



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2022 00373**

(22) Data de depozit: **30/06/2022**

(41) Data publicării cererii:
30/01/2024 BOPI nr. **1/2024**

(71) Solicitant:
• **UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "IULIU HAȚIEGANU" CLUJ-NAPOCA, STR. VICTOR BABEȘ NR. 8, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ DIN CLUJ-NAPOCA, CALEA MĂNĂȘTUR NR.3-5, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(72) Inventatori:
• **CIOBĂRCA DANIELA, STR. STEJARULUI NR.22, ET.1, AP.14, SAT FLORESTI, COMUNA FLORESTI, CJ, RO;**
• **CRISAN GIANINA-CRISTINA, ALEEA SNAGOV NR.3, AP.30, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**

• **CATOI ADRIANA-FLORINELA, STR.G-RAL EREMIA GRIGORESCU NR.120, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **MIERE DOINA, STR.GHEORGHE DIMA NR.41, SC.2, ET.1, AP.13, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **MOCAN ANDREI-MARIUS, STR.VRANCEI NR.4, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **VLASE ANA-MARIA, STR. EPISCOP MARTON ARON NR.25, AP.1, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **BABOTA MIHAI, STR.LA RACHITIS NR.50, SAT POIANA MARULUI, COMUNA MALINI, SV, RO;**
• **VODNAR DAN CRISTIAN, STR.REPUBLICII, NR.11A, AP.5, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

Data publicării raportului de documentare:
30.01.2024

(54) **SUPLIMENT NUTRITIV DESTINAT PACIENTILOR SUPUȘI CHIRURGIEI BARIATRICE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o compoziție de supliment nutritiv destinat pacienților supuși chirurgiei bariatrice. Compoziția, conform invenției, este constituită în procente masice din 47,84% vitamine și minerale, 8,06% probiotice microîncapsulate, 16,12% compuși biologic activi de origine vegetale conținând 4,03% extract fructe de

afin și 12,09% pulbere fructe de goji și 27,98% agent de încărcare maltodextrină, suplimentul fiind sub formă de capsule gelatinoase tari gastro-solubile.

Revendicări: 2
Figuri: 1

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI
Cerere de brevet de invenție
Nr. a 2022 00373
Data depozit 30-06-2022

RO 137878 A1

48

SUPLIMENT NUTRITIV DESTINAT PACIENȚILOR SUPUȘI CHIRURGIEI BARIATRICE

Invenția se referă la un supliment nutritiv constând într-o combinație de vitamine, minerale, probiotice microîncapsulate și compuși biologici activi de origine vegetală, realizat sub formă de capsule și conceput special pentru a preveni apariția *de novo* a deficitelor nutriționale sau agravarea celor existente preoperator în rândul pacienților cu obezitate supuși intervenției chirurgicale de gastrectomie longitudinală laparoscopică (GLL), prin stimularea refacerii echilibrului bacterian intestinal.

Chirurgia bariatrică (sau chirurgia obezității) este indicația de elecție pentru tratamentul obezității morbide în cazul eșecului terapiei convenționale (optimizarea stilului de viață și farmacoterapie) (1). Chirurgia obezității determină o reducere ponderală semnificativă, o ameliorare importantă sau chiar remisia comorbidităților și o creștere a calității vieții superioară tratamentului convențional (2). Efectele metabolice benefice asociate cu chirurgia bariatrică sunt explicate printr-o serie de mecanisme care includ modificări la nivelul secreției de hormoni gastrointestinali, alterări ale nivelului circulant și compoziției acizilor biliari, respectiv schimbări la nivelul microbiotei intestinale (MI). În ciuda beneficiilor sale majore, chirurgia bariatrică poate afecta negativ statusul nutrițional al indivizilor. Deficitele nutriționale de vitamine și minerale se numără printre complicațiile redutabile ale tratamentului chirurgical al obezității, iar prevenirea acestora reprezintă una dintre preocupările postoperatorii majore pe termen lung (3).

La momentul actual, GLL este cea mai utilizată tehnică bariatrică atât la nivel mondial, cât și în România (4). Deficitele nutriționale induse de GLL pot să apară datorită unui spectru larg de factori care adesea coexistă. Un important factor etiologic în apariția deficitelor nutriționale postoperatorii îl reprezintă eventualele carențe preoperatorii, știut fiind faptul că obezitatea este o formă de malnutriție care poate altera statusul nutrițional al pacientului (5). În plus, excesul de greutate se însoțește de un dezechilibru la nivelul MI, denumit disbioză. Deficitele nutriționale asociate cu starea de obezitate pot accentua gradul de disbioză și, în același timp, pot fi la rândul lor exacerbate pe fondul dezechilibrului bacterian intestinal (3).

Prin urmare, postoperator deficitelor nutriționale se pot manifesta fie ca o accentuare a celor preexistente (în cazul în care nu sunt tratate corespunzător anterior tratamentului chirurgical al obezității), fie se pot dezvolta *de novo*. Principalele cauze care stau la baza apariției *de novo* a deficitelor nutriționale postoperatorii sunt restricția calorică severă ca urmare a unei importante reduceri a capacității gastrice, alterarea motilității gastro-intestinale și reducerea sintezei de acid clorhidric și factor intrinsec (6). Cel mai frecvent raportate deficite nutriționale raportate postoperator după GLL sunt de fier (15-45%), vitamina B₁₂ (10-20%), acid folic (10-20%), vitamina D (30-70%), cupru (10%) și zinc (7-15%) (7).

Pe lângă de dietă și suplimente alimentare, MI reprezintă cea mai puțin exploatată sursă de micronutrienți a organismului (8). Între MI și micronutrienți există o relație bidirecțională: MI sintetizează micronutrienți, în vreme ce aceștia din urmă modulează diversitatea și abundența populațiilor bacteriene de la nivel intestinal (3). Speciile comensale joacă un rol semnificativ în biosinteza *de novo* a unor vitamine (vitamine din grupul B și

vitamina K₂). Din acest punct de vedere, sunt de interes și anumite tulpini aparținând genurilor *Bifidobacterium* și *Lactobacillus*, care, în același timp, sunt utilizate și ca bacterii probiotice (9).

Genul *Bifidobacterium* conține bacterii anaerobe Gram-pozitive, care nu formează spori, produc acid lactic și populează în mod obișnuit MI. *Bifidobacterium lactis* BB-12 este cel mai studiat probiotic din lume, cu peste 300 de publicații științifice, dintre care 130 de studii clinice pe subiecți umani. BB-12 prezintă toleranță ridicată în mediul acid gastric și la acțiunea bilei, stabilitate bună în alimente sau suplimente alimentare, activitate de fermentare, aderență puternică la stratul de mucus intestinal, capacitatea de a inhiba agenții patogeni, abilitatea de a ameliora funcția de barieră intestinală și de a modula sistemul imunitar (10). BB-12 codifică toate genele pentru producerea vitaminei B₁, deși capacitatea sa sintetică nu a fost încă confirmată. *Lactobacillus* este un gen de microorganisme anaerob-facultative, Gram-pozitive, care nu formează spori, produc acid lactic și sunt rezidenți obișnuiți ai MI. Speciile de lactobacili posedă toate proprietățile valoroase ale bacteriilor probiotice, cum ar fi toleranță ridicată la aciditatea gastrică și acțiunea bilei, aderență bună la epiteliul intestinal, capacitate crescută de inhibare a speciilor patogene sau de a reduce absorbția colesterolului. Studiile au arătat că *Lactobacillus rhamnosus* GG este capabil să sintetizeze vitaminele B₁, B₂ și B₉ (11).

Vitaminele sintetizate de către bacteriile intestinale comensale sunt absorbite, în principal, la nivelul colonului (vitaminele din grupul B) (12) sau la nivelul ileonului terminal (vitamina K) (13). Capacitatea MI de a sintetiza vitamine a fost evidențiată de studiile realizate pe șoareci fără colonizare bacteriană, care au o nevoie crescută de vitamine B și vitamina K pentru a-și menține starea de sănătate (14). Totuși, este foarte dificil de apreciat măsura în care vitaminele sintetizate la nivelul MI influențează statusul nutrițional al gazdei și nivelurile plasmatiche de micronutrienți. Pe de o parte, nu toate speciile bacteriene dispun de căile metabolice necesare sintezei de micronutrienți; prin urmare, bacteriile ce nu pot sintetiza micronutrienți își procură necesarul de vitamine pentru creștere și dezvoltare pe cale exogenă, fie de la populațiile bacteriene producătoare, fie de la gazdă. Acest fenomen poate diminua cantitatea de micronutrienți disponibilă pentru gazdă (12). Pe de altă parte, nu toți micronutrienții produși prin sinteză bacteriană sunt accesibili gazdei. În plus, vitaminele sintetizate de către populațiile bacteriene intestinale sunt implicate și în creșterea, dezvoltarea și funcționarea celulelor imune ale gazdei, fenomen sugerat de recunoașterea directă de către acestea din urmă a intermediarilor biosintetici (11). Se estimează că prin sinteza de vitamine de către populațiile bacteriene nepatogene este acoperită 86% din doza zilnică recomandată (DZR) pentru vitamina B₆, 37% din DZR pentru folat, aproximativ 1/3 din DZR pentru vitaminele B₃ și B₁₂, 3% din DZR pentru B₂ (12) și între 30-50% din DZR pentru vitamina K (13). De asemenea, la nivelul MI se sintetizează și vitamina B₁ disponibilă atât sub formă de tiamină, cât și sub formă de pirofosfat (15). Aceste date sugerează că MI modulează biodisponibilitatea micronutrienților, definită ca fracțiunea dintr-un micronutrient care poate fi utilizată pentru procesele fiziologice (8).

Micronutrienții, la rândul lor, sunt modulatori direcți sau indirecti ai MI. Vitaminele A, B₆, C și E prezintă efecte antimicrobiene directe *in vivo* sau *in vitro*. Vitaminele cu potențial redox influențează ponderea speciilor microbiene anaerobe din intestin prin

contracacarea rapidă a radicalilor liberi (16). Indirect, vitaminele influențează MI prin modularea funcției imune (17).

Atât suplimentarea cu micronutrienți, cât și deficitul acestora modulează compoziția MI. Studiile actuale arată că suplimentarea cu vitamina D (18), vitamina A (19), vitamina B₁₂ (14), vitamina B₂ (16) și vitamina C (17) promovează creșterea speciilor comensale, cum ar fi *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Roseburia*, *Faecalibacterium prausnitzii* sau *Collinsella*. Deficitul de micronutrienți poate induce modificări genetice și epigenetice, poate altera raportul dintre încregăturile principale, poate diminua abundența și diversitatea bacteriană sau poate facilita creșterea excesivă a speciilor patogene, contribuind în acest fel la apariția și/sau întreținerea dezechilibrelor la nivelul MI (20).

Compoziția MI a pacienților cu obezitate supuși chirurgiei bariatrice suferă modificări semnificative postoperator, facilitând remiterea parțială a disbiozei preoperatorii cu posibile implicații asupra reducerii ponderale, statusului metabolic și statusului nutrițional. Întrucât tratamentul chirurgical al obezității contribuie parțial la refacerea echilibrului bacterian intestinal, administrarea postoperatorie de probiotice reprezintă o abordare terapeutică promițătoare în stimularea acestui proces (3).

Până la ora actuală două studii au investigat efectele suplimentării cu probiotice asupra statusului de micronutrienți la pacienții cu obezitate supuși chirurgiei bariatrice. Woodard și colab. au arătat că nivelurile plasmatice de vitamină B₁₂ s-au îmbunătățit semnificativ la trei și șase luni după chirurgia bariatrică, la pacienții suplimentați zilnic cu un probiotic conținând 2.4 miliarde de unități formatoare de colonii de *Lactobacillus* (21). Într-un studiu clinic randomizat, dublu-orb, controlat cu placebo, pe un lot de pacienți supuși unei intervenții bariatrice, Karbaschian și colab. au raportat o concentrație plasmatică semnificativ mai crescută de vitamina D în lotul intervențional (n=23) comparativ cu grupul control (n=23) în urma administrării zilnice, timp de 16 săptămâni, a unei combinații de pre- și probiotice [38.5 mg fructo-oligozaharide și un mix de 7 tulpini probiotice *L. casei* (3.5×10^9 UFC/g), *L. rhamnosus* (7.5×10^8 UFC/g), *S. thermophilus* (1×10^8 UFC/g), *B. breve* (1×10^{10} UFC/g), *L. acidophilus* (1×10^9 UFC/g), *B. longum* (3.5×10^9 UFC/g) and *L. bulgaricus* (1×10^8 UFC/g)]. Suplimentarea a contribuit, de asemenea, la menținerea unor niveluri adecvate de vitamina B₁₂, deși concentrațiile serice de folat și homocisteină nu au fost influențate de aceasta (22).

Fructele de afin și goji sunt surse valoroase de compuși polifenolici și polizaharide, având efecte benefice asupra metabolismului glucozei și de reducere a stresului oxidativ și inflamației (23,24). Studiile din ultimii ani au atras atenția asupra rolului de modulatori ai MI pentru polifenolii și polizaharidele din plante, în mod particular pentru cei conținuți de fructele de afin (25) și goji (26). Polifenolii și polizaharidele din plante modulează MI prin efectul prebiotic, stimulând creșterea numărului de specii comensale și suprimând dezvoltarea celor patogene. Atât la modele animale, cât și la subiecți umani o dietă îmbogățită cu afine sălbatice s-a asociat cu creșterea numărului de membri a două familii, *Bifidobacteriaceae* și *Coriobacteriaceae* (25). *Collinsella*, cel mai abundent membru al familiei *Coriobacteriaceae*, s-a dovedit recent că este asociat cu efecte metabolice benefice asupra evoluției diabetului zaharat de tip 2 după chirurgia bariatrică (27). Mai mult, administrarea de extract din fructe de afin sălbatic șoarecilor hrăniți cu o dietă bogată în grăsimi au condus la creșterea de 2.5 ori a proporției de *Akkermansia muciniphila* (23),

microorganisme candidate la statutul de probiotice de generație viitoare (28), cu rol cheie în reducerea adipozității, rezistenței la insulină și inflamației (23). Adiția de extract încapsulat de fructe goji în mediul de cultură a bacteriilor probiotice a promovat proliferarea tulpinilor bacteriene, crescând numărul de colonii de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (BB-12), *Bifidobacterium longum* (BB-46) și *Lactobacillus casei* (216). Bunăoară, studii *in vivo* au arătat că administrarea de polizaharide din goji la șoareci au avut ca rezultat creșterea proporției unor specii bacteriene aparținând genurilor *Akkermansia*, *Lactobacillus* și *Prevotellaceae* (29).

Având în vedere tabloul nutrițional extrem de complex al pacientului cu obezitate morbidă supus tratamentului chirurgical bariatric, postoperator se impune o monitorizare atentă a acestuia și administrarea unei scheme de suplimentare nutrițională specifice, în scopul prevenirii accentuării sau a apariției *de novo* a deficitelor de micronutrienți. Durata optimă a suplimentării nutriționale după GLL nu este foarte clar stabilită de ghidurile internaționale (30), însă, în general, se recomandă a fi făcută pe termen lung. Pe piața din România, în ciuda creșterii semnificative a numărului de intervenții bariatrice (1655 de intervenții au fost raportate la nivelul anului 2018) (31), nu este disponibil, în momentul de față, un produs care să acopere nevoile nutriționale ale pacienților cu obezitate supuși intervenției de GLL prin susținerea refacerii echilibrului bacterian intestinal.

În scopul prevenirii deficitelor nutriționale după chirurgia bariatrică sunt cunoscute un câteva produse:

- BariNutrics Multi® conține vitamine și minerale, disponibile sub formă de tablete masticabile sau capsule. Este singurul produs de acest gen disponibil și pe piața din România, dar se poate procura exclusiv în mediul online.
- Fit for me® conține, de asemenea, vitamine și minerale disponibile sub formă de tablete masticabile sau capsule. Produsul nu este prezent pe piața din România.

Problema tehnică pe care urmărește să o rezolve invenția constă în realizarea, pe baza recomandărilor ghidurilor internaționale și a rezultatelor cercetării clinice efectuate pe plan internațional, dar și pe o un lot de pacienți bariatrici din România, a unei combinații unice de suplimentare nutrițională, adresată exclusiv managementului nutrițional postoperator al pacienților supuși intervenției de GLL, care să prevină fie accentuarea deficitelor nutriționale preoperatorii, fie apariția unor noi deficite nutriționale postoperator, în condițiile stimulării refacerii echilibrului bacterian intestinal.

Soluția tehnică pe care o rezolvă invenția este să încorporeze, pe lângă vitamine și minerale, probiotice și compuși biologic activi de origine vegetală (din fructe de afine și goji), care să susțină restaurarea microbiotei și să contribuie astfel la prevenirea apariției/agravării deficitelor nutriționale după intervenția de GLL. Noutatea invenției constă în faptul că, spre deosebire de produsele similare de pe piață, aduce probiotice și compuși biologic activi de origine vegetală, într-o combinație inovatoare cu vitamine și minerale, stimulând refacerea microbiotei intestinale și contribuind, în acest fel, la prevenirea apariției sau agravării stărilor carentiale nutriționale după GLL.

Invenția se referă în primul rând la obținerea suplimentului nutritiv pe bază de vitamine, minerale, probiotice și compuși biologic activi de origine vegetală. Conform acesteia, suplimentul este constituit din:

- 47.84% vitamine și minerale;
- 8.06% probiotice (4.04% *Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12*, 1.34% *Lactobacillus acidophilus*, 1.34% *Lactobacillus plantarum* și 1.34% *Lactobacillus rhamnosus GG*);
- 16.12% compuși bioactivi de origine vegetală (4.03% extract fructe de afin, 12.09% pulbere fructe de goji);
- 27.98% agent de încărcare (maltodextrină).

Tabel 1. Formularea capsulelor pe bază de vitamine, minerale, probiotice, polifenoli și polizaharide

Ingrediente active	Cantitate/cps.	% VNR*
Vitamina B ₁ (mononitrat tiamină)	2 mg	182
Vitamina B ₁₂ (ciancobalamină)	100 μg	4000
Folați (acid folic)	300 μg	150
Riboflavină	1.3 mg	93
Niacină (nicotinamidă)	15 mg	94
Acid pantotenic (pantotenat de calciu)	5 mg	83
Vitamina B ₆ (clorhidrat de piridoxină)	1.3 mg	93
Biotină	45 μg	90
Vitamina C (acid ascorbic)	60 mg	75
Vitamina A (acetat de retinol)	450 μg (1308 UI)	56
Vitamina D (colecalfiferol)	37.5 μg (1500 UI)	750
Vitamina E (DL-alfa acetat de tocoferil)	7.5 mg	62.5
Vitamina K (menaquinonă)	45 μg	60
Fier (fumarat feros)	15 mg	107
Cupru (gluconat de cupru)	0.5 mg	50
Zinc (citrat de zinc)	7.5 mg	75
Iod (iodură de potasiu)	100 μg	67
Seleniu (drojdii cu seleniu)	27.5 μg	50
Crom (picolinat de crom)	25 μg	62.5
Mangan (gluconat de mangan)	1 mg	50

Extract de afin	25 mg	**
Pudră de fructe de goji	75 mg	**
Probiotic	50 mg (20 miliarde UFC***)	**
Total ingrediente active (mg)	446.55	-
Agent de încărcare (maltodextrină) (mg)	173.45	-
Total masă capsulă (mg)	620	-

*VNR: valoarea nutrițională de referință conform Regulamentului (UE) 1169/2011

** nu există stabilită VNR

*** unități formatoare de colonii.

Suplimentul nutritiv, conform invenției, are următoarele avantaje:

- acțiune sinergică și/sau complementară a ingredientelor bioactive din compoziție asupra microbiotei intestinale și asupra statusului nutrițional și metabolic;
- susține metabolismul energetic;
- susține procesul de reducere ponderală;
- reduce pH-ul intraluminal prin producerea de acid lactic;
- stimulează sinteza/absorbția micronutrienților;
- ameliorează disconfortul gastrointestinal;
- rol antimicrobian, antioxidant, antiinflamator, imunomodulator.

Suplimentul nutritiv, conform invenției, a fost realizat după cum urmează:

1. obținerea amestecului de probiotice;
2. obținerea extractului de afine;
3. obținerea amestecului final de micronutrienți, probiotice și substanțe bioactive.

1. Obținerea amestecului de probiotice.

1.1. **Selecția tulpinilor probiotice:** au fost selectate 4 tulpini - *Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus GG*. Proporție probiotice în amestec: *B. lactis BB-12* (50%), *L. acidophilus* (16.6%), *L. plantarum* (16.6%), *L. rhamnosus GG* (16.6%).

1.2. Cultivare și microîncapsulare *B. lactis*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus GG*

Microîncapsularea bacteriilor probiotice prin atomizare este un procedeu necesar pentru a păstra viabilitatea microorganismelor pentru o perioadă îndelungată de timp (12 luni). Procesul de microîncapsulare este comun pentru bifidobacterii și lactobacili, incluzând mai multe etape:

A. Cultivarea tulpinilor probiotice

Obținerea unei biomase bogate în microorganisme cu viabilitate crescută presupune inocularea în volume succesiv crescânde de bulion MRS (de Man, Rogosa, Sharpe) a tulpinilor probiotice și incubarea consecutivă a acestora la 37°C timp de 18-24 ore. Inoculul rezultat a fost recultivat în mediu proaspăt de MRS și reincubat în aceleași condiții, după care a fost agitat prin rotire la 150 rpm. Inoculul proaspăt, obținut în etapa de cultivare, a fost transferat în condiții sterile în bioreactor, în care în prealabil a fost adăugat bulion MRS. Procesul de fermentație s-a desfășurat în condiții controlate de pH (6.5) și temperatură (37°C), cu o viteză de agitare de 150 rpm. Procesul de fermentație a durat între 18-24 ore. Menținerea pH-ului la valoarea optimă pentru obținerea unei biomase bogată în bacterii probiotice viabile a fost posibilă prin adăugarea de soluție 20% hidroxid de sodiu (NaOH). Reglarea pH-ului a fost necesară întrucât, în urma proceselor de fermentație a nutrienților din mediu, se acumulează acid lactic. Acesta determină scăderea pH-ului până la un nivel incompatibil cu supraviețuirea microorganismelor. Prin urmare, adăugarea de soluție de NaOH a permis menținerea pH-ului la o valoare optimă pentru creșterea biomasei. Bacteriile au atins punctul maxim de creștere între 18-24 ore de la debutul fermentației, ulterior aceasta intrând în faza de lag.

B. Separarea biomasei celulare

După finalizarea fermentației, biomasa bacteriană a fost separată de mediul de creștere pentru a stopa procesul. Biomasa acumulată a fost separată prin centrifugare la viteză ridicată (8.000-10.000 rpm), timp de 5-10 minute, la 4°C, fiind ulterior spălată cu apă distilată sterilă pentru îndepărtarea urmelor de mediu de creștere. În urma centrifugării, biomasa a fost colectată și inoculată în apă distilată sterilă, urmând a fi introdusă în matricea de încapsulare.

C. Microîncapsularea

Într-o ultimă etapă, biomasa a fost supusă microîncapsulării prin atomizare pentru a-și păstra viabilitatea pe termen lung. În prealabil, însă, biomasa a fost adăugată într-o matrice de încapsulare menită să-i confere protecție termică pe durata derulării procesului de atomizare, care se desfășoară la temperaturi ridicate. Matricea de încapsulare are și rolul de a oferi stabilitate bacteriilor probiotice pe termen lung. Matricea utilizată a constat în soluție sterilă având o concentrație de 24% maltodextrină și 4% glucoză. Maltodextrina are avantajul de a prezenta stabilitate ridicată la temperaturi înalte și depozitare, având un comportament inert față de biomasa bacteriană. După introducerea în matricea de încapsulare, biomasa a fost omogenizată constant. Atomizarea a fost realizată cu un atomizor de laborator, la temperatura de 126°C, în urma căruia au rezultat pudrele probiotice. Ulterior, acestea au fost colectate din atomizor și introduse în pungi cu fermoar în vederea depozitării până la momentul utilizării.

2. Obținerea extractului de afine

În vederea obținerii unui extract concentrat în antociani, 300 g de fructe de afin congelate (*Myrtilli fructus recens*) au fost supuse extracției cu alcool etilic 96° de origine agricolă acidulat în prealabil cu acid citric (0,1% m/v), folosind un raport de extracție de 1:3 (m/v). Practic, fructele cântărite în prealabil au fost amestecate cu 450 mL alcool și mărunțite cu ajutorul unui blender de bucătărie; masa omogenă obținută a fost transferată cantitativ într-un pahar Erlenmeyer, diluată cu încă 450 mL solvent de extracție și supusă extracției prin agitare pe agitator magnetic la temperatura camerei (800 rpm, 4 ore). În faza următoare, extractul a

fost filtrat la vid în vederea separării soluției extractive, care a fost ulterior concentrată la presiune scăzută cu ajutorul rotavaporului până la îndepărtarea completă a alcoolului. În faza finală, suspensia apoasă obținută anterior a fost liofilizată, rezultând un extract uscat concentrat în antociani (32,33).

3. Obținerea amestecului final de micronutrienți, probiotice și substanțe bioactive

Înainte de începerea oricărei operațiuni de producție, au fost efectuate verificări pentru a se asigura că spațiile și echipamentele de producție sunt curate și lipsite de orice formă de reziduuri sau deșeuri. Masa fiecărei materii prime, conform formulei suplimentului nutritiv, a fost determinată cu ajutorul unei balanțe analitice. După cântărire, toate materiile prime au fost colectate în vasul mixerului în scopul omogenizării. Pulberea a fost amestecată și omogenizată pentru a se asigura o dispersare cât mai uniformă a particulelor în întreaga masă. Această operație a fost efectuată timp de 5 minute, la 200-500 rpm, cu ajutorul unui omogenizator. Amestecul omogenizat a fost transferat în mașina de încapsulare (pentru umplerea manuală a capsulelor. Ulterior, capsulele au fost inspectate vizual, numărate automat și transferate în flacoane, care au fost sigilate și așezate în cutii. În fiecare flacon a fost adăugat câte un pliculeț cu silicagel.

4. Evaluarea calității *in vitro* a capsulelor

Capsulele obținute au fost supuse controlului de calitate și au vizat:

- caracteristici organoleptice (aspect, omogenitate, culoare, miros);
- caracteristici dimensionale (masă, lungime);
- parametri farmacotehnici (uniformitatea masei, dezagregarea).

Examinarea organoleptică a formulării pe bază de vitamine, minerale, probiotice, extract de afin și pudră de goji a evidențiat capsule de de formă cilindrică, cu capete emisferice, aspect uniform, suprafață lucioasă, transparentă, de culoare cafenie, fără miros.

Caracteristicile dimensionale, exprimate ca medie și deviație standard, sunt descrise în tabelul de mai jos:

Tabelul 2. Caracteristici dimensionale ale capsulelor obținute

Parametru	Capsulă
Masă (mg)	0.740±0.02
Lungime (mm)	23.5±04

4.1. Uniformitatea masei

Determinarea uniformității masei capsulelor se bazează pe determinarea masei individuale a unităților care compun proba; se verifică astfel că aceste mase individuale se află în limitele stabilite față de masa medie declarată. Determinările s-au făcut conform metodei din *Ph.Eur.10.8 (Monografia 2.9.5 – Uniformity of mass of single-dose preparations)*. S-au prelevat aleator 20 unități din seria de analizat. S-au cântărit capsulele pline, iar după s-a golit conținutul acestora cât mai complet posibil, fără să se piardă din înveliș. S-a făcut cântărirea învelișului și s-a calculat masa medie prin diferență. S-a repetat

această operație pentru toate cele 20 de unități prelevate. Față de masa medie calculată, masa individuală a cel mult două dintre cele 20 de unități poate să prezinte o abatere procentuală mai mare de $\pm 10\%$ (dacă masa medie este mai mică de 300 mg) sau $\pm 7,5\%$ (dacă masa medie este mai mare de 300 mg). Masa niciunei unități nu trebuie să prezinte abateri mai mari decât dublul acestor valori (34). Din cele 20 de unități analizate, 2 au depășit limita admisă de masă, restul încadrându-se în valorile admise. Rezultatele obținute în urma determinării uniformității masei sunt prezentate în tabelul 3.

Tabelul 3. Testul uniformității masei

Nr. crt.	Greutate capsulă	Greutate înveliș	Conținut net
1	0.728	0.118	0.610
2	0.722	0.118	0.604
3	0.741	0.118	0.623
4	0.737	0.12	0.617
5	0.789	0.117	0.672
6	0.73	0.121	0.609
7	0.762	0.116	0.646
8	0.724	0.121	0.603
9	0.726	0.119	0.607
10	0.759	0.115	0.644
11	0.706	0.118	0.588
12	0.759	0.12	0.639
13	0.738	0.121	0.617
14	0.755	0.142	0.613
15	0.748	0.118	0.630
16	0.737	0.116	0.621
17	0.733	0.118	0.615
18	0.728	0.117	0.611
19	0.809	0.119	0.690
20	0.752	0.116	0.636
	Masa medie		0.620 mg
	Masa medie+7.5%		0.666 mg
	Masa medie-7.5%		0.574 mg

4.2. Timpul de dezagregare

Timpul de dezagregare este un parametru ce oferă informații cu privire la capacitatea de cedare a substanțelor active de către capsule. Determinările se fac conform metodei din *Ph.Eur.10.8 (Monografia 2.9.1 – Disintegration of tablets and capsules)*, care prevede pentru capsulele gelatinoase tari gastro-solubile un timp de dezagregare maxim de 30 de minute. Determinările s-au realizat pe 6 capsule cu ajutorul dispozitivului de dezagregare. S-a utilizat ca mediu de dezagregare apa distilată la temperatură menținută constantă (37°C pentru asimula condițiile fiziologice din interiorul organismului). Determinarea a fost considerată

corespunzătoare dacă toate cele 6 capsule s-au dezagregat în timpul prevăzut (35). Timpul mediu de dezagregare a fost de 2.10 minute. Rezultatele testului sunt redate în tabelul 4.

Tabelul 4. Testul de dezagregare

Nr. crt.	Timp dezagregare (minute)
1	1.58
2	2.1
3	2.17
4	2.22
5	2.26
6	2.29
Medie timp	2.10

5. Specificații capsule gelatinoase (tabelul 5), flacoane (tabelul 6) și capace plastic (tabelul 7).

Tabelul 5. Specificații capsule

Parametru	Capsulă
Volum	00 (95 ml)
Lungime	23.5±04 mm
Masă	110.7 - 127.3 mg
Diametru capac	8.53±02 mm
Diametru corp	8.18±02 mm
Conținut	Gelatină

Tabelul 6. Specificații flacoane

Parametru	Flacon
Volum	200 ml
Diametru	60±0.5 mm
Diametru filet	41.5±0.5 mm
Înălțime	98±0.5 mm
Greutate	25±0.5 g
Conținut	Plastic

Tabelul 7. Specificații capace

Parametru	Capac
Diametru	50±2 mm
Înălțime	21±2 mm
Greutate	9±2 g
Conținut	Plastic

REFERINȚE:

1. Busetto L, Dicker D, Azran C, Batterham RL, Farpour-Lambert N, Fried M, et al. Practical Recommendations of the Obesity Management Task Force of the European Association for the Study of Obesity for the Post-Bariatric Surgery Medical Management. *Obes Facts*. 2018;10(6):597–632.
2. Jakobsen GS, Hofso D, Roislien J. Morbidly Obese Patients — Who Undergoes Bariatric Surgery ? 2010; 20(8): 1142–1148.
3. Ciobărcă D, Cătoi AF, Copăescu C, Miere D, Crișan G. Bariatric Surgery in Obesity: Effects on Gut Microbiota and Micronutrient Status. *Nutrients*. 2020;12:235.
4. Angrisani L, Santonicola A, Iovino P, Vitiello A, Zundel N, Buchwald H, et al. Bariatric Surgery and Endoluminal Procedures: IFSO Worldwide Survey 2014. *Obes Surg*. 2017;27(9):2279–89.
5. Ciobărcă D, Cătoi AF, Copăescu C, Miere D, Crișan G. Nutritional status prior to bariatric surgery for severe obesity: a review. *Med Pharm Reports*. 2021.
6. Gehler S, Kern B, Peters T, Christofiel-Courtin C, Peterli R. Fewer nutrient Deficiencies after laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG) than after laparoscopic Roux-Y-gastric bypass (LRYGB) - a prospective study. *Obes Surg*. 2010;20(4):447–53.
7. Via MA, Mechanick JI. Nutritional and Micronutrient Care of Bariatric Surgery Patients: Current Evidence Update. *Curr Obes Rep*. 2017;6(3):286–96.
8. Hadadi N, Berweiler V, Wang H, Trajkovski M. Intestinal microbiota as a route for micronutrient bioavailability. *Curr Opin Endocr Metab Res*. 2021; 20:100285.
9. Leblanc JG, Milani C, Giori GS De, Sesma F, Sinderen D Van, Ventura M. Bacteria as vitamin suppliers to their host : a gut microbiota perspective. *Curr Opin Biotechnol*. 2013;24(2):160–8.
10. Jungersen M, Wind A, Johansen E, Christensen JE, Stuer-Lauridsen B, Eskesen D. The science behind the probiotic strain bifidobacterium animalis subsp. Lactis BB-12®. *Microorganisms*. 2014;2(2):92–110.
11. Leblanc JG, Laiño JE, del Valle MJ, Vannini V, van Sinderen D, Taranto MP, et al. B-Group vitamin production by lactic acid bacteria - current knowledge and potential applications. *J Appl Microbiol*. 2011;111(6):1297–309.
12. Magnúsdóttir S, Ravcheev D, Crécy-lagard V De, Thiele I. Systematic genome assessment of B-vitamin biosynthesis suggests co-operation among gut microbes. 2015;6:148..
13. Karl JP, Fu X, Wang X, Zhao Y, Shen J, Zhang C, et al. Fecal menaquinone profiles of overweight adults are associated with gut microbiota composition during a gut microbiota-targeted dietary intervention. *Am J Clin Nutr*. 2015;102(1):84–93.
14. Degnan PH, Taga ME G AL. Vitamin B12 as a modulator of gut microbial ecology. *Cell Metab*. 20(5):769-778
15. Hrubša M, Siatka T, Nejmanová I, Vopršalová M, Krčmová LK, Matoušová K, et al. Biological Properties of Vitamins of the B-Complex, Part 1: Vitamins B₁, B₂, B₃, and B₅. *Nutrients*. 2022;14(3).
16. Requena T, Martinez-Cuesta MC PC. Diet and Microbiota Linked in Health and Disease. *Food&Function*. 2018;9(2):688–704.
17. Pham VT, Fehlbaum S, Seifert N, Richard N, Bruins MJ, Sybesma W, et al. Effects of colon-targeted vitamins on the composition and metabolic activity of the human gut microbiome – a pilot study. *Gut Microbes*. 2021;13(1):1–20.
18. Waterhouse M, Hope B, Krause L, Morrison M, Protani MM, Zakrzewski M, et al.

- Vitamin D and the gut microbiome: a systematic review of in vivo studies. *Eur J Nutr.* 2019;58(7):2895–910.
19. Huda MN, Ahmad SM, Kalanetra KM, Taft DH, Alam MJ, Khanam A, et al. Neonatal Vitamin A Supplementation and Vitamin A Status Are Associated with Gut Microbiome Composition in Bangladeshi Infants in Early Infancy and at 2 Years of Age. *J Nutr.* 2019;149(6):1075–88.
 20. Mach N, Clark A. Micronutrient Deficiencies and the Human Gut Microbiota. *Trends Microbiol.* 25(8):607-610.
 21. Woodard GA, Encarnacion B, Downey JR, Peraza J, Chong K, Hernandez-boussard T, et al. Probiotics Improve Outcomes After Roux-en-Y Gastric Bypass Surgery: A Prospective Randomized Trial. *J Gastrointestinal Surg.* 2009; 13(7):1198-204.
 22. Karbaschian Z, Mokhtari Z, Pazouki A, Kabir A, Hedayati M, Moghadam SS, et al. Probiotic Supplementation in Morbid Obese Patients Undergoing One Anastomosis Gastric Bypass-Mini Gastric Bypass (OAGB-MGB) Surgery: a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Clinical Trial. *Obes Surg.* 2018;28(9):2874–85.
 23. Rodríguez-Daza MC, Daoust L, Boutkrabt L, Pilon G, Varin T, Dudonné S, et al. Wild blueberry proanthocyanidins shape distinct gut microbiota profile and influence glucose homeostasis and intestinal phenotypes in high-fat high-sucrose fed mice. *Sci Rep.* 2020;10(1):1–16.
 24. Mocan A, Cairone F, Locatelli M, Cacciagrano F, Carradori S, Vodnar DC, et al. Polyphenols from lycium barbarum (Goji) fruit european cultivars at different maturation steps: Extraction, hplc-dad analyses, and biological evaluation. *Antioxidants.* 2019;8(11):1–14.
 25. Rodríguez-Daza MC, Roquim M, Dudonné S, Pilon G, Levy E, Marette A, et al. Berry Polyphenols and Fibers Modulate Distinct Microbial Metabolic Functions and Gut Microbiota Enterotype-Like Clustering in Obese Mice. *Front Microbiol.* 2020;11(August):1–19.
 26. Skenderidis P, Mitsagga C, Lampakis D, Petrotos K, Giavasis I. The effect of encapsulated powder of goji berry (*Lycium barbarum*) on growth and survival of probiotic bacteria. *Microorganisms.* 2020;8(1):1–14.
 27. Liu H, Zhang H, Wang X, Yu X, Hu C, Zhang X. The family Coriobacteriaceae is a potential contributor to the beneficial effects of Roux-en-Y gastric bypass on type 2 diabetes. *Surg Obes Relat Dis.* 2018;14(5):584–93.
 28. Cani PD, de Vos WM. Next-generation beneficial microbes: The case of *Akkermansia muciniphila*. *Front Microbiol.* 2017;8:1–8.
 29. Zhu W, Zhou S, Liu J, McLean RJC, Chu W. Prebiotic, immuno-stimulating and gut microbiota-modulating effects of *Lycium barbarum* polysaccharide. *Biomed Pharmacother.* 2020;121:109591.
 30. Mechanick JI, Apovian C, Brethauer S, Garvey WT, Joffe AM, Kim J, et al. Clinical practice guidelines for the perioperative nutrition, metabolic, and nonsurgical support of patients undergoing bariatric procedures – 2019 update: cosponsored by American Association of Clinical Endocrinologists/American College of Endocrinology,. *Surg Obes Relat Dis.* 2020;16(2):175–247.
 31. Angrisani L, Santonicola A, Iovino P, Ramos A, Shikora S, Kow L. Bariatric Surgery Survey 2018: Similarities and Disparities Among the 5 IFSO Chapters. *Obes Surg.* 2021;31(5):1937–48.
 32. Yang Z, Zhai X, Zhang C, Shi J, Huang X, Li Z. Agar/TiO₂/radish anthocyanin/neem essential oil bianocomposite bilayer films with improved bioactive capability and electrochemical writing property for banana preservation. *Food Hydrocolloids.* 2022; 123, (2022): 107187.

33. Pappas VM, Athanasiadis V, Palaiogiannis D, Poulianiti K, Bozinou E, Lalas SI, et al. Pressurized liquid extraction of polyphenols and anthocyanins from saffron processing waste with aqueous organic acid solutions: Comparison with stirred-tank and ultrasound-assisted techniques. *Sustain.* 2021;13(22).
34. European Pharmacopoeia 10.8 [Internet]. Uniformity of mass of single-dose preparations. Access: 18.04.2022. Available from: <https://pheur.edqm.eu/app/10-8/content/default/20905E.htm>
35. European Pharmacopoeia 10.8 [Internet]. Disintegration of tablets and capsules. Access: 18.04.2022. Available from: <https://pheur.edqm.eu/app/10-8/content/10-8/20901E.htm?highlight=on&terms=disintegration>

REVENDICĂRI

1. Supliment nutritiv caracterizat prin aceea că include 47.84% în greutate vitamine și minerale, 8.06% în greutate probiotice microîncapsulate (4.04% *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BB-12, 1.34% *Lactobacillus acidophilus*, 1.34% *Lactobacillus plantarum* și 1.34% *Lactobacillus rhamnosus* GG, 16.12% în greutate compuși biologic activi de origine vegetală (4.03% extract fructe de afin, 12.09% pulbere fructe de goji) și 27.98% agent de încărcare (maltodextrină).
2. Supliment nutritiv definit în revendicarea 1 și utilizat în prevenirea apariției deficitelor nutriționale postoperatorii sau la prevenirea accentuării deficitelor nutriționale preoperatorii la pacienții supuși intervenției de gastrectomie longitudinală laparoscopică.

FIGURI

Figura 1. Aspectul capsulelor obținute





Cont IBAN: RO05 TREZ 7032 0F33 5000 XXXX
Trezoreria Sector 3, București
Cod fiscal: 4266081

Serviciul Examinare de Fond: Chimie-Farmacie

RAPORT DE DOCUMENTARE

CBI nr. a 2022 00373	Data de depozit: 30/06/2022	Data de prioritate
----------------------	-----------------------------	--------------------

Titlul invenției	SUPLIMENT NUTRITIV DESTINAT PACIENTILOR SUPUSI CHIRURGIEI BARIATRICE
------------------	--

Solicitant	UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "IULIU HAȚIEGANU" CLUJ-NAPOCA, STR. VICTOR BABEȘ NR. 8, CLUJ-NAPOCA, RO; UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ DIN CLUJ-NAPOCA, CALEA MĂNĂȘTUR NR.3-5, CLUJ-NAPOCA, RO
------------	---

Clasificarea cererii (Int.Cl.)	A61K 35/741 [2005.01]; A61P 3/02 [2006.01];
--------------------------------	---

Domenii tehnice cercetate (Int.Cl.)	A61K; A61P;
-------------------------------------	-------------

Colecții de documente de brevet cercetate	RopatentSearch Epoquenet (Epodoc, NPL)
Baze de date electronice cercetate	
Literatură non-brevet cercetată	Google

Documente considerate a fi relevante

Categoria	Date de identificare a documentelor citate și, unde este cazul, indicarea pasajelor relevante	Relevant față de revendicarea nr.
Y	<i>Micronutrient management following bariatric surgery: the role of the dietitian in the postoperative period</i> E. Osland, H. Powlesland, T. Guthrie, C-A. Lewis, Acceptat pentru publicare pe 29 mai 2019; -tot documentul-	1, 2
Y	<i>Evaluation of the probiotic properties of new Lactobacillus and Bifidobacterium strains and their in vitro effect</i> I. Presti; G. D'Orazio; M. Labra; B. La Ferla; V. Mezzasalma; G. Bizzaro; S. Giardina; A. Michelotti; F. Tursi; M. Vassallo; P. Di Gennaro Acceptat pe 13 februarie 2015 -tot documentul-	1, 2

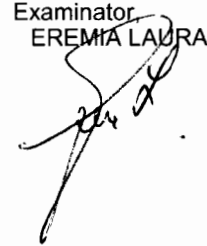
Strada Ion Ghica nr. 5, Sector 3, București, România
Telefon centrală: +40-21-306.08.00/01/02/.../28/29
Fax: +40-21-312.38.19
E-mail: office@osim.ro
www.osim.ro



Documente considerate a fi relevante - continuare		
Categoria	Date de identificare a documentelor și, unde este cazul, indicarea pasajelor relevante	Relevant față de revendicarea nr.
Y	<i>Antimicrobial activity and antibiotic susceptibility of Lactobacillus and Bifidobacterium spp. intended for use as starter and probiotic cultures</i> R. Georgieva; L. Yocheva; L. Tserovska; G. Zhelezova; N. Stefanova; A. Atanasova; A. Danguleva; G. Ivanova; N. Karapetkov; N. Rumyan și E. Karaivanova; Acceptat pe 11 octombrie 2014 -tot documentul-	1, 2
Y	<i>Bilberries: Curative and Miraculous – A Review on Bioactive Constituents and Clinical Research</i> Z. Vaneková; J. Rollinger Acceptat pe 31 mai 2022 -tot documentul-	1, 2
Y	<i>Dietary Supplementation with Goji Berries (Lycium barbarum) Modulates the Microbiota of Digestive Tract and Caecal Metabolites in Rabbits</i> P. Cremonesi; G. Curone; F. Biscarini; E. Cotozzolo; L. Menchetti; F. Riva; M. L. Marongiu; B. Castiglioni; O. Barbato; A. Munga; M. Castrica; D. Vigo; M. Sulce; A. Quattrone; S. Agradi și G. Brecchia Acceptat 5 ianuarie 2022 -tot documentul-	1, 2
Unitatea invenției (art.18)		
Observații:		

Data redactării: 14.06.2023

Examinator,
EREMIA LAURA



Litere sau semne, conform ST.14, asociate categoriilor de documente citate	
<p>A - Document care definește stadiul general al tehnicii și care nu este considerat de relevanță particulară;</p> <p>D - Document menționat deja în descrierea cererii de brevet de invenție pentru care este efectuată cercetarea documentară;</p> <p>E - Document de brevet de invenție având o dată de depozit sau de prioritate anterioară datei de depozit a cererii în curs de documentare, dar care a fost publicat la sau după data de depozit a acestei cereri, document al cărui conținut ar constitui un stadiu al tehnicii relevant;</p> <p>L - Document care poate pune în discuție data priorității/lor invocată/e sau care este citat pentru stabilirea datei de publicare a altui document citat sau pentru un motiv special (se va indica motivul);</p> <p>O - Document care se referă la o dezvăluire orală, utilizare, expunere, etc;</p>	<p>P - Document publicat la o dată aflată între data de depozit a cererii și data de prioritate invocată;</p> <p>T - Document publicat ulterior datei de depozit sau datei de prioritate a cererii și care nu este în contradicție cu aceasta, citat pentru mai buna înțelegere a principiului sau teoriei care fundamentează invenția;</p> <p>X - document de relevanță particulară; invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau nu poate fi considerată ca implicând o activitate inventivă, când documentul este luat în considerare singur;</p> <p>Y - document de relevanță particulară; invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând o activitate inventivă, când documentul este combinat cu unul sau mai multe alte documente de aceeași categorie, o astfel de combinație fiind evidentă unei persoane de specialitate;</p> <p>& - document care face parte din aceeași familie de brevete de invenție.</p>