

## OBJECTIFS

Proposer la qualification pharmaceutique (QP) d'une solution d'amyloglucosidase (AMG) de qualité alimentaire et évaluer ses risques et spécifications en tant que thérapie de substitution enzymatique pour le traitement du déficit en saccharase-isomaltase (DSI).

## CONTEXTE

Le DSI est une maladie rare congénitale, qui apparaît lors de la diversification alimentaire. Une forme acquise de la maladie est également possible en association avec diverses pathologies digestives. Le DSI affecte la capacité d'hydrolyser le saccharose et l'amidon en monosaccharides. Il est responsable d'une grande variété de phénotypes qui se révèlent après ingestion de saccharose ou d'amidon, par des crampes d'estomac, des ballonnements, des diarrhées et des vomissements. Ces problèmes digestifs peuvent conduire à une malnutrition et entraîner des retards de croissance.

La thérapie de substitution enzymatique offre une alternative aux régimes sans saccharose et sans amidon pour traiter les symptômes du DSI. Notre plateforme pharmaceutique propose déjà une solution d'invertase (11 600 UI/mL) pour améliorer la digestion du saccharose.

Nous souhaitons proposer une solution d'AMG en complément de la solution d'invertase pour compléter le traitement du DSI. L'AMG est une enzyme dérivée d'*Aspergillus niger*, largement utilisée dans le brassage et la distillation d'alcool pour sa capacité à hydrolyser l'amidon et le maltose en glucose. Cependant, compte tenu de son origine, une QP est requise.

## MATERIELS ET METHODES

Conformément à la Pharmacopée Européenne (PE) concernant les substances pour usage pharmaceutique, plusieurs essais ont été effectués :

➤ Conformité des caractéristiques physicochimiques telles que les caractères organoleptiques, la densité (calculée par pesée d'un volume précis de solution), le pH, l'osmolalité (mesurée par abaissement du point de congélation)

➤ Dosage de l'activité enzymatique (AE) de l'AMG par une méthode enzymatique colorimétrique avec un réactif contenant du p-nitrophényl-β-D-maltoside avec une enzyme β-glucosidase thermostable en excès (fig. 1). L'AE de l'AMG a été mesurée dans deux conditions expérimentales :

- (i) à 40°C et pH = 4,5 conformément aux recommandations d'utilisation du réactif
- (ii) à 37°C et pH = 6 pour évaluer l'activité enzymatique de l'AMG dans les conditions physiologiques du duodénum et pour définir la posologie optimale

➤ Contrôle de la qualité microbiologique de la solution conformément à la PE concernant la qualité microbiologique des préparations pharmaceutiques et des substances pour usage pharmaceutique non stériles. Un bioburden a été effectué afin de vérifier :

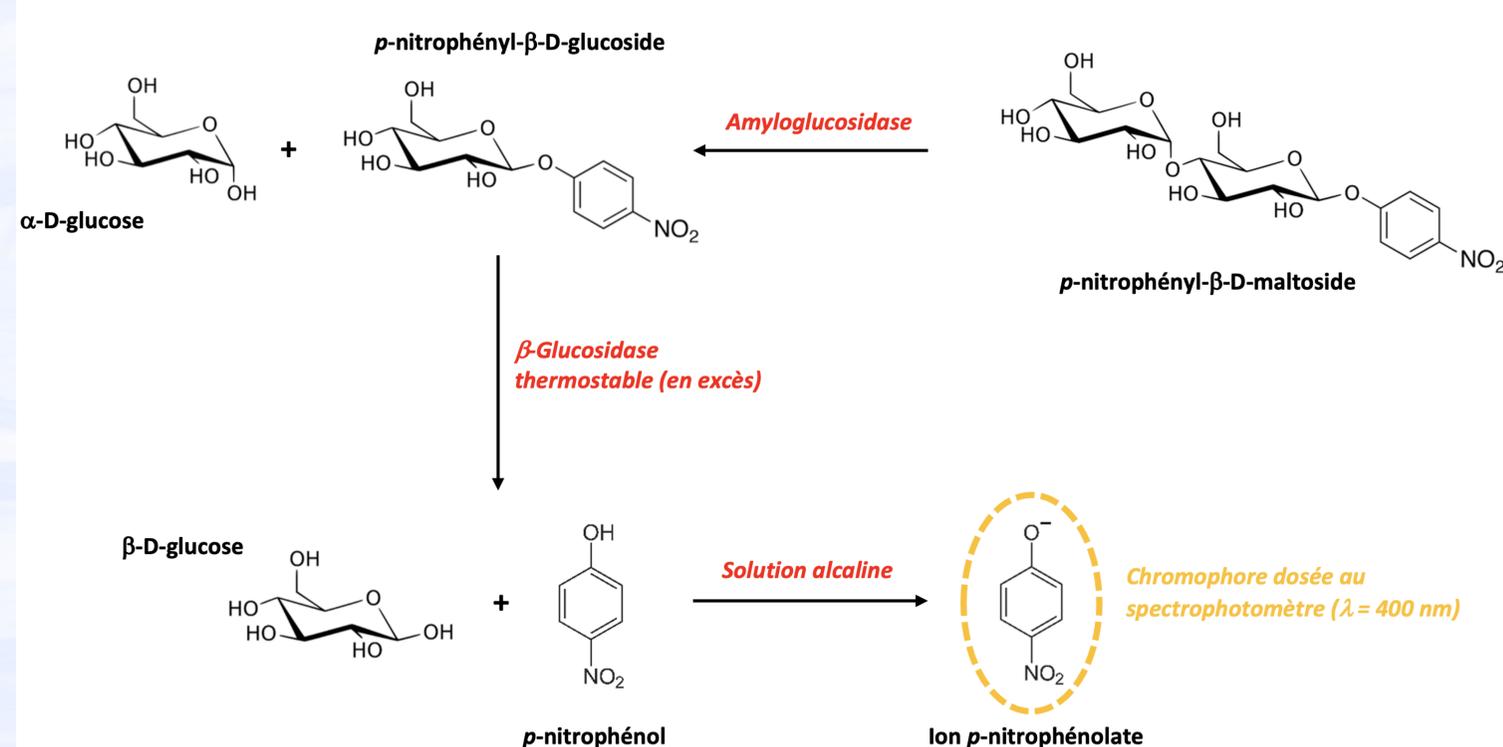
- (i) DGAT (Dénombrement des germes aérobies totaux) < 10<sup>2</sup> UFC/mL
- (ii) DMLT (Dénombrement des moisissures et levures totales) < 10 UFC/mL
- (iii) Absence d'*Escherichia coli* dans 1 mL

## RESULTATS

Les résultats des essais effectués sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Paramètres	Valeurs
Densité	1,13
pH	4,5 ± 0,5
Osmolalité (Solution diluée au 1/10)	400 ± 20 mOsm/kg
AE en conditions opératoires (40°C, pH = 4,5)	5275 ± 400 UI/mL
AE en conditions physiologiques (37°C, pH = 6)	1320 ± 70 UI/mL
Qualité microbiologique	Culture stérile

Figure 1 : mécanisme d'action du dosage de l'AE de l'AMG



## DISCUSSION

Les caractères organoleptiques, le pH et l'osmolalité étaient conformes aux spécifications du fabricant. Du fait de son osmolalité élevée, la solution d'AMG devra être diluée au moins dix fois avant administration par voie orale.

La qualité microbiologique de la solution était conforme aux spécifications de la PE. Pour la QP de la solution, la recherche de solvants résiduels sera également effectuée.

Compte tenu (i) des apports journaliers recommandés en amidon chez les enfants en fonction de leur poids ; (ii) de l'activité enzymatique de la solution d'AMG ; la posologie optimale a été définie comme suit :

- 2 mL par repas pour les enfants de moins de 15 kg
- 4 mL par repas pour les enfants de plus de 15 kg

L'innocuité des excipients de la solution a été vérifiée.

## CONCLUSION

Afin de traiter les symptômes du DSI et d'améliorer leur qualité de vie, la solution d'AMG sera proposée à 25 patients déjà traités avec notre solution d'invertase.

[1] Fallingborg J. Intraluminal pH of the human gastrointestinal tract. Dan Med Bull. 1999 Jun;46(3):183-96

[2] Fantino M, Gourmet E. Apports nutritionnels en France en 2005 chez les enfants non allaités âgés de moins de 36 mois. Archives de pédiatrie. 2008;15(4):446-455