Ces seuils sont dépendants de l'âge de l'équipement, de son volume, de son utilisation. Des mesures doivent être réalisées afin de déterminer le seuil de base, puis une limite de détection doit être définie. Ces seuils peuvent varier au cours du temps, en fonction du vieillissement du lyophilisateur. Ces limites doivent être déterminées par le biais de différents essais à blanc, puis avec mesure de quantités d'huile silicone définies.

Après chaque mesure, deux étapes sont nécessaires sur le spectromètre de masse. La première est un « unit test », venant vérifier le bon fonctionnement et la calibration en réalisant un test avec une bouteille de gaz étalon. La deuxième étape est une étape de nettoyage de la chambre de détection, appelée « baking ». Ce « baking » permettra d'éliminer les résidus de manière à ne pas avoir de gaz résiduel pour l'essai suivant. (61)

IV.5. Analyse des mesures

Les graphiques obtenus nous donnent des courbes en µbar et ppm. Tout d'abord, on observe la pression totale en µbar. C'est la pression mesurée à l'entrée du système. Généralement, elle est légèrement inférieure à la pression dans la chambre du lyophilisateur. Elle correspond à la somme de toutes les pressions partielles, soit des pressions de chaque gaz présent dans le mélange. Également, pour chaque gaz dont on a demandé une mesure, on obtient une courbe en ppm. La valeur en ppm est déterminée avec la formule ci-dessous :

$$p_{73 \text{ ou } 75, \text{ppm}} = \frac{p_{73 \text{ ou } 75, \mu\text{bar}}}{p_{\text{totale}, \mu\text{bar}}} \times 10^6$$

Équation 6 - Détermination de la valeur du signal en ppm

Cela signifie qu'un gaz avec un signal à 1 ppm représente un millionième du mélange gazeux total. Nous pouvons donc détecter de très faible quantité, comme c'est le cas pour l'huile silicone.

IV.6. Fréquence d'utilisation

La fréquence de réalisation des mesures de détection d'huile silicone doit être définie. Ces mesures sont chronophages, il n'est donc pas toujours possible de réaliser une mesure entre chaque cycle. En effet, cela permettrait de mettre sous contrôle chaque lot produit, mais la durée des cycles de lyophilisation étant déjà une étape limitante pour la production, cette fréquence ralentirait d'autant plus la production des médicaments lyophilisés.

Une analyse de risque peut être déroulée de manière à déterminer une fréquence adaptée à la production et au risque identifié. En effet, une détection réelle de fuite d'huile silicone impacte tous les lots produits depuis la dernière mesure conforme. Un compromis financier entre productivité et perte de lots produits est nécessaire.

V. Conclusion

La qualification des lyophilisateurs sur un nouveau site industriel est un enjeu stratégique majeur. Ces équipements complexes sont critiques pour la production de médicaments injectables, initialement fragiles et instables. Cette étape finale est influencée par de nombreux paramètres dont la pression et la température. La réglementation impose une maîtrise de la contamination particulaire, microbiologique mais aussi chimique, de manière à garantir la qualité des produits finis.

La stratégie de qualification passe par différentes étapes allant des FAT/SAT jusqu'à la réalisation de lots commerciaux de validation, en passant par des étapes de validation de la stérilisation et optimisation du cycle de lyophilisation. Les différents événements rencontrés durant la qualification et les risques associés sont à prendre en considération, de manière à développer une stratégie adaptée pour évaluer et corriger ces écarts.

Enfin, l'intégration d'équipements annexes renforce la robustesse en anticipant l'usure de l'équipement et prévenant les incidents pouvant remettre en cause la qualité du produit final. Cette amélioration continue s'inscrit dans un cadre de plus en plus exigeant, renforçant la qualité du produit et la sécurité du patient.

Bibliographie

1. 20240620-guide-bpf-2024.pdf [Internet]. [cité 4 janv 2025]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/uploads/2024/06/20/20240620-guide-bpf-2024.pdf>
2. ICH Official web site : ICH [Internet]. [cité 29 janv 2025]. Disponible sur: <https://www.ich.org/>
3. Article L5111-1 - Code de la santé publique - Légifrance [Internet]. [cité 4 janv 2025]. Disponible sur: https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000006689867/
4. ANSM [Internet]. [cité 4 janv 2025]. Autorisation de mise sur le marché pour les médicaments. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/page/autorisation-de-mise-sur-le-marche-pour-les-medicaments>
5. 1-Les-etapes-en-pratique-de-la-norme ISO-14644-1-2015.pdf [Internet]. [cité 6 mai 2025]. Disponible sur: <https://pyc.fr/SP/138/Dossier/1-Les-etapes-en-pratique-de-la-norme%20ISO-14644-1-2015.pdf>
6. <https://www.groupe-lfb.com/> [Internet]. [cité 29 janv 2025]. Du plasma aux biomédicaments - LFB Corporate. Disponible sur: <https://www.groupe-lfb.com/concevoir-des-biomedicaments/du-plasma-aux-biomedicaments/>
7. Licensed_A3P_-_Guide_Pratique_Lyophilisation_Partie_1_Cartographie_des_temperatures_les_cles_dune_qualification_reussie.pdf [Internet]. [cité 1 janv 2026].
8. Garrote P. Lyophilisation, histoire et origine | Barnalab lyophilisés. Barnalab Lyophilisation [Internet]. [cité 4 mai 2025]. Disponible sur: <https://www.barnalab.com/fr/blog/histoire-de-la-lyophilisation/>
9. Lyophilise & Co [Internet]. [cité 4 mai 2025]. Tout savoir sur l'histoire de la lyophilisation. Disponible sur: <https://www.lyophilise.fr/blog/post/53-tout-savoir-sur-l-histoire-de-la-lyophilisation>
10. Lyophilisation et Lyophilisateur. Biopharma Technologies France [Internet]. [cité 4 mai 2025]. Disponible sur: <https://www.biopharmatech.fr/lyophilisation-lyophilisateurs/>
11. La lyophilisation dans l'industrie pharmaceutique. Demaco Cryogenics [Internet]. [cité 4 mai 2025]. Disponible sur: <https://demaco-cryogenics.com/fr/blog/la-lyophilisation-dans-lindustrie-pharmaceutique/>
12. Point triple de l'eau – Site de Physique-Chimie [Internet]. [cité 9 mai 2025]. Disponible sur: <https://portail.levavasseur.ac-reunion.fr/wordpress/gallery/point-triple/>
13. Introduction-a-la-Lyophilisation-V5.20_RSZ.pdf [Internet]. [cité 4 mai 2025]. Disponible sur: https://biopharmatech.fr/wp-content/uploads/2020/05/Introduction-a-la-Lyophilisation-V5.20_RSZ.pdf
14. Fluides frigorigènes. Energie Plus Le Site [Internet]. [cité 9 mai 2025]. Disponible sur: <https://energieplus-lesite.be/techniques/climatisation8/composants-installation-frigorifique/fluides-frigorigenes/>

15. Comment sommes-nous arrivés à un système de lyophilisation
qui a un PRP de 1 ? [Internet]. [cité 9 mai 2025]. Disponible sur: <https://www.gea.com/fr/stories/natural-gas-combination-for-improved-freeze-dryer-cooling/>
16. Le Floc'h L. Traité pratique de lyophilisation. 2010.
17. Lyophilisateurs équipés de système de froid 100% écologique : L'AIR -> FLUIDE FRIGORIGÈNE. A3P - Industrie Pharmaceutique & Biotechnologie [Internet]. 2 sept 2015 [cité 9 mai 2025]. Disponible sur: <https://www.a3p.org/lyophilisateurs-equipés-de-système-de-froid-100-écologique-lair-fluide-frigorigène/>
18. Comprendre la jauge de Pirani [Internet]. [cité 9 mai 2025]. Disponible sur: <https://fr.mfgrobots.com/mfg/mpm/1002043762.html>
19. 631D-1039281-001-MAN.pdf [Internet]. [cité 9 mai 2025]. Disponible sur: https://www.mks.com/mam/celum/celum_assets/resources/631D-1039281-001-MAN.pdf?1
20. Epsilon 2-4 LSCplus - Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen [Internet]. [cité 9 mai 2025]. Disponible sur: <https://www.martinchrist.de/fr/produits/pilote/epsilon-2-4-lscplus>
21. Dictionnaires et Encyclopédies sur « Academic » [Internet]. [cité 18 avr 2026]. Pompe à palette. Disponible sur: <https://fr-academic.com/dic.nsf/frwiki/1354287>
22. Leybold [Internet]. [cité 10 mai 2025]. Comment fonctionne une pompe Roots Leybold. Disponible sur: <https://www.leybold.com/fr-fr/knowledge/vacuum-fundamentals/vacuum-generation/how-does-a-roots-pump-work>
23. Pompes à vide à anneau liquide – Technologie de vide classique mais toujours à la pointe de la technologie | Busch France [Internet]. [cité 10 mai 2025]. Pompes à vide à anneau liquide – Technologie de vide classique mais toujours à la pointe de la technologie | Busch France. Disponible sur: <https://www.buschvacuum.com/fr/fr/success-stories/liquid-ring-vacuum-pumps-classic-vacuum-technology-and-yet-still-state-of-the-art.html>
24. analyse de risque contamination procédé lyophilisation. A3P - Industrie Pharmaceutique & Biotechnologie [Internet]. 19 avr 2022 [cité 22 nov 2025]. Disponible sur: <https://www.a3p.org/comment-mener-analyse-risque-contamination-procede-lyophilisation/>
25. Du fibrinogène à la fibrine et sa dissolution – Académie nationale de médecine | Une institution dans son temps [Internet]. [cité 4 mai 2025]. Disponible sur: <https://www.academie-medecine.fr/du-fibrinogene-a-la-fibrine-et-sa-dissolution/>
26. cascade-de-la-coagulation.png (700×578) [Internet]. [cité 18 avr 2026]. Disponible sur: <https://www.espacesoignant.com/files/img/articles/anatomie-biologie/cascade-de-la-coagulation.png>
27. VIDAL [Internet]. [cité 4 mai 2025]. Fibrinogène : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/fibrinogene-4186.html>
28. Guide de bon usage des specialites a base de fibrinogene humain en France – Conservation, reconstitution, administration. 2021.
29. Boczynski S. La lyophilisation pour « les nuls » ! (Chap. 1). Biopharma Technologies France [Internet]. 23 sept 2021 [cité 18 avr 2026]. Disponible sur: <https://biopharmatech.fr/uncategorized/la-lyophilisation-pour-les-nuls-chap-1/>

30. Lyophilisation : guide complet pour l'industrie pharmaceutique [Internet]. 18 juin 2025 [cité 30 déc 2025]. Disponible sur: <https://adragos-pharma.com/fr/lyophilisation-guide-complet-pour-industrie-pharmaceutique/>
31. annexe_15-fr-def.pdf [Internet]. [cité 24 oct 2025]. Disponible sur: https://www.afmps.be/sites/default/files/content/INSP/annexe_15-fr-def.pdf
32. article_scientifique_vague39_0pdf_articles_39pdf3.pdf [Internet]. [cité 22 nov 2025]. Disponible sur: https://www.a3p.org/wp-content/uploads/2013/09/article_scientifique_vague39_0pdf_articles_39pdf3.pdf
33. Le cycle par F0 en autoclave | RAYPA [Internet]. 2024 [cité 31 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.raypa.com/fr/post/cycles-de-sterilisation-en-autoclave-autoclaves-f0/>
34. Les méthodes de test d'intégrité - Integrity Testing [Internet]. [cité 1 janv 2026]. Disponible sur: https://www.merckmillipore.com/FR/fr/product/Integrity-Testing-Methods,MM_NF-C537
35. analyse de risque contamination procédé lyophilisation. A3P - Industrie Pharmaceutique & Biotechnologie [Internet]. 19 avr 2022 [cité 1 janv 2026]. Disponible sur: <https://www.a3p.org/comment-mener-analyse-risque-contamination-procede-lyophilisation/>
36. Ganguly A, Hardwick L, Tchessalov S, Nail SL, Dixon D, Kanka F, et al. Recommended Best Practices in Freeze Dryer Equipment Performance Qualification: 2022. AAPS PharmSciTech. 26 janv 2023;24(1):45. doi:10.1208/s12249-023-02506-x PubMed PMID: 36703029.
37. Qu'est-Ce Que Le Point Eutectique Dans La Lyophilisation ?La Clé D'une Lyophilisation Optimale [Internet]. [cité 19 oct 2025]. Disponible sur: <https://fr.kindle-tech.com/faqs/what-is-the-eutectic-point-in-lyophilization>
38. rédaction la. Futura [Internet]. 2024 [cité 19 oct 2025]. Définition | Transition vitreuse | Futura Sciences. Disponible sur: <https://www.futura-sciences.com/sciences/definitions/chimie-transition-vitreuse-2895/>
39. Faire une caractérisation thermique d'un produit avant lyophilisation. A3P - Industrie Pharmaceutique & Biotechnologie [Internet]. 19 avr 2022 [cité 12 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.a3p.org/pourquoi-et-faire-caracterisation-thermique-produit-avant-lyophilisation/>
40. Pisano R, Fissore D, Barresi AA, Rastelli M. Quality by Design: Scale-Up of Freeze-Drying Cycles in Pharmaceutical Industry. AAPS PharmSciTech. 25 juill 2013;14(3):1137-49. doi:10.1208/s12249-013-0003-9 PubMed PMID: 23884856; PubMed Central PMCID: PMC3755168.
41. Tech-Note-Smart-TDLAS-Based-Freeze-Dryer-Technology.pdf [Internet]. [cité 4 déc 2025]. Disponible sur: <https://scientificproducts.com/wp-content/uploads/sites/58/2023/08/Tech-Note-Smart-TDLAS-Based-Freeze-Dryer-Technology.pdf>
42. Techniques de l'Ingénieur [Internet]. [cité 6 déc 2025]. Lyophilisation. Disponible sur: <https://www-techniques-ingenieur-fr.ressources-electroniques.univ-lille.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/operations-unitaires-en-agroalimentaire-42430210/lyophilisation-f3240/>
43. Techniques de l'Ingénieur [Internet]. [cité 6 déc 2025]. Lyophilisation de produits pharmaceutiques et biopharmaceutiques. Disponible sur: <https://www-techniques-ingenieur-fr.ressources-electroniques.univ-lille.fr/base-documentaire/biomedical-pharma-th15/mise-en-forme-des-medicaments-42611210/lyophilisation-de-produits-pharmaceutiques-et-biopharmaceutiques-pha2026/>

44. Lyophilisation : comprendre l'influence de la température de nucléation. A3P - Industrie Pharmaceutique & Biotechnologie [Internet]. 2 janv 2015 [cité 1 janv 2026]. Disponible sur: <https://www.a3p.org/lyophilisation-influence-nucleation/>
45. STBI-2.pdf [Internet]. [cité 7 janv 2026]. Disponible sur: <http://fdanieau.free.fr/cours/bts/A1/stbi/STBI-2.pdf>
46. Verlhac P. Étude et optimisation des cycles de lyophilisation d'une souche probiotique modèle [Theses] [Internet]. Université de Lyon; 2019 [cité 18 avr 2026]. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-02098524>
47. Thermocouple vs. Pt100/Pt1000 - Comparaison entre les thermocouples et les sondes à résistance [Internet]. [cité 6 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.tcsa.fr/thermocouple-reference/pt100-vs-thermocouple.html>
48. INDRAPATI. Lyophilizer Shelf Temperature Mapping: Enhancing Product Quality and Process Efficiency. Asita Freeze dryer [Internet]. 6 avr 2024 [cité 10 janv 2026]. Disponible sur: <https://asitafreezedryer.com/lyophilizer-shelf-temperature-mapping/>
49. Techniques de l'Ingénieur [Internet]. [cité 11 janv 2026]. Conduite du procédé de lyophilisation. Disponible sur: <https://www-techniques-ingenieur-fr.ressources-electroniques.univ-lille.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/operations-unitaires-en-agroalimentaire-42430210/lyophilisation-f3240/conduite-du-procede-de-lyophilisation-f3240niv10004.html>
50. Travaux pratiques avancés de pharmacie galénique [Internet]. [cité 11 janv 2026]. Disponible sur: https://www.chuv.ch/fileadmin/sites/pha/documents/pha_rapport_td_2010_cardoso.pdf
51. Mesa Spore Strip Biological Indicator | Mesa Labs [Internet]. [cité 11 janv 2026]. Disponible sur: <https://mesalabs.com/products/sterilization-cleaning-monitoring/mesa-spore-strips>
52. Indicateurs biologiques EZTest | Mesa Labs [Internet]. [cité 11 janv 2026]. Disponible sur: <https://fr.mesalabs.com/products/sterilization-cleaning-monitoring/eztest-biological-indicators>
53. LyophilizationWorld [Internet]. [cité 18 avr 2026]. LyophilizationWorld - Freeze Drying Hub. Disponible sur: <https://www.lyophilizationworld.com/>
54. Adelphi [Internet]. [cité 25 janv 2026]. À prendre en compte lors de la lyophilisation en flacon. Disponible sur: <https://adelphi-hp.com/fr-fr/resources/guides/tips-for-freeze-drying-in-the-vial>
55. Jin X, O'Grady D, Affleck RP, Martini S, Saluja A. Freeze Drying and Vial Breakage: Misconceptions, Root Causes and Mitigation Strategies for the Pharmaceutical Industry. J Pharm Sci. mai 2024;113(5):1306-18. doi:10.1016/j.xphs.2023.12.010 PubMed PMID: 38103690.
56. Techniques de l'Ingénieur [Internet]. [cité 7 févr 2026]. Critères de qualité requis pour un lyophilisat à usage thérapeutique. Disponible sur: <https://www-techniques-ingenieur-fr.ressources-electroniques.univ-lille.fr/base-documentaire/biomedical-pharma-th15/mise-en-forme-des-medicaments-42611210/lyophilisation-de-produits-pharmaceutiques-et-biopharmaceutiques-pha2026/criteres-de-qualite-requis-pour-un-lyophilisat-a-usage-therapeutique-pha2026niv10005.html>
57. EU GMP Annex 1 (2022) : Aseptic Process Simulation (APS). A3P - Industrie Pharmaceutique & Biotechnologie [Internet]. 17 oct 2023 [cité 12 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.a3p.org/eu-gmp-annex-1-2022-aseptic-process-simulation-aps-de-nouveaux-challenges-pour-lindustrie-pharmaceutique/>

58. Basiques en simulation de procédés aseptiques et lyophilisation. A3P - Industrie Pharmaceutique & Biotechnologie [Internet]. 19 avr 2022 [cité 12 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.a3p.org/basiques-simulation-procedes-aseptiques-lyophilisation/>
59. BPF Annexe 1 lyophilisation. La production de produits ... A3P - Industrie Pharmaceutique & Biotechnologie [Internet]. 25 janv 2023 [cité 17 mai 2025]. Disponible sur: <https://www.a3p.org/bpf-annexe-1-et-lyophilisation/>
60. annexe_1_fr_def.pdf [Internet]. [cité 17 mai 2025]. Disponible sur: https://www.afmps.be/sites/default/files/content/INSP/annexe_1_fr_def.pdf
61. Les spectromètres de masse. Retour d'expérience - La Vague 73 - A3P. A3P - Industrie Pharmaceutique & Biotechnologie [Internet]. 19 avr 2022 [cité 28 févr 2026]. Disponible sur: <https://www.a3p.org/spectrometres-de-masse/>

Université de Lille

UFR3S-Pharmacie

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Année Universitaire 2025/2026

Nom : SENECHAL

Prénom : Eva

Titre de la thèse : Qualification des lyophilisateurs sur un nouveau site industriel

Mots-clés : lyophilisation, qualification, industrie pharmaceutique, réglementation

Résumé :

La lyophilisation est un processus complexe, utilisé dans l'industrie pharmaceutique afin d'améliorer la stabilité des médicaments. Afin de garantir la qualité du médicament final, ce procédé suit la réglementation et doit être rigoureusement qualifié. De nombreuses étapes sont nécessaires avant l'utilisation de cet équipement pour la fabrication de médicaments. Ces étapes permettent de garantir la stérilité de l'équipement, son étanchéité, sa performance, mais surtout sa capacité à fournir un médicament de qualité. Pour cela, le cycle doit être développé et validé.

Membres du jury :

Président : SIEPMANN Juergen, Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie de Lille

Directeur, conseiller de thèse : SIEPMANN Juergen, Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie de Lille

Assesseeur 1 : HAMOUDI Mounira, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie de Lille

Assesseeur 2 : LE DEAUT Jonathan, Responsable Support et Amélioration Continue, LFB Biomédicaments Arras

Assesseeur 3 : BOUBAKER Aymen, Directeur de production, LFB Biomédicaments Arras