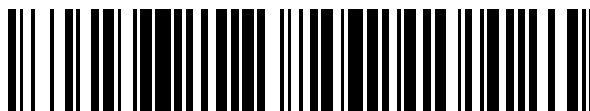


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 378 133**

51 Int. Cl.:

**A23L 1/29** (2006.01)

**A23L 1/32** (2006.01)

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61K 51/00** (2006.01)

**A61K 51/12** (2006.01)

12

### TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **09763512 .2**

96 Fecha de presentación: **10.06.2009**

97 Número de publicación de la solicitud: **2299849**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **30.03.2011**

54 Título: **Comida de lecho fluido que contiene un marcador y métodos de preparación**

30 Prioridad:  
**10.06.2008 US 60170**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**09.04.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**09.04.2012**

73 Titular/es:  
**Advanced Breath Diagnostics, LLC  
105 Westpark Drive, Suite 150  
Brentwood, TN 37027, US**

72 Inventor/es:  
**BUSH, Kerry C.;  
KONOPKA, Stanley J. y  
SANDA, Ronald J.**

74 Agente/Representante:  
**Ungría López, Javier**

**ES 2 378 133 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Comida de lecho fluido que contiene un marcador y métodos de preparación.

### Campo de la invención

5 La presente invención se refiere en general a una comida normalizada de lecho fluido que incluye un alimento comestible, del que un componente incluye un marcador o fármaco y métodos para usar la misma para suministrar de forma fiable un marcador o fármaco a un mamífero y el uso de esa comida para medir la absorción de fármacos terapéuticos y de diagnóstico o marcadores a lo largo de una serie de comidas altamente normalizadas. También se refiere a un método para validar una comida a usar en métodos de diagnóstico o ensayo. Además, la comida puede usarse para medir funciones corporales (fisiológicas) como resultado de la digestión, absorción y/o metabolismo de la comida y su marcador o fármaco.

### Antecedentes de la invención

15 La digestión de productos alimentarios comienza en la cavidad oral en la que el alimento se rompe mecánicamente por masticación, se lubrica con saliva y se procesa enzimáticamente por la amilasa presente en la saliva. La digestión continúa en el estómago en el que el alimento se licua por jugos gástricos y enzimas secretadas por las células que revisten el estómago para producir quimo. El quimo entra en el intestino delgado mediante el esfínter pilórico para procesamiento adicional por sales biliares producidas por el hígado y enzimas digestivas pancreáticas. Los componentes no absorbidos o transportados al intestino delgado se someten a procesamiento posterior al intestino grueso.

20 La velocidad a la que el quimo viaja al intestino delgado (velocidad de vaciado gástrico) es el producto de numerosos factores fisiológicos incluyendo hormonas, señales químicas en la ingesta, así como señales del sistema nervioso.

25 Parte de la población está afectada por trastornos que afectan a la velocidad de vaciado. Por ejemplo, cuando la velocidad se acelera, los alimentos no digeridos se descargan prematuramente del estómago al intestino delgado. Por el contrario, cuando la velocidad se decelera, el movimiento del alimento ingerido del estómago al intestino delgado se retarda, dando lugar a la afección denominada "vaciado retardado" conocido de otro modo como gastroparesis.

30 Los trastornos que implican la velocidad de vaciado gástrico se diagnostican típicamente controlando la velocidad a la que una comida sale del estómago y entra en el intestino delgado. En estos ensayos, típicamente, se usa un alimento comestible para transportar un marcador al intestino de un animal y el vaciado gástrico se controla por el marcador.

35 En la actualidad, el método rutinario (patrón de oro) para cuantificar la velocidad del vaciado gástrico en seres humanos es la escintigrafía gástrica cuantitativa. La escintigrafía implica la ingestión de una comida que incluye al menos un alimento comestible, del que un componente se ha radiomarcado y la medición posterior de emisión gamma por una cámara de centelleo (situada sobre el estómago) a medida que se vacía el estómago del alimento marcado.

40 El tipo más habitual de comida usada en medición de escintigrafía de vaciado gástrico es una comida típicamente preparada cocinando coloide de  $^{99m}\text{Tc}$  azufre 0,5 mCi con dos huevos crudos o 120 gramos de un sustituto de huevo líquido tal como el producto vendido por ConAgra bajo la marca comercial Egg Beater<sup>®</sup>. En su uso típico, el paciente ayuna la noche antes del ensayo. En el momento del ensayo, el paciente consume el componente de huevo radiomarcado cocinado con dos rebanadas de pan, 30 gramos de mermelada y 120 ml de agua. Se realiza exploración escintigráfica con cámaras anteriores y posteriores inmediatamente después de que se consuma la comida de ensayo y se obtienen exploraciones cada 15 minutos durante 2 horas y cada 30 minutos durante hasta 6 horas. Las mediciones de escintigrafía del vaciado gástrico son directas, puesto que la cámara mide directamente la comida que sale del estómago.

45 Los resultados escintigráficos pueden indicarse como "Porcentaje de Comida Vacuada" o al contrario, "Porcentaje de Comida Retenida". Típicamente, se calcula el porcentaje de comida retenida y se indica en el punto temporal de 1, 2, 3 y 4 horas basándose en la cantidad de radiación gamma que aparece en cada punto temporal respectivo. Con el tiempo, se vacía cada vez más de la comida y por lo tanto se puede observar cada vez menos radiación gamma del estómago. Una métrica escintigráfica en evolución en la comunidad de GI define el vaciado gástrico lento como > 10 % de una comida que permanece en el punto temporal de 4 horas cuando se utiliza comida de aproximadamente 225 kcal que se ha demostrado que se vacían en aproximadamente 4 horas en individuos sanos. Cuanto mayor sea el porcentaje retenido, más lenta es la velocidad de vaciado gástrico. Dos parámetros adicionales son clínicamente útiles en la exploración escintigráfica. El primero,  $t_{LAG}$ , es el tiempo requerido para que el estómago se vacíe del primer 10 % del alimento. El segundo  $t_{1/2}$ , es el tiempo requerido para que el estómago se vacíe de la mitad de los contenidos. El porcentaje de retención gástrica del radiomarcador se calcula en cada punto temporal para generar una curva de retención gástrica escintigráfica. La curva se modela matemáticamente con un modelo exponencial de potencia y el resultado de diagnóstico  $t_{LAG}$  y  $t_{1/2}$  puede calcularse a partir de la curva.

Se asocian varias ventajas con el método de escintigrafía tradicional. En primer lugar, los pacientes deben someterse a radioisótopos. Esto es particularmente problemático para mujeres en edad de tener hijos o para niños. Además, el procedimiento debe llevarse a cabo en instalaciones de medicina nuclear especializadas. Finalmente, la preparación para el procedimiento es incómoda y potencialmente puede introducir error en el procedimiento de ensayo. Antes del procedimiento, el personal debe preparar la comida marcada. Debido a que los parámetros de cocina o calidad de alimento, consistencia y matriz de la comida pueden variar de un hospital a otro, hay falta de normalización. Por ejemplo, el valor calórico, la matriz de la comida y la cantidad de tiempo de exploración escintigráfica varía de un centro de ensayo a otro. Como con cualquier ensayo médico, la normalización es de importancia significativa en los procedimientos de ensayo de vaciado gástrico.

Recientemente, se ha descrito un método para medir la velocidad de vaciado gástrico que utiliza un alimento comestible marcado con marcadores no radiactivos. A medida que se digiere el alimento comestible marcado no radiactivo, se produce un componente marcado que puede detectarse en el aliento del paciente. Este método se describe en detalle en la Patente de Estados Unidos del solicitante 5.707.602, las enseñanzas de la cual se incorporan por la presente por referencia. Esta patente describe el uso de un complemento nutricional, *Spirulina platensis*, un alga verde azulada, que ha crecido en un ambiente de  $^{13}\text{CO}_2$  altamente enriquecido. El  $^{13}\text{C}$  incorporado en la biomasa del alga actúa como un marcador no radiactivo. Se hornea una pequeña cantidad del alga marcada en un panecillo o barra de desayuno y se consume por un paciente con zumo o agua. La comida se tritura por el estómago a un tamaño de partícula de aproximadamente 1-2 mm y después pasa del estómago a través del píloro al intestino. En el intestino, los productos marcados de digestión de *Spirulina platensis*- $^{13}\text{C}$  se absorben y se metabolizan dando lugar a dióxido de carbono marcado expirado en el aliento. La velocidad de aparición de  $^{13}\text{CO}_2$  en el aliento de paciente (velocidad de excreción de  $^{13}\text{CO}_2$ ) se correlaciona con la velocidad de vaciado gástrico.

A diferencia de la escintigrafía, la medición de vaciado gástrico, de acuerdo con el marcador descrito anteriormente, es indirecta. Por lo tanto, es deseable correlacionar matemáticamente la curva de excreción de  $^{13}\text{CO}_2$  con la curva de retención gástrica escintigráfica de modo que el tiempo de vaciado del estómago pueda calcularse a partir de la curva de  $^{13}\text{CO}_2$ . Por ejemplo, puede usarse un modelo lineal general para desarrollar la relación entre los parámetros de diagnóstico obtenidos de las mediciones escintigráficas y los datos correspondientes obtenidos de la velocidad de excreción de  $^{13}\text{CO}_2$  del paciente cuando tanto el marcador escintigráfico radiactivo como el marcador de  $^{13}\text{C}$  se administran de forma simultánea en la misma comida.

Para correlacionar de forma precisa la curva de excreción de  $^{13}\text{CO}_2$  y la curva de desintegración escintigráfica (que permite generar un modelo matemático predictivo a partir del que puede calcularse una velocidad de vaciado gástrico de  $t_{1/2}$  sustituta usando solamente datos de excreción de  $^{13}\text{CO}_2$ ), es deseable normalizar la matriz de comida y/o alimento comestible que suministra el marcador para reducir el número de variables que interfieren. Por ejemplo, si el nuevo marcador o fármaco (el marcador sustituto) se incorpora en una comida y/o alimento comestible (comida sustituta) que es diferente de la comida y/o alimento comestible en el que el marcador o fármaco bien aceptado (predicado) se incorpora (comida predicada) el proceso de correlación puede ser más difícil y/o tener escaso valor predictivo. Por lo tanto, es deseable que las comidas predicada y sustituta sean tan similares en composición, textura y contenido nutricional entre sí como sea posible.

De forma similar, dicha normalización posibilita la validación de nuevos ensayos médicos o de diagnóstico frente a ensayos aceptados bien conocidos que aseguran la precisión y aceptación dentro de la comunidad médica. Esto puede ser particularmente importante cuando el nuevo ensayo detecta, evalúa o mide características fisiológicas de una manera diferente, por ejemplo, indirectamente frente a directamente.

Además de la normalización entre los ensayos médicos nuevos y tradicionales, es deseable que cada método habitual se normalice. También es deseable que se realice un ensayo médico de forma idéntica cada vez que se realiza.

Por lo tanto, es deseable asegurar la fiabilidad, reproducibilidad, precisión y normalización cuando se suministra una comida combinada con un marcador de diagnóstico o fármaco terapéutico en o más allá del estómago. Es deseable adicionalmente proporcionar un método fiable para validar el rendimiento del nuevo marcador (sustituto) y medir la absorción y/o actividad del fármaco o marcador.

El solicitante ha desarrollado previamente una comida de ensayo de vaciado gástrico normalizada liofilizada, como se describe en la Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº 12/121.116. El solicitante desea ahora encontrar métodos alternativos para producir comidas de ensayo de vaciado gástrico normalizadas que también pueden usarse para ensayos de vaciado gástrico.

La solicitud de Patente WO 03/094976 A1 describe un método para producir un alimento comestible normalizado marcado con un marcador.

## 55 Sumario de la invención

Algunas realizaciones proporcionan un método para producir un alimento comestible normalizado marcado con un marcador y la comida marcada comestible normalizada producida de este modo. En algunas realizaciones, el método comprende las etapas de: proporcionar un marcador, distribuir uniformemente una cantidad conocida de

dicho marcador a lo largo de un componente de alimento comestible y, mediante el uso de procesamiento de lecho fluido, producir una comida normalizada, almacenable, seca final con marcador, nutriente y homogeneidad calórica deseables. El marcador puede incorporarse a través de una biomasa tal como *Spirulina platensis*. El componente de alimento comestible puede comprender huevos completos, por ejemplo huevos completos que derivan de una formulación de huevo líquida específicamente formulada para sabor, composición de nutrientes y valor calórico satisfactorios.

En algunas realizaciones, el método para producir una comida normalizada de lecho fluido incluye proporcionar un alimento comestible, proporcionar un marcador, fluidificar el alimento y el marcador y aglomerar el alimento fluidificado y marcador para producir una comida seca, almacenable, normalizada final con marcador, nutrientes y homogeneidad calórica deseables. En otras realizaciones, el alimento comestible puede ser el único componente que se fluidifica en la cámara granuladora de lecho fluido mientras que el marcador puede ponerse en solución o suspensión y pulverizarse en el polvo de alimento fluidificado para formar las partículas finales. Como alternativa, el marcador puede ser el único componente que se fluidifica en la cámara granuladora de lecho fluido mientras que el alimento puede ponerse en solución o suspensión y pulverizarse en el marcador para formar las partículas finales. Pueden adaptarse diversas disposiciones adecuadas para la naturaleza del alimento y el marcador mediante el proceso de granulación fluidificada.

El método puede incluir adicionalmente secar el alimento y marcador, quizás de modo que esté presente menos del 3 % de humedad. El método puede incluir adicionalmente envasar el marcador y alimento seco. El alimento puede comprender, consistir esencialmente en o consistir en huevo seco completo y el marcador puede incluir biomasa marcada seca, tal como *Spirulina platensis* marcada con  $^{13}\text{C}$  seca. En algunos casos, la aglomeración incluye aplicar agua atomizada al marcador y alimento fluidificado, quizás a una velocidad de aproximadamente 25 gramos/minuto. Por supuesto, esta velocidad puede ajustarse durante el proceso de aglomeración.

Las comidas normalizadas de lecho fluido producidas por estos métodos pueden tener una capacidad de unión de al menos aproximadamente 100 %, una desviación típica relativa de menos de aproximadamente 6,0 % (quizás menos de aproximadamente 4,0 %), un rendimiento de producto final de al menos aproximadamente 95 % y/o un valor de  $a_w$  de menos de aproximadamente 0,2. En algunos casos, el alimento comestible incluye partículas de alimento y el marcador incluye partículas de marcador. Las partículas de alimento pueden tener una necesidad que es diferente de (quizás mayor que) una densidad de las partículas de marcador. Las partículas de alimento también pueden tener un porcentaje de humedad que es diferente de (quizás menor que) un porcentaje de humedad de las partículas de marcador. Por ejemplo, las partículas de alimento pueden tener un porcentaje de humedad que es menor del 3 % y las partículas de marcador pueden tener un porcentaje de humedad que es menor del 5 %. Además, las partículas de alimento pueden tener un tamaño de partícula que es diferente de un tamaño de partícula de las partículas de marcador. Por ejemplo, las partículas de alimento pueden tener un tamaño de partícula de aproximadamente 355 a aproximadamente 1.000 micrómetros y las partículas de marcador pueden tener un tamaño de partícula de menos de aproximadamente 250 micrómetros.

#### Descripción detallada de la realización preferida

El solicitante ha descubierto un proceso de lecho fluido que puede usarse para preparar una comida normalizada de lecho fluido que contiene un marcador conocido que se distribuye uniformemente a lo largo del componente alimentario. La comida normalizada de lecho fluido puede usarse para medir procesos fisiológicos (en seres humanos u otros mamíferos) tales como mediciones de la velocidad de vaciado gástrico de una comida normalizada, para evaluación de salud metabólica y de absorción y para diagnosticar anomalías y controlar intervenciones terapéuticas que puedan asociarse con problemas de motilidad gastrointestinal, absorción o metabolismo de alimentos y sustratos. El método incluye proporcionar un alimento en una forma seca, tal como una forma en polvo o granulada, proporcionar un marcador tal como una biomasa marcada con  $^{13}\text{C}$  u otra entidad química y utilizar métodos de procesamiento de lecho fluido para mezclar uniformemente el componente alimentario con el marcador. El resultado es una comida de ensayo de vaciado gástrico normalizada que es segura, eficaz, fiable para el diagnóstico, normalizada y se fabrica uniformemente según los patrones reguladores adecuados para productos farmacéuticos orales y que pueden usarse fácilmente en situaciones clínicas. Las expresiones procesamiento de lecho fluido y granulación de lecho fluido se usan de forma intercambiable en este documento.

Existen varias ventajas del uso de los procesos descritos para preparar comidas normalizadas. Las comidas normalizadas de lecho fluido proporcionan un vehículo con marcadores incorporados de forma precisa y fiable, tal como un material o fármaco marcado con isótopo estable, en una matriz de alimento comestible. Las comidas normalizadas de lecho fluido también aseguran la normalización de ensayos para todos los usuarios médicos y sitios de administración. Pueden incorporarse diversos marcadores o fármacos biológicos, y combinaciones de los mismos, y evaluarse a partir de la misma matriz de comida. No se requiere refrigeración para comidas normalizadas de lecho fluido, lo que las hace más fáciles de almacenar y evita su deterioro.

La tecnología de lecho fluido, utilizada en realizaciones de la invención, esencialmente fluidifica partículas en un ambiente aéreo dentro de una cámara. Un lecho fluidificado es un lecho de partículas sólidas con una corriente de aire o gas que pasa hacia arriba a través de las partículas a una velocidad suficientemente grande como para ponerlas en movimiento. A medida que el aire viaja a través del lecho de partículas, transmite propiedades únicas al

lecho. Por ejemplo, el lecho se comporta como un líquido. Por lo tanto, el lecho fluidificado puede usarse para mezclas diversos polvos o materiales similares para crear una mezcla de lecho fluidificado homogénea, para secar productos húmedos, aglomerar partículas, mejorar las propiedades de flujo de las partículas para facilitar el envasado, o producir partículas y gránulos recubiertos cuando se introduce humedad u otros líquidos al proceso. La  
 5 granulación de lecho fluido nunca se ha usado para combinar un componente alimentario y un marcador de diagnóstico y/u otros materiales de diagnóstico o terapéuticos en una comida normalizada adecuada para diagnóstico y control de enfermedad y terapias asociadas en seres humanos.

El solicitante ha descubierto que pueden utilizarse métodos de procesamiento de lecho fluido para mezclar uniformemente un componente alimentario con un marcador tal como biomasa marcada con  $^{13}\text{C}$ , produciendo de  
 10 este modo partículas, gránulos, sedimentos u otras entidades similares de homogeneidad de alimento y  $^{13}\text{C}$  consistente adecuada para el envasado, rehidratación, cocinado y administración al paciente. El proceso de fluidificación permite que el marcador de  $^{13}\text{C}$  se integre en y se una al alimento de modo que el marcador no se separa del alimento durante la digestión. Cuando la comida se administra al sujeto, el marcador de  $^{13}\text{C}$  permanece integrado por todo el alimento y unido al alimento. Por lo tanto, el marcador de  $^{13}\text{C}$  viaja con el alimento reflejando la  
 15 verdadera velocidad de pase del alimento que experimenta digestión. Si la unión no es adecuada, el marcador puede separarse del alimento y entrar en la fase líquida durante la digestión, de modo que se absorbe más rápidamente que el alimento, lo que conduce a resultados de ensayo imprecisos. Sin embargo, las realizaciones de la invención evitan este problema proporcionando una comida en la que el marcador está unido a la comida y permanece unido durante el proceso de digestión para proporcionar resultados de ensayo precisos.

Los expertos en la materia podrían esperar que una comida de vaciado gástrico preparada por el método de  
 20 granulación de lecho fluido no funcionara. Por ejemplo, para que las comidas sean exitosas en ensayos de diagnóstico tales como ensayos de vaciado gástrico de fase sólida, el marcador debería permanecer unido a los componentes de la comida durante la digestión. Los expertos en la materia esperarían que el proceso de granulación de lecho fluido pudiera afectar negativamente a las características de unión y digestivas de los  
 25 componentes tanto de la comida como del marcador. Por ejemplo, en la granulación de lecho fluido, tanto las partículas de matriz de alimento como las partículas de marcador se fluidifican inicialmente como partículas secas. Durante el proceso de granulación de lecho fluido, las partículas se someten a fuerzas cinéticas enormes (mezclado), rehidratación con agua atomizada (la cantidad de agua usada es aproximadamente 50 % en peso de la masa de las partículas secas) y posteriormente se secan de nuevo mediante aire de filtro caliente que pasa a través  
 30 de las cámaras. Además, las diferencias de la naturaleza, tamaño y densidad de las partículas de alimento y de marcador podrían provocar incorporación inconsistente o ninguna de las partículas marcadoras con las partículas de alimento durante el procesamiento de granulación de lecho fluido. No se podría saber si el proceso de granulación de lecho fluido provocaría inconsistencias en las propiedades del componente alimentario debido a que las matrices de alimento y marcador se someten a procedimientos de procesamiento de lecho fluido robustos. Podrían verse  
 35 afectadas propiedades importantes del producto final. Por ejemplo, la capacidad de unión del marcador con el componente alimentario podría verse afectada si el alimento o el marcador se cambiaran mecánica o químicamente durante el proceso. Sin embargo, el solicitante ha descubierto que el procesamiento de granulación de lecho fluido de alimentos previamente secados, por ejemplo huevos completos formulados molidos, liofilizados, no afecta negativamente a la capacidad de unión del marcador con el alimento.

En ciertas realizaciones, el componente de alimento comestible puede ser cualquier alimento en una forma de polvo  
 40 seco o granulada. Por ejemplo, el alimento puede ser huevos completos secados por pulverización o liofilizados que se han molido o roto de otro modo en una forma granulada o de polvo razonablemente uniforme. El alimento puede comprender huevos completos, por ejemplo huevos completos que se han derivado de una formulación de huevo líquida específicamente formulada para sabor, composición de nutrientes y valor calórico satisfactorios. Pueden  
 45 adquirirse huevos completos líquidos en el mercado y someterse a un proceso de liofilización para obtener huevos secos útiles en realizaciones de la invención.

La comida normalizada en la que se va a incorporar el marcador puede ser cualquier tipo de alimento adecuado para  
 consumo humano que pueda adquirirse y/o prepararse en una forma en polvo, molida o granulada. Por ejemplo, las comidas típicas usadas para ensayos de vaciado gástrico han incluido huevos revueltos e hígado. Como se  
 50 apreciará por los expertos en la materia, puede utilizarse cualquier artículo alimentario que sea apto para un proceso de secado por pulverización, un proceso de liofilización o proceso similar seguido de molienda apropiada. Los artículos alimentarios pueden seleccionarse para ajustarse a pacientes con necesidades dietéticas especiales, por ejemplo, vegetarianos o los que desean alimentos procesados según patrones Kosher.

En una realización, la comida normalizada son huevos. Los métodos de escintigrafía tradicionales han  
 55 proporcionado una comida que consiste en un sándwich preparado con huevos comprados en tienda de comestibles radiomarcados. Recientes estudios indican que la curva de excreción de  $^{13}\text{CO}_2$  derivada de una comida biológicamente marcada con  $^{13}\text{C}$  se correlaciona bien con la curva de emisión gamma obtenida de las escintigrafía gástrica. Además, los huevos especialmente formulados son aptos para el proceso de secado por pulverización, proceso de liofilización o proceso similar y tienen un periodo de validez largo. Preferiblemente, los huevos son  
 60 huevos completos, que incluyen tanto la clara como la yema.

La comida o el componente de alimento comestible de una comida pueden marcarse con un isótopo biológicamente

seguro estable, tal como  $^{13}\text{C}$ . Como se apreciará por los expertos en la materia, puede proporcionarse  $^{13}\text{C}$  de cualquier fuente que sea adecuada para consumo humano. Por ejemplo, puede mezclarse ácido octanoico que incorpora  $^{13}\text{C}$  con la comida o componente de alimento comestible de una comida. En una realización, la fuente del  $^{13}\text{C}$  es *Spirulina platensis*. Este alga verde azulada comestible que contiene  $^{13}\text{C}$  puede obtenerse cultivando las células de alga en un ambiente enriquecido con  $^{13}\text{C}$  como se describe en la Patente de Estados Unidos de cesión común N° 6.872.516, la descripción de la cual se incorpora en este documento por referencia en su totalidad. Cuando se consume, el compuesto, biomasa u otra entidad química marcada con  $^{13}\text{C}$  que, cuando se consume por el sujeto, generará dióxido de carbono marcado con  $^{13}\text{C}$  ( $^{13}\text{CO}_2$ ) mediante digestión, absorción, metabolismo u otros procesos biológicos. El dióxido de carbono marcado con  $^{13}\text{C}$  ( $^{13}\text{CO}_2$ ) puede recogerse más tarde obteniendo una muestra del aliento del sujeto.

Como se apreciará por los expertos en la materia, la cantidad de alga u otra fuente de  $^{13}\text{C}$  a añadir a la comida o componente de la misma dependerá de una diversidad de factores incluyendo dosificación deseada, la cantidad de material de la comida, y la fuente de  $^{13}\text{C}$ . Resulta evidente que puede producirse una pluralidad de comidas de acuerdo con el método de granulación de lecho fluido. Una vez que el marcador se ha distribuido de forma uniforme en una comida o componente de la misma, pueden producirse raciones individuales dividiendo simplemente el lote por peso, volumen o cualquier otra técnica adecuada.

La comida normalizada de lecho fluido puede prepararse con una diversidad de marcadores y aplicarse a una amplia serie de tipos de comida y puede incorporar todos los tipos y cantidades de marcadores, incluyendo los que se sintetizan directamente con marcador  $^{13}\text{C}$  o los derivados a través de marcaje con  $^{13}\text{C}$  de biomasa como  $^{13}\text{C}$ -*Spirulina platensis*.

En una realización de la invención, puede prepararse una comida normalizada de lecho fluido usando huevos completos formulados específicamente, molidos, liofilizados y biomasa de *Spirulina platensis* marcada con  $^{13}\text{C}$  en polvo seco en una relación de 27 gramos de huevo por 0,1 gramos de biomasa de *Spirulina platensis*- $^{13}\text{C}$ . El huevo y la biomasa pueden introducirse en equipamiento de procesamiento de lecho fluido tal como una Unidad de Producción de Lecho Fluido FL-M-1 fabricada por Freund Industrial Co., Ltd. (Tokio, Japón). El huevo y la biomasa pueden opcionalmente premezclarse en un mezclador antes de su introducción en el equipamiento de lecho fluido. Puede introducirse aire filtrado a 65 °C para fluidificar los componentes. Una vez fluidificados, puede introducirse una pulverización atomizada cuidadosamente controlada de agua al proceso a una velocidad de 25 gramos/minuto. Las partículas de huevo y partículas de *Spirulina platensis*- $^{13}\text{C}$  se incorporan y con el tiempo (aproximadamente 30 minutos o más, dependiendo de la escala) forman partículas homogéneas compuestas de los materiales mezclados. La pulverización atomizada puede detenerse y las partículas fluidificadas pueden secarse a menos del 3 % de humedad, formando un polvo/granulación mezclado de los dos componentes. El polvo o gránulos resultantes, homogéneos en la matriz de alimento y contenido de  $^{13}\text{C}$ , puede después envasarse en dosis unitarias en unidades más pequeñas e incluirse como el componente de comida de ensayo principal de un kit de diagnóstico utilizado para mediciones de la velocidad del vaciado gástrico. La homogeneidad y uniformidad de cada comida de huevos normalizada asegura la coherencia fisiológica y fiabilidad de diagnóstico.

Para asegurar la precisión de los resultados de ensayo, el  $^{13}\text{C}$  se distribuye convenientemente de forma uniforme por toda la comida comestible o componente alimentario de la misma. En una realización, la comida o componente de la misma y el sustrato marcado con  $^{13}\text{C}$  (por ejemplo sustrato de biomasa) se liofilizan de forma separada. Posteriormente, se mezcla exhaustivamente una cantidad mediada previamente de sustrato  $^{13}\text{C}$  liofilizado con una cantidad medida previamente de huevo liofilizado formulado especialmente como los ingredientes primarios para introducir en la cámara de procesamiento de lecho fluido. Se emplea el método de procesamiento de lecho fluido produciendo la comida normalizada de lecho fluido. En esta realización, no se requiere preparación en el sitio distinta de reconstitución y cocinado, si es necesario, para administrar la comida normalizada de lecho fluido.

En una realización, una gran cantidad de formulación de huevo líquida se liofiliza o seca por pulverización para obtener un lote de huevo seco blanco (no marcado) "maestro" adecuado para su uso como el componente alimentario en el proceso de producción de granulación de lecho fluido. Las formulaciones de huevo líquido adecuadas pueden obtenerse de proveedores certificados por USDA tales como Willamette Farms, localizado en Newberg, Oregón. Preferiblemente, las formulaciones de huevo líquido incluyen huevos completos. Después de secar, el lote de huevo blanco puede molerse para obtener tamaño de partícula relativamente uniforme y puede después dividirse en sublotes y almacenarse. Posteriormente, pueden recuperarse uno o más sublotes del lote de huevo seco blanco maestro para su uso en la preparación de un lote de comida normalizada de lecho fluido. El marcador que se combinará con el componente alimentario puede estar en una forma de polvo seco, suspensión, cristalina u otra forma dispersable o soluble. En algunos casos, el marcador incluye una biomasa marcada con  $^{13}\text{C}$  tal como *Spirulina platensis*- $^{13}\text{C}$ . El marcador también puede añadirse a la matriz alimentaria en cualquiera cantidad deseada. Finalmente, tanto el marcador como el componente de huevo blanco en polvo se someten al proceso de granulación de lecho fluido juntos para proporcionar una comida marcada de forma uniforme normalizada que puede usarse en ensayos de vaciado gástrico o mediciones de otros procesos digestivos o de absorción.

En otras realizaciones, el alimento alimentario puede ser el único componente seco que se fluidifica en la cámara granuladora de lecho fluido mientras que el marcador puede ponerse en solución o suspensión y pulverizarse en el polvo alimentario fluidificado para formar las partículas finales. Como alternativa, el marcador puede ser el único

componente seco que se fluidifica en la cámara granuladora de lecho fluido mientras que el elemento alimentario puede ponerse en solución o suspensión y pulverizarse en la cámara para formar las partículas finales. Pueden adaptarse diversas disposiciones adecuadas para la naturaleza del alimento y el marcador utilizado mediante el proceso de granulación fluidificada.

- 5 El solicitante ha descubierto que la creación de lotes maestros de un componente alimentario pretendido, por ejemplo, huevos en polvo completos, y lotes maestros de un marcador, por ejemplo, *Spirulina platensis*-<sup>13</sup>C, proporcionan beneficios económicos y reguladores cuando se utiliza tecnología de granulación de lecho fluido. Puede producirse una gran cantidad de un componente alimentario comestible, por ejemplo, huevos completos líquidos formulados específicamente, u obtenerse en un punto particular en el tiempo y después secarse en un lote grande. Por lo tanto, puede obtenerse un lote grande sencillo de huevo formulado, uniforme en valor calórico y matriz de nutrientes según la formulación definida, y procesarse (secarse y molerse) de una vez, en lugar de producir u obtener repetidas veces componentes alimentarios justo antes del momento en el que se inicia un proceso de granulación de lecho fluido. La utilización de lotes pequeños producidos de forma independiente de componentes alimentarios y de marcador para cada producción de comida normalizada es menos económica debido a la redundancia de los procedimientos de control de calidad, ensayos de control de calidad, marcaje, envasado y ensayos de estabilidad de cabeza. Sin embargo, ciertas realizaciones posibilitan la utilización de pequeños lotes producidos de forma independiente. Después de producir el lote maestro grande de material marcador y/o alimentario, los lotes maestros pueden dividirse después en cualquiera cantidad deseada de sublotes y después almacenarse. Por ejemplo, puede producirse un lote alimentario maestro de 200 kg de huevo seco adquiriendo 741 kg de huevo líquido formulado específicamente (27 % de sólidos) que después se seca por secado por pulverización o liofilización seguido de molienda. El lote se protege después en envasado sellado a granel con baja humedad y bajo O<sub>2</sub>. Dependiendo de la escala y el equipamiento usados en el proceso de granulación de lecho fluido, pueden prepararse múltiples lotes de comidas normalizadas de lecho fluido a partir de este lote sencillo de producto alimentario maestro, por ejemplo, pueden prepararse diez (10) lotes de 20 kilogramos de comidas normalizadas de lecho fluido a partir de un lote de 200 kilogramos sencillo del lote de alimento maestro. De forma similar, también pueden prepararse lotes maestros de marcador y de forma similar subdividirse para su uso en futuros lotes de granulación de lecho fluido.

- En un momento deseado, puede recuperarse uno o más sublotes de cada componente (alimento y marcador) de los lotes maestros y mezclarse uniformemente mediante el proceso de granulación de lecho fluido. El número de sublotes de comida normalizada de lecho fluido que se producen a partir de los lotes maestros puede alinearse de forma cercana con las ventas y demanda de existencias para comidas de diagnóstico. En otras palabras, cuando se desea preparar comidas normalizadas marcadas, pueden usarse fácilmente los sublotes almacenados, en lugar de tener que producir o pedir componentes alimentarios nuevos y/o marcador nuevo justo antes de cada lote. Por lo tanto, los sublotes del alimento y marcador maestros se fluidifican después juntos para proporcionar un lote de comida normalizada de lecho fluido. Este nuevo lote de comida normalizada de lecho fluido que incorpora un marcador puede después dividirse adicionalmente en dosis individuales y envasarse en dosis unitarias para proporcionar una comida normalizada de matriz, valor calórico, contenido de marcador y uniformidad de marcador coherentes para insertar en un kit de ensayo de vaciado gástrico que se pretende administrar a un paciente individual. Este proceso de producción permite que un fabricante prepare sistemáticamente comidas de ensayo altamente normalizadas y uniformes que incorporan un marcador con materiales más consistentes, requisitos de control de calidad menos laboriosos y alineados de forma más estrecha con las ventas y demandas de existencias.

- Una ventaja adicional del proceso de lecho fluido es la velocidad de fabricación. Se tarda un tiempo sustancial en preparar lotes maestros de materiales marcadores y alimentarios. La formulación, secado y envasado de huevo puede tardar más de un mes para producir un producto de comida final. La síntesis de marcadores y los ensayos de calidad relacionados requeridos para poner a la venta el marcador para su uso como un agente farmacéutico oral tienen un plazo de producción aún más largo. Sin embargo, debido a que estos materiales pueden prepararse en grandes cantidades previamente y mantenerse disponibles de lotes maestros, el proceso de granulación de lecho fluido empleado para combinar los materiales y producir el polvo de comida normalizada de lecho fluido final puede tardar menos de 4 horas. Pueden prepararse múltiples lotes en un solo día.

- 50 El porcentaje de recuperación de unión es una expresión usada para describir el criterio de valoración de un ensayo funcional usado para determinar cuanta de una señal de <sup>13</sup>C derivada de un marcador de <sup>13</sup>C permanece unida al componente o componentes alimentarios de la comida normalizada después de digestión *in vitro* utilizando jugo gástrico de U.S.P. (Farmacopea de Estados Unidos). En este ensayo, se prepara una comida con un marcador de la misma manera que la suministrada al paciente. La mitad de la comida de ensayo con respecto a contenido de <sup>13</sup>C antes de la digestión. Se determina la señal de espectrometría de masas por relación de isótopos específica para el contenido de <sup>13</sup>C en la comida. La segunda mitad de la comida se somete después a digestión gástrica humana *in vitro* simulada. Los sólidos restantes después de la digestión simulada se recuperan después y se analizan con respecto a contenido de <sup>13</sup>C. Si el marcador permanece unido a los componentes sólidos de la matriz de comida, la señal observada de la comida digerida debería ser sustancialmente igual o mayor la de la comida no digerida.

- 60 El solicitante realizó un estudio para determinar el porcentaje de recuperación de unión de un marcador <sup>13</sup>C en una comida de huevo completo marcada con <sup>13</sup>C formulada específicamente que se ha preparado por el método de procesamiento de granulación de lecho fluido y comparó los resultados con el porcentaje de recuperación de unión

en una comida marcada con  $^{13}\text{C}$  de la misma formulación que se ha preparado usando solamente métodos de liofilización. La comida de control tenía una capacidad de unión de 107,5 %. Como se muestra en el Ejemplo 4, tres lotes de comida de ensayo preparados por el método de granulación de lecho fluido, dos usando un procesador de lecho fluido FL-Multi I Flocoater y uno preparado usando un procesador más grande FLM-15, ambos fabricados por Vector/Freund (Tokio Japón), tenían capacidades de unión de 107,5 %, 109,0 % y 106,3 % respectivamente. Por lo tanto, los lotes de comida de ensayo tuvieron un porcentaje de recuperación de unión que es sustancialmente igual al porcentaje de recuperación de unión de la comida de control. Por lo tanto, el marcador permanece altamente unido en una comida preparada por el método de granulación de lecho fluido.

La señal en la comida digerida puede ser solamente ligeramente mayor que la comida predigerida debido a que la formulación de huevo utilizada contiene una cantidad pequeña de sólidos de leche desnatada. Aunque los sólidos de leche desnatada contribuyen al valor calórico y sabor, no están implicados en la unión del marcador y no se conservan en sólidos postdigeridos residuales. Por lo tanto la concentración de  $^{13}\text{C}$  es ligeramente mayor en el material postdigerido restante en comparación con el material predigerido que originalmente contenía los sólidos de leche. De media, el porcentaje de unión entre múltiples lotes de comidas normalizadas de lecho fluido preparadas por el método de granulación de lecho fluido tiene una media de aproximadamente 107,3 %. Por lo tanto, la señal de  $^{13}\text{C}$  y atributos de unión de las comidas preparadas por el método de granulación de lecho fluido es excelente. Por lo tanto, el solicitante ha descubierto que las fuerzas cinéticas duras, rehidratación y procedimientos de secado posteriores implicados en la granulación de lecho fluido sorprendentemente no perjudican a la unión y capacidad de señalización de  $^{13}\text{C}$  y las características digestivas de la comida.

Otro elemento impredecible en la preparación de una comida normalizada que contiene un marcador por procesamiento de granulación de lecho fluido es el grado en el que, si lo hubiera, las partículas marcadoras se integrarían o incorporarían con partículas de matriz alimentaria. La uniformidad del marcador por toda la matriz alimentaria es una propiedad deseable en comidas pretendidas para medir el vaciado gástrico, absorción o funciones metabólicas asociadas con una comida normalizada. La uniformidad da como resultado fiabilidad del diagnóstico. Además, la uniformidad ayuda a la capacidad del producto para cumplir los requisitos de la Administración de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos (o los de otros cuerpos reguladores) con respecto a uniformidad de dosis en un producto farmacéutico oral. La toma de muestras del producto a lo largo de un lote completado de producto pretendido para distribución comercial demuestran convenientemente que los valores de ensayo de esas muestras tienen una desviación típica relativa (DTR) de uniformidad de dosis < 6,0 % para cumplir los requisitos de GMPc de la Administración de Alimentos y Fármacos. Un experto en la materia no esperaría una DTR de uniformidad de dosis de  $^{13}\text{C}$  baja en un producto de lecho fluido debido a las diferencias en las propiedades de partícula de marcador y matriz alimentaria, por ejemplo, densidad, humedad y tamaño. En el desarrollo del solicitante de comidas de lecho fluido, se usaron partículas de huevo seco (la matriz alimentaria) que tenían una densidad de 0,4, < 3 % de humedad y tamaños de partículas que variaban de 355 micrómetros a 1.000 micrómetros (promedio de 558 micrómetros). Las partículas marcadoras secas (biomasa- $^{13}\text{C}$ ) tenían una densidad de 0,33, < 5 % de humedad y se habían seleccionado a través de una criba de 250 micrómetros de modo que todas las partículas eran < 250 micrómetros. Por lo tanto, no se esperaría necesariamente una incorporación uniforme de las partículas no uniformes de densidad distinta. Sin embargo, el solicitante ha descubierto que de hecho la uniformidad del marcador por todo el producto granulado de lecho fluido es excelente. Dos lotes de comida normalizada de lecho fluido producidos por el método de granulación de lecho fluido usando un Flocoater FL-Multi 1 dieron como resultado una uniformidad de marcador  $^{13}\text{C}$  excelente. Se obtuvieron diez muestras de cada lote y se analizaron de acuerdo con el Método de USP 905 con respecto a uniformidad de contenido. Los porcentajes de DTR respectivos para cada lote fueron de 3,1 % y 3,9 %, que están casi 50 % por debajo del límite de 6,0 %. De forma similar, tres lotes adicionales producidos en el Flocoater FLM-15 a mayor escala demostraron una uniformidad aún más estrecha, teniendo DTR de 3,0 %, 2,5 % y 1,4 % respectivamente.

Puede interesar adicionalmente que la concentración de diana deseada de marcador en la comida de lecho fluido no se consiguiera a través de granulación de lecho fluido. Los métodos previamente descritos para preparar una comida normalizada que contenga un marcador, tales como el descrito en la solicitud de patente del solicitante número 12/121.116, Alimento Comestible Liofilizado que Incorpora un Marcador y Métodos para Prepararlo, presentada el 15 de mayo de 2008 probablemente consigan la concentración diana pretendida debido a que durante la liofilización del huevo líquido formulado que contiene el marcador, solamente se pierde agua del proceso a través de sublimación. Los sólidos de la matriz alimentaria y el marcador no se pierden ni se manipulan mecánicamente durante el proceso de liofilización. Por el contrario, durante el procesamiento de granulación de lecho fluido, los materiales se introducen en una cámara y se fluidifican mediante aire caliente introducido a una velocidad de aproximadamente 45,72-53,34 m<sup>2</sup>/minuto (metros cuadrados por minuto) o mayor. Para evitar que el producto salga de la cámara pero permitir que el aire fluidificado escape durante el proceso de producción, se utilizan filtros de cartucho de poliéster como parte del aparato granulador. Por lo tanto, no se puede predecir si podrían escapar partículas de matriz alimentaria o si estarían preferentemente unidas a diferentes componentes del aparato granulador afectando de este modo a la concentración final del marcador  $^{13}\text{C}$  en el producto final. El solicitante descubrió que realizando el proceso en condiciones controladas y pulsando los filtros continuamente a lo largo del ciclo de granulación fue sorprendentemente posible conseguir tanto el rendimiento de producto final (el peso de producto final al terminar el proceso en comparación con la suma de los pesos de los materiales de partida) como la concentración de  $^{13}\text{C}$  diana. Por ejemplo, el solicitante produjo un lote de 500 gramos de comida normalizada de



lecho fluido (usando huevo seco como el componente alimentario y biomasa de  $^{13}\text{C}$  seca como el componente marcador) utilizando el Flocoater FL-Multi 1. Durante este proceso, se introdujeron 500 gramos de huevo molido seco en el granulador junto con 1,8 gramos de biomasa marcada con  $^{13}\text{C}$ . La biomasa contenía 42,6 % de  $^{13}\text{C}$  en peso. La masa de partida total fue por lo tanto de 501,8 gramos. La masa del producto final recuperado al terminar el proceso fue de 488,3 gramos, o 97 % del peso de partida. La concentración del producto final (miligramos de  $^{13}\text{C}$ /gramo de producto final) fue del 96 % de la concentración diana. El solicitante puede conseguir fácilmente una diana de 100 % haciendo un ligero ajuste de excedente al marcador  $^{13}\text{C}$  que se añade al lote. Por ejemplo, el solicitante repitió el mismo proceso para el lote del mismo tamaño en el mismo equipamiento utilizando un exceso de 3 % de biomasa marcada con  $^{13}\text{C}$ . El rendimiento para este lote fue del 99 % y la concentración del producto de  $^{13}\text{C}$  fue 101 % de la concentración diana.

Los lotes descritos anteriormente se produjeron usando una escala de aproximadamente el 33 % de la capacidad del Granulador FL-Multi I. El solicitante observó que la eficacia y rendimiento de los granuladores de lecho fluido se optimiza cuando el sistema de lecho fluido funciona aproximadamente al 75-80 % de su capacidad máxima. En otro ejemplo, el solicitante cambió la escala del proceso usando un Flocoater de lecho fluido FLM-15 (fabricado por Vector/Freund. Tokio, Japón) para producir un tamaño de lote de 14,5 kilogramos que representaba 80 % de la capacidad del Flocoater FLM-15. El lote se fabricó usando 14.500 gramos del mismo huevo seco formulado usado en el sistema Flocoater más pequeño y 52,2 gramos de biomasa con  $^{13}\text{C}$  que contenía 41,56 % de  $^{13}\text{C}$  en peso. El rendimiento fue del 100 % y la concentración de  $^{13}\text{C}$  por gramo de producto final fue del 99,6 % de la concentración diana. Tres lotes sucesivos producidos en el Flocoater FLM-15 tuvieron un rendimiento similar y la concentración de  $^{13}\text{C}$  tuvo una media de 100,3 % de la concentración diana.

Finalmente, debido a que se introduce humedad en la matriz tanto de alimento como de marcador durante el procesamiento de granulación de lecho fluido, es deseable secar el producto para evitar su deterioro. En algunas realizaciones, el producto final contiene < 3 % de humedad, especialmente para mezclas de huevo formulado seco. Los lotes del solicitante producidos por granulación de lecho fluido pueden secarse uniformemente a menos de < 3 % de humedad (promedio = 2,3 %). El producto puede secarse convenientemente dentro de la máquina de granulación de lecho fluido, tal como por aire caliente continuo que fluye a través de la cámara.

Para evaluar una propiedad asociada de sequedad, los expertos en la materia de la conservación de alimentos utilizan una propiedad de un producto conocida como actividad acuosa. La actividad acuosa, representada por el símbolo  $a_w$ , es una medida del estado de energía del agua en un producto alimentario. Es deseable una actividad acuosa baja, lo que significa que el agua no está fácilmente disponible para microorganismos o procesos que pudieran participar en el deterioro del producto. Diversos factores afectan al grado en el que el agua está "unida" al producto. Estos incluyen efectos de coligación de solutos disueltos tales como sal o azúcar que interaccionan con agua residual a través de enlaces dipolo-dipolo, iónicos y de hidrógeno, cambios de los enlaces de hidrógeno entre moléculas de agua e interacciones superficiales en las que el agua puede interaccionar directamente con grupos químicos en ingredientes tales como almidones y proteínas a través de diversos enlaces químicos e hidrófobos. Los instrumentos de actividad acuosa miden la cantidad de agua libre (en ocasiones denominada agua no unida o activa) en el producto.

Es deseable conseguir baja actividad acuosa en las comidas de ensayo del solicitante para (1) optimizar la comida de ensayo para estabilidad en almacenamiento larga, (2) reducir el potencial de degradación de ingredientes tanto en la matriz alimentaria como en el marcador que son susceptibles de hidrólisis química, (3) reducir la susceptibilidad de las comidas de ensayo a contaminación microbiana y (4) reducir la carga y frecuencia de los límites microbianos tradicionales ensayando y explorando con respecto a microorganismos inaceptables.

Las actividades acuosas requeridas para soportar el crecimiento de muchos microorganismos están bien establecidas. No crece ningún organismo inaceptable, incluyendo patógenos bien conocidos tales como *E. coli* y *Staphylococcus aureus*, en un ambiente con actividad acuosa < 0,6. Las comidas de ensayo del solicitante, cuando se preparan por el método de granulación de lecho fluido y se secan a < 3 % de humedad, demuestran niveles de actividad acuosa extremadamente bajos (muy buenos). Como se describe en el Ejemplo 3, los valores de  $a_w$  para tres lotes independientes de comidas de ensayo del solicitante que incorporaban un marcador de biomasa marcada con  $^{13}\text{C}$  fueron de 0,16, 0,10 y 0,14, respectivamente. Tres lotes adicionales sucesivos producidos en el Flocoater FLM-15 demostraron valores de  $a_w$  de 0,16, 0,16 y 0,10 respectivamente. La actividad acuosa extremadamente baja del solicitante asegura la conservación del producto, seguridad y excelente aptitud para almacenamiento de la comida de lecho fluido.

Debería entenderse que la comida normalizada de lecho fluido puede utilizarse para incorporar y suministrar de forma eficaz y precisa cualquier marcador, isótopo o fármaco que no sea susceptible de degradación durante el proceso de fabricación de lecho fluido de modo que el marcador o fármaco mantenga su actividad funcional una vez que se ha reconstituido la comida suministrada. El método de granulación de lecho fluido usado para preparar una comida convencional en la que puede incorporarse un marcador o fármaco en un componente de la comida puede usarse para suministrar un marcador o fármaco para su uso en cualquier procedimiento médico en el que se realice una medición fisiológica o de diagnóstico después de la ingesta por el paciente de un alimento comestible marcado.

La comida normalizada de lecho fluido puede usarse para evaluar el vaciado gástrico en pacientes o sujetos de

ensayo. Para utilizar el alimento, el personal clínico puede reconstituir, en general con una cantidad específica de agua potable, la comida premarcada antes del ensayo. En algunos casos, la comida puede calentarse o cocinarse después de la reconstitución. Por ejemplo, una bolsa de 27 g de polvo marcado con <sup>13</sup>C que utiliza huevo completo seco o formulado puede rehidratarse con 113,40 g de agua y cocinarse durante 1,5 minutos en un equipo de microondas a 1100 vatios para formar una torta de huevo marcada uniformemente. El paciente ingiere después la comida, que incluye el marcador, por ejemplo, alga marcada. A medida que el paciente pasa la comida al intestino delgado, el marcador <sup>13</sup>C y los componentes alimentarios acompañantes se absorben y metabolizan dando como resultado la producción de dióxido de carbono marcado, específicamente <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>. El <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> se excreta en el aliento del paciente. Se recogen muestras de aliento por técnicas conocidas en la materia, a intervalos de tiempo periódicos y la cantidad de <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> en la muestra de aliento se determina por técnicas conocidas en la materia.

Para resultados precisos de mediciones de vaciado gástrico de fase sólida, el marcador permanece unido al vehículo de suministro, por ejemplo, un componente alimentario comestible. Si el marcador se separa puede salir antes del proceso de vaciado de fase sólida a la fase líquida, pasando a través del píloro y al intestino más rápido de lo que sería representativo del proceso de vaciado gástrico de fase sólida real. El marcador no unido también puede pasar a través de o absorberse por la pared del estómago y entrar en la circulación y el proceso de metabolismo de una manera que aumente una señal de <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> sin relación con el proceso digestivo que se pretende medir. Por lo tanto, el proceso de fabricación convenientemente no cambia la naturaleza de las materias primas hasta el grado de que se pierda la capacidad de unión.

En ensayos de diagnóstico que usan <sup>13</sup>C, la cantidad de <sup>13</sup>C administrada se conoce. En un ensayo de aliento, los resultados se basan en la cantidad de <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> producida, que está relacionada directamente con la cantidad originalmente ingerida. Para determinar la dosificación real de <sup>13</sup>C, se mide el porcentaje en peso de carbono total, así como el porcentaje de <sup>13</sup>C en el marcador. Esto se muestra en la Tabla 1, que ilustra tres cantidades diferentes de dosificaciones diana de marcador <sup>13</sup>C cuando se utiliza la especie de alga marcada con <sup>13</sup>C *S. platensis*. La cantidad de *S. platensis* marcada con <sup>13</sup>C que debe incorporarse a una comida para conseguir la dosis diana de <sup>13</sup>C se determina de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{Dosis diana mg } ^{13}\text{C} / (\% \text{ de Átomos } ^{13}\text{C} \times \% \text{ de Carbono Total}) = \text{mg } [^{13}\text{C}]\text{-}S. \textit{platensis} \text{ distribuida}$$

La Tabla 1 proporciona varios ejemplos de cómo se usa la ecuación. Este cálculo es aplicable a moléculas marcadas con <sup>13</sup>C o entidades mayores, tales como una biomasa.

Tabla 1. Cálculo Ejemplar de Distribución Para Conseguir Tres Niveles de Dosis Diana De <sup>13</sup>C.

30

Dosis Diana mg <sup>13</sup> C	% de Átomos de <sup>13</sup> C en S.p.- [ <sup>13</sup> C]	% de Carbono de S.p.- [ <sup>13</sup> C]	mg de S.p.- [ <sup>13</sup> C]	Tolerancia ± mg
80	0,95	0,42	200	20
40			100	10
20			50	5

Para *S. platensis*, el contenido de carbono generalmente será de aproximadamente 42 %-44 % y la incorporación de <sup>13</sup>C aproximadamente 95 %, como se muestra en la tabla anterior.

En una realización en la que se usa una comida para evaluar el vaciado gástrico, puede incorporarse un marcador <sup>99m</sup>Tc o comida predicada y un marcador o comida sustituta en la misma matriz de comida. En este caso el marcador <sup>99m</sup>Tc se añade a la matriz de comida en el sitio de administración debido a su naturaleza de semivida radiactiva corta.

En una realización, la comida predicada es una comida de lecho fluido que contiene un marcador sustituto de <sup>13</sup>C. Después de reconstituirse en la comida predicada, se mezcla marcador <sup>99m</sup>Tc en la comida justo antes de cocinar de modo que el radiomarcador y el marcador sustituto de <sup>13</sup>C se unen en la misma matriz alimentaria formulada específicamente. El paciente después ingiere la comida doblemente marcada y se mide el vaciado gástrico simultáneamente por el método de escintigrafía previamente descrito y el método de ensayo de aliento. Las dos mediciones obtenidas de este modo se comparan entre sí y se correlacionan matemáticamente. Puesto que tanto el radiomarcador como el marcador sustituto se incorporan en la misma matriz, esta realización permite la validación fiable de un tipo de comida predicada o marcador predicado. Haciendo esto, ambos ensayos se administran eliminando de forma simultánea la necesidad de administrar cada método de ensayo de forma independiente en días separados. Poniendo ambos marcadores en la misma comida de lecho fluido formulada especialmente y realizando cada método simultáneamente, los efectos de variación biológica de un día a otro normal se eliminan y,

por lo tanto, puede evaluarse la correlación del método sustituto con el método predicado en ausencia de variación biológica de un día a otro normal mostrada en seres humanos.

Una ventaja de establecer una comida de lecho fluido adecuada para la introducción de un marcador tanto predicado como sustituto es que la comida puede usarse para ensayar dosificaciones diferentes de marcadores para asegurar que existe suficiente señal de marcador que surge de la comida para realizar la conclusión fisiológica o de diagnóstico apropiada. Por ejemplo, antes de establecer una relación entre un marcador predicado radiactivo y un nuevo marcador sustituto de  $^{13}\text{C}$  no radioactivo, se determina la dosis apropiada de  $^{13}\text{C}$  a incorporar en la comida mediante el método de granulación de lecho fluido para proporcionar una velocidad de excreción de  $^{13}\text{CO}_2$  fiable en el paciente. La señal se mide fácilmente, proporcionando datos fiables a partir de los que establecer una relación matemática entre el marcador sustituto y el predicado.

El desarrollo de una comida sustituta que puede usarse para validar de forma fiable el uso de un marcador sustituto o fármaco que sea similar en textura, composición y valor nutricional a una comida predicada y que pueda incorporarse fácilmente en un sistema de comida/suministro disponible en el mercado permitirá la sustitución con marcadores no reactivos estables de marcadores radiactivos en las comidas de ensayo. Por lo tanto, en la evaluación de condiciones fisiológicas tales como motilidad gástrica en mujeres en edad de tener hijos y en niños en los que la exposición a radiación no es deseable, pueden usarse marcadores no reactivos estables.

Puede realizarse una multitud de evaluaciones usando la comida normalizada de lecho fluido que contiene marcadores de vaciado gástrico descritos en este documento tales como comparaciones de marcador sustituto y predicado, medición de variación de motilidad gástrica dentro del paciente, comparaciones de velocidades de vaciado gástrico entre pacientes, establecimiento de intervalos normales para vaciado gástrico en individuos sanos, establecimiento de puntos de corte para diferenciación de sujetos normales y con deficiencias, establecimiento de límites críticos de eficacia terapéutica y similares.

Una vez validada frente a un método predicado bien caracterizado, por ejemplo, escintigrafía gástrica, una comida de lecho fluido normalizada marcada sin radiactividad sustituta como se describe en este documento es adecuada para ensayos de diagnóstico en situaciones clínicas. Sin embargo, es de particular importancia su uso en estudios epidemiológicos a gran escala hasta ahora difíciles de realizar. La escintigrafía gástrica es cara, radiactiva y requiere instalaciones y equipamiento especializados. Además del coste excesivo, no puede usarse en estudios epidemiológicos en niños y mujeres en edad de tener hijos. Las comidas producidas por los métodos descritos en este documento son idealmente adecuadas para estudios en los que pueden ensayarse grandes poblaciones de forma simple, conveniente y segura para determinar la prevalencia de diversas deficiencias de motilidad gástrica. Por ejemplo, la prevalencia de gastroparesis como se describe en la bibliografía médica varía en gran medida debido a que se ha realizado solamente un número muy limitado de estudios pequeños debido a las limitaciones de la escintigrafía gástrica. La utilización de comidas normalizadas marcadas con  $^{13}\text{C}$  producidas y validadas de la manera descrita en este documento puede proporcionarse convenientemente y de forma segura a diversas poblaciones sospechosas de gastroparesis en números suficientes para validar estadísticamente la verdadera prevalencia de gastroparesis. Debido a que el ensayo está normalizado, puede proporcionarse en una amplia serie de poblaciones y localizaciones. Por ejemplo, se cree que la gastroparesis aparece principalmente en diabéticos, pacientes con dispepsia funcional no ulcerosa y en subconjuntos de pacientes con GERD (enfermedad de reflujo gastroesofágico). Estas poblaciones pueden ahora ensayarse de forma segura y conveniente en una situación epidemiológica de paciente externo.

Idealmente, los alimentos comestibles de las comidas sustitutas y/o predicadas usadas en situaciones clínicas de la invención se preparan en un ambiente de fabricación farmacéutico y/o alimentario controlado que cumple los patrones reguladores apropiados y tiene estabilidad de envasado a largo plazo con técnicas de reconstitución fáciles y fiables. Para usarse comercialmente para el diagnóstico y control de trastornos de vaciado gástrico, absorción o metabólicos en seres humanos, se requiere por ley que las comidas de vaciado gástrico con marcadores relacionados se produzcan en conformidad con las buenas prácticas de fabricación actuales aplicables a productos farmacéuticos puesto que el producto "se usará en el diagnóstico o alivio de enfermedad". Los métodos de producción cumplen con las Regulaciones de Fabricación de Fármacos y Sistema de Calidad de la Administración de Alimentos y Fármacos. Estas comidas cumplen los requisitos específicos de seguridad, uniformidad, fabricación controlada, estabilidad, marcaje y envasado para distribuirse legalmente y considerarse productos no adulterados. Resulta más importante que la uniformidad y fiabilidad del diagnóstico del producto está asegurada. Un parámetro regulador es la uniformidad de la dosificación pretendida para suministro al paciente. La toma de muestras apropiada de la forma de dosificación final de la comida cumple un patrón de uniformidad de marcador de desviación típica relativa  $< 6,0\%$  (% de DTR).

Las técnicas de fabricación de lecho fluido facilitan el proceso de conformidad con estas regulaciones. La preparación de estas comidas normalizadas de lecho fluido en un ambiente de fabricación de este tipo asegura que las materias primas de las comidas no se prepararán de forma aleatoria en el sitio de administración del ensayo, lo que puede conducir a imprecisiones. Por ejemplo, pueden surgir incoherencias de un sitio a otro debido a diferencias en los abastecimientos de tipo tienda de alimentación, diferencias en métodos y tiempos de cocinado y técnicas de administración de ensayo. Además, el uso de un proceso de fabricación para preparar el alimento comestible es beneficioso porque permite no solamente la producción de una comida más "normalizada", sino también para uso

- comercial a amplia escala de los alimentos comestibles con un marcador o fármaco biológico apropiado coherente con los requisitos reguladores. Para las comidas que deban cocinarse en el sitio de ensayo, es mejor que se aplique el mismo método de cocinado a la comida predicada y la comida sustituta para minimizar la incertidumbre. Una comida normalizada de lecho fluido también puede actuar como un modo de suministro normalizado para fármacos terapéuticos. De forma similar puede usarse una serie de comidas normalizadas preparadas por el método de granulación de lecho fluido como se ha descrito para estudiar la absorción de diversos fármacos de diagnóstico y/o terapéuticos con diversas composiciones de comida. Además, una comida normalizada preparada por el método de granulación de lecho fluido que incorpora marcadores y/o fármacos de diagnóstico y terapéuticos puede usarse para estudios animales en los que deben suministrarse componentes alimentarios, dosificación de marcador o fármaco y cantidad de alimento en peso con control fiable. En una realización, una vez que se ha establecido que una comida sustituta con su marcador o fármaco sustituto es útil por comparación con una comida predicada con el marcador o fármaco predicado, el uso de tecnología de lecho fluido para producir producto homogéneo y uniforme no asegura solamente la estabilidad y seguridad de la comida sino también la reproducibilidad de los resultados de ensayo obtenidos con tales comidas normalizadas.
- 15 Ciertas realizaciones se describirán adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes. Resultará evidente para los expertos en la materia que pueden hacerse muchos cambios en las realizaciones descritas en los Ejemplos sin separarse del alcance de la presente invención. Por lo tanto, el alcance de la presente invención no debería limitarse a realizaciones descritas en la presente solicitud, sino solamente por las realizaciones descritas por el lenguaje de las reivindicaciones y los equivalentes de esas realizaciones.

20 **Ejemplo 1: Preparación de comidas de huevo normalizadas premarcadas con <sup>13</sup>C.**

Se obtuvo una formulación de huevo líquido de Willamette Farms, Inc., (Canby, OR). El huevo líquido se liofilizó por Oregon Freeze Dry, Inc. (Albany, OR) para producir un huevo completo seco, molido, pasteurizado, sin azúcar formulado a partir de huevos completos, agua, leche en polvo desnatada, sal y saporífero de ahumado. Se proporcionó biomasa de *Spirulina* marcada con <sup>13</sup>C molida seca que contenía <sup>13</sup>C 41,56 % en peso (como se determinó por espectrometría de masas por relación de isótopos) por Advanced Breath Diagnostics, LLC (Brentwood, TN). Se introdujeron 14,5 kilogramos (una cantidad igual al 80 % de la capacidad del Flocoater FLM-15) del huevo seco y 52,2 de la biomasa en la cámara de procesamiento de un Granulador de Lecho Fluido FLM-15. La fluidificación se realizó por VPS Corporation de Cranbury, NJ.

El número de comidas derivado del proceso se calcula a partir de la siguiente fórmula:

30 
$$14.500 \text{ gramos de polvo de huevo seco} / 27 \text{ gramos por comida} = 537 \text{ comidas de dosis unitaria}$$

La concentración de <sup>13</sup>C diana de la comida normalizada se calcula como sigue:

$$\begin{aligned}
 &^{13}\text{C-Spirulina cargada en el sistema:} &&= 52,2 \text{ gramos} \\
 &^{13}\text{C total contribuido por la } ^{13}\text{C-Spirulina:} &&= (52,2) \times (41,56 \%) \\
 & &&= 21,694 \text{ gramos} \\
 & &&= 21.694 \text{ mg} \\
 & &&= 21.694 \text{ mg}/14.500 \text{ gramos de huevo} \\
 & &&= 1,496 \text{ mg } ^{13}\text{C} / \text{gramo de huevo}
 \end{aligned}$$

Los polvos de huevo y <sup>13</sup>C-Spirulina se premezclaron en un mezclador PK en forma de V de 60,96 cm<sup>3</sup> durante 5 minutos antes de su inserción en la cámara granuladora, un proceso de premezcla convencional utilizado con frecuencia en la tecnología de granulación de lecho fluido. Se instalaron filtros de poliéster pesados previamente limpios, secos en el aparato granulador. Después de insertar los polvos mezclados, el proceso se llevó a cabo utilizando aire filtrado a aproximadamente 55 °C. Los ajustes de flujo de aire que variaban entre 45,72 y 121,92 m<sup>3</sup> se utilizaron para mantener la fluidificación de los polvos y el producto emergente durante todo el proceso, incluyendo durante el periodo en el que se insertó agua atomizada en el proceso. Después de la fluidificación de los polvos, se introdujo agua atomizada en el sistema a velocidades que variaban entre 50 y 125 gramos/minuto. Durante la producción, los filtros se pulsaron continuamente cada 30 segundos a 275,79 kPa para evitar obstruir los filtros y/o retener material en los filtros. Una vez que el proceso se había ejecutado durante un tiempo suficiente para permitir la aglomeración que produce uniformidad satisfactoria de materiales en los gránulos resultantes, la incorporación de las partículas se completó y se detuvo el agua atomizada. El producto fluidificado se secó a menos de 3 % de humedad (como se midió por el Método de Pérdida por Secado de Mettler) usando flujo de aire caliente continuo en el aparato granulador. El proceso de granulación completo tardó 105 minutos. Solamente se retuvieron 58 gramos de las 14.552,2 gramos de materiales cargados en el sistema en los filtros (< 0,05 %). Después de completarse la granulación y el secado, la cantidad fraccional de material retenido de los filtros se combinó con el

producto total recuperado de la cámara granuladora y se mezcló durante 5 minutos, utilizando de nuevo un mezclador en V de 60,96 cm<sup>3</sup>.

5 El rendimiento fue del 101,4 % de los materiales cargados y la concentración (mg de <sup>13</sup>C / gramo) fue del 98,1 % de la concentración esperada (diana). Además, los 14.500 gramos de huevo en polvo cargados en el sistema antes del procesamiento contenían 1 % de humedad. El producto final contenía 2,2 % de humedad. Corrigiendo con respecto al peso al que contribuye la diferencia de humedad, el proceso tuvo un rendimiento del 100 % y el producto final contuvo 99,63 % de la concentración de <sup>13</sup>C diana. La actividad acuosa (a 2,2 % de humedad) fue de 0,14.

### Ejemplo 2: Confirmación De Distribución Uniforme del Marcador

10 Se prepararon dos lotes de 500 gramos de comidas normalizadas de lecho fluido usando un Flocoater FLM-1. Los lotes se prepararon de acuerdo con el método descrito en el Ejemplo 1.

Los dos lotes se ensayaron con respecto a uniformidad de <sup>13</sup>C de acuerdo con el método de USP 905: Uniformidad de Contenido. De cada lote se extrajeron aleatoriamente diez muestras de todo el polvo granulado a granel final. Se analizó una alícuota de cada muestra con respecto a contenido de <sup>13</sup>C en una cámara de combustión unida a un espectrofotómetro de masas por relación de isótopos y se comparó con un patrón de <sup>13</sup>C conocido.

15 El primer lote contenía 1,39 mg de <sup>13</sup>C/gramo de polvo granulado. La desviación típica de las 10 muestras fue de 0,04 y el porcentaje de desviación típica relativa (%DTR) fue del 3,1 %. El segundo lote contenía 1,47 mg de <sup>13</sup>C/gramo de huevo granulado. La desviación típica a lo largo de las diez muestras fue de 0,06 y el % de DTR fue de 3,9 %. Estos resultados demuestran que el marcador de <sup>13</sup>C se distribuyó uniformemente en la matriz de comida. La uniformidad del marcador de <sup>13</sup>C en comidas normalizadas de lecho fluido es excelente y sustancialmente más estrecha (en casi 50 %) que el límite requerido para productos farmacéuticos comerciales.

### Ejemplo 3: Confirmación De Actividad Acuosa Baja Para Asegurar la Estabilidad y Seguridad del Producto.

25 La actividad acuosa ( $a_w$  es un atributo de una comida normalizada preparada para su uso en medicina terapéutica y de diagnóstico. Es deseable baja actividad acuosa para la preservación del producto, estabilidad en almacenamiento y como una defensa contra deterioro químico o microbiológico del producto. Para evitar la contaminación microbiana y crecimiento de organismos intolerables, el valor de  $a_w$  debe ser < 0,6.

30 Los tres lotes de comidas normalizadas de lecho fluido producidas en los Ejemplos 1 y 2 se ensayaron con respecto a actividad acuosa utilizando un Medidor de Actividad Acuosa Aqua Lab (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA.) disponible en el mercado. Dos de los lotes se produjeron en un granulador FL-Multi I en el Ejemplo 2 y 1 en un granulador FLM-15 en el Ejemplo 1. Los tres lotes se secaron a < 3 % de humedad. Los valores de  $a_w$  respectivos fueron 0,16, 0,10 y 0,14. Por lo tanto, estas comidas tienen valores de  $a_w$  4 veces por debajo del límite de 0,6.

### Ejemplo 4: Evaluación de la capacidad de unión

35 Los tres lotes de comidas normalizadas de lecho fluido producidas en los Ejemplos 1 y 2 también se ensayaron con respecto a la capacidad de unión. También se ensayó una comida convencional liofilizada de control. Para cada comida se reconstituyó un polvo granulado que pesaba 27 gramos y que contenía una cantidad conocida de marcador <sup>13</sup>C con 93 g de agua, se mezcló y se cocinó. La comida cocinada se enfrió, se pesó y se pasó a través de una criba de 4 mm a un platillo de recogida. Se recogió una alícuota del material seleccionado, aproximadamente 5 gramos, se secó durante una noche a 100 °C y se molió con mortero hasta alcanzar un polvo fino. Se combustionaron diez alícuotas de la muestra seca y se ensayaron por espectrometría de masas por relación de isótopo de gas para determinar la concentración de <sup>13</sup>C.

40 La parte restante de la comida de huevo que permaneció en el platillo después del procedimiento de exploración se dividió en dos cantidades iguales y se sometió a digestión *in vitro*. Se preparó fluido gástrico U.S.P. disolviendo 2,0 g de NaCl, 3,2 g de pepsina purificada derivada de mucosa del estómago porcina con una actividad de 800-2500 unidades/mg de proteína y 7,0 ml de ácido clorhídrico concentrado en 1 l de agua.

45 Las partes de comida de huevo se incubaron en 100 ml de la solución gástrica preparada a 37 °C durante 30 minutos con agitación constante a una velocidad fija de 200 ± 20 rpm usando un aparato de paleta de acero inoxidable localizada aproximadamente a 6,35 mm del fondo del matraz. Después de la digestión, los contenidos de cada matraz se vertieron sobre un conjunto apilado de cribas de 4 mm, 2 mm y 1 mm y se aclararon con agua del grifo fría durante 1 minuto a una velocidad de aproximadamente 4 litros/minuto y se permitió que se secase durante 5 minutos. El peso de la comida digerida que permanece en cada criba se registró y aisló en platillos de muestra de aluminio tarados. Las muestras se secaron durante una noche a 100 °C para retirar el exceso de agua.

55 Se analizaron cinco alícuotas de cada uno de los dos materiales secos después de la digestión (diez en total) obtenidos de la criba de 1 mm (siendo las partículas de 1 mm de tamaño representativas del tamaño más pequeño que alcanza una partícula de alimento después del proceso completo de trituración) con respecto a <sup>13</sup>C por combustión y espectrometría de masas por relación de isótopos. El contenido de <sup>13</sup>C de estas muestras se comparó con el contenido de <sup>13</sup>C de las muestras previamente (no) digeridas. El porcentaje de unión se calculó de acuerdo

con la siguiente ecuación: (contenido de  $^{13}\text{C}$  por gramo de carbono de comida después de la digestión)/(contenido de  $^{13}\text{C}$  por gramo de carbono en la comida antes de la digestión) x 100.

5 El valor medio de las diez alícuotas de los materiales pre y post digeridos respectivos se calculó para determinar la capacidad de unión de la muestra. Sus valores de capacidad de unión para las tres comidas fueron 107,5 %, 109 % y 106,3 %. En comparación, el control liofilizado tuvo una capacidad de unión de 107,4 %. Por lo tanto, la granulación de lecho fluido es un proceso que no interfiere sino que confiere excelentes características de unión del marcador con la matriz alimentaria.

10 Aunque se han descrito realizaciones preferidas de la presente invención se entenderá que pueden realizarse diversos cambios, adaptaciones y modificaciones de las mismas sin apartarse del espíritu de la invención y el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

**REIVINDICACIONES**

1. Un método para producir una comida normalizada de lecho fluido que comprende:
  - proporcionar un alimento comestible;
  - proporcionar un marcador;
  - 5 fluidificar el alimento y el marcador; y
  - aglomerar el alimento y marcador fluidificados.
2. El método de la reivindicación 1 que comprende adicionalmente secar el alimento y marcador, preferiblemente de modo que esté presente menos de 3 % de humedad.
3. El método de la reivindicación 1 que comprende adicionalmente premezclar el alimento y marcador.
- 10 4. El método de la reivindicación 1 en el que la aglomeración comprende aplicar agua atomizada al alimento y marcador fluidificados.
5. Un método para producir una comida normalizada de lecho fluido que comprende:
  - proporcionar un componente seco;
  - proporcionar un componente húmedo en una solución o una suspensión;
  - 15 proporcionar un procesador de lecho fluido;
  - fluidificar el componente seco en el procesador de lecho fluido;
  - atomizar el componente húmedo en el procesador de lecho fluido; y
  - aglomerar el componente seco fluidificado y componente húmedo atomizado,
  - 20 en el que el componente seco fluidificado es un alimento comestible o un marcador y el componente húmedo atomizado es el otro alimento comestible o marcador.
6. El método de la reivindicación 5 que comprende adicionalmente:
  - proporcionar un alimento comestible seco;
  - proporcionar un procesador de lecho fluido;
  - fluidificar el alimento en el procesador de lecho fluido;
  - 25 proporcionar un marcador en una solución o una suspensión;
  - atomizar el marcador en el procesador de lecho fluido; y
  - aglomerar el alimento fluidificado y marcador atomizado.
7. El método de la reivindicación 5 que comprende adicionalmente:
  - proporcionar un marcador seco;
  - 30 proporcionar un procesador de lecho fluido;
  - fluidificar el marcador en el procesador de lecho fluido;
  - proporcionar un alimento comestible en una solución o suspensión;
  - atomizar el alimento comestible en el procesador de lecho fluido; y
  - aglomerar el alimento atomizado y marcador fluidificado.
- 35 8. El método de la reivindicación 5 que comprende adicionalmente secar el componente seco y componente húmedo aglomerados, preferiblemente secar el componente seco y componente húmedo aglomerados de modo que esté presente menos del 3 % de humedad.
9. El método de la reivindicación 1 o reivindicación 5 en el que el alimento comestible comprende huevo completo.
10. El método de la reivindicación 1 o reivindicación 5 en el que el marcador es una biomasa marcada,

preferiblemente una *Spirulina platensis* marcada con  $^{13}\text{C}$ .

11. El método de la reivindicación 1 o reivindicación 5 en el que la atomización del componente húmedo comprende aplicar agua atomizada a una velocidad de 25 gramos/minuto.
- 5 12. El método de la reivindicación 1 o reivindicación 5 en el que la comida normalizada de lecho fluido tiene una capacidad de unión de al menos aproximadamente 100 %.
13. El método de la reivindicación 1 o reivindicación 5 en el que la comida normalizada de lecho fluido tiene una desviación típica relativa de uniformidad de dosis de  $^{13}\text{C}$  de menos de aproximadamente 6,0 %, preferiblemente de menos de aproximadamente 4,0 %.
- 10 14. El método de la reivindicación 1 o reivindicación 5 en el que las partículas de alimento tienen un % de humedad que es menor del 3 % y las partículas de marcador tienen un % de humedad que es menor del 5 %.
15. El método de la reivindicación 1 o reivindicación 5 en el que la comida normalizada de lecho fluido tiene un rendimiento de producto final de al menos aproximadamente 95 %.
16. El método de la reivindicación 1 o reivindicación 5 en el que la comida normalizada de lecho fluido tiene un valor de  $a_w$  de menos de aproximadamente 0,6, preferiblemente menos de aproximadamente 0,2.
- 15 17. Un método para evaluar el vaciado gástrico en un paciente que comprende:
- proporcionar una comida de ensayo normalizada producida por el método que comprende:
    - proporcionar huevos completos secos;
    - proporcionar biomasa de *Spirulina platensis* marcada con  $^{13}\text{C}$  seca;
    - proporcionar un procesador de lecho fluido;
    - 20 fluidificar los huevos y la biomasa marcada en el procesador de lecho fluido;
    - aglomerar los huevos fluidificados y biomasa marcada; y
    - secar los huevos y la biomasa marcada aglomerados;
  - reconstituir la comida de ensayo normalizada;
  - proporcionar la comida de ensayo normalizada reconstituida a un paciente para su consumo; y
  - 25 medir la producción de  $^{13}\text{CO}_2$  del paciente.