Università della Tuscia, VT	M.Esti	ASS
Università di Tor Vergata, RM	M.Paci	ORD
Surrey University (GB)	M.Clifford	ORD

1.3.9 - Valutazione della sicurezza d'uso degli organismi geneticamente modificati (OGM) in alimentazione umana. Impatto di alimenti vegetali geneticamente modificati sulle proprietà antiossidanti *"in vitro"*.

G. Maiani

Descrizione dell'attività

L'obiettivo della ricerca è stato la valutazione dell'equivalenza sostanziale (ES) in termini di contenuto in molecole bioattive minori e potere antiossidante in vitro di alimenti di origine vegetale in commercio (mais e/o soia).

Le difficoltà incontrate per il reperimento del materiale da analizzare non hanno permesso di effettuare lo studio su campioni OGM e non OGM provenienti dalle stesse cultivars e coltivati con le stesse tecniche agronomiche. Inoltre, non si conosce l'intervento genetico operato sui campioni di soia GM analizzati. Tuttavia, lo svolgimento di questo studio ci ha consentito di individuare i parametri nutrizionali di ulteriore interesse, rispetto a quelli comunemente analizzati e non ancora approfonditi in letteratura. Le metodiche utilizzate per quantificare questi parametri e la loro messa a punto sulle matrici alimentari oggetto di studio ci hanno consentito di verificare che la capacità antiossidante totale (CAT) dei diversi campioni analizzati risulta un parametro che ben risponde alle variazioni nella composizione in metaboliti secondari ad attività antiossidante come α-tocoferolo, luteina, polifenoli totali e isoflavoni. Essendo sia gli steroli che gli isoflavoni metaboliti, i cui contenuti potrebbero essere fortemente condizionati da interventi genomici finalizzati a rafforzare le difese della pianta contro agenti patogeni, la CAT rappresenta potenzialmente un valido parametro di valutazione della equivalenza sostanziale. Inoltre, la ricerca svolta ha consentito di mettere a punto metodologie di analisi idonee alla valutazione dell'equivalenza sostanziale mediante misurazione dei contenuti degli isoflavoni maggiormente rappresentativi nella soia. In conclusione, le differenze che si sono evidenziate tra i campioni per i parametri analizzati sono presumibilmente riflesso della diversità nella varietà dl seme, nel tipo di cultivar e nelle metodiche agronomiche utilizzate.

Parole chiave

OGM, micronutrienti e non, potere antiossidante, equivalenza sostanziale

Partecipanti alla ricerca	**Mesi/persona**	**Qualifica**
G. Maiani	1	P.RIC
E. Azzini	1	P.RIC
A. Raguzzini	1	CTER
L. Palomba	2	CO
A. Schirinzi	10	CO

Collaborazioni esterne

ISS, Chimica dei Cereali Roma	M. Miraglia	P.RIC

1.3.10 - Benefici e rischi degli antiossidanti di origine alimentare nella prevenzione di patologie croniche degenerative: valutazione dell'effetto salutistico delle diete e della loro potenzialità antiossidante nell'uomo

G Maiani, A. Polito

Obiettivi

Gli obiettivi si sviluppano in due linee di ricerca. L'obiettivo della prima linea è la valutazione dello stato di nutrizione in un gruppo di popolazione pilota mediante rilevamento della anamesi clinico-nutrizionale, dei consumi alimentari (metodo indiretto), antropometria nutrizionale e marcatori biochimici dello stato antiossidante (misurazione diretta) in relazione alla frequenza, in tale popolazione, di malattie croniche e degenerative.

L obiettivo della seconda linea è la valutazione della funzionalità (capacità antiossidante plasmatica totale) e biodisponibità in vitro e in vivo nell'uomo di molecole ad azione antiossidante provenienti da alimenti freschi selezionati in base ai risultati dell'indagine relativa alla prima linea di ricerca e in base a dati di letteratura di consumo a livello regionale e nazionale.

Descrizione dell'attività

Il progetto di ricerca è di durata biennale ed è finanziato dal Ministero della Salute. Gli obiettivi sono duplici: valutare come lo stile di vita influenza i consumi alimentari e valutare lo stato di nutrizione in un gruppo di popolazione pilota.

a) Stile di vita e consumi alimentari

Sono stati reclutati 300 soggetti di età 20 - 40 anni, 150 uomini e 150 donne, reperiti presso la banca dati dell'Agenzia Regionale Sanitaria Regione Campania (ARSAN).

Al momento del reclutamento, sul campione è stata effettuata una breve anamnesi patologica prossima, tendente a valutare sia la presenza di eventuali patologie a carico del sistema immunitario sia eventuali trattamenti farmacologici in corso o recenti. Sono stati inoltre somministrati questionari sullo stile di vita e frequenze di consumo alimentare mediante intervista diretta ed è stato effettuato il rilevamento del peso e della statura. I dati sono in corso di informatizzazione ed elaborazione.

b) Stato di nutrizione e dieta in giovani adulti

Sulla base dei dati ottenuti dal questionario sui consumi alimentari, dal campione sopra citato sono stati selezionati mediante metodo "random" 82 soggetti, suddivisi in due sottogruppi: a) inferiore a 250 g/die di frutta e vegetali; b) superiore a 400 g/die di frutta e vegetali. Si sono presentati 56 soggetti; 28 maschi (età: 34±3 anni; peso: 80±8kg; IMC: 25.8±2.5 kg/m^2) e 28 donne (età: 32±3 anni; peso: 59±8kg; IMC: 22.7±2.3 kg/m^2). Il 54% dei maschi (15 soggetti) ed il 61% delle femmine (17 soggetti) ha un consumo di frutta e vegetali superiore a 400 g/die. Non ci sono differenze nell'IMC, età e caratteristiche antropometriche nei due sottogruppi di soggetti. I dati relativi al questionario di frequenza dei consumi alimentari non evidenziano differenze significative nella composizione della dieta associate ad un più alto consumo di frutta e vegetali. Inoltre non si evidenziano differenze significative nei parametri di composizione corporea (massa grassa e massa muscolare) tra il gruppo a basso consumo ed il gruppo ad alto consumo di frutta e vegetali. Per quanto riguarda il quadro biochimico non si evidenziano differenze significative per la capacità antiossidante totale mentre per la vitamina C si osserva un aumento di circa il 18% sia negli uomini che nelle donne con alto consumo di frutta e vegetali.

I dati preliminari evidenziano che lo stile alimentare non corrisponde esattamente alla dieta mediterranea. Conclusioni più approfondite potranno essere dedotte solo dopo l'elaborazione dei record alimentari dei 4 giorni e al termine delle analisi biochimiche.

Parole chiave
Dieta mediterranea, alimenti vegetali, malattie croniche degenerative, stato di nutrizione, biodisponibilità di molecole bioprotettive

Partecipanti alla ricerca	**Mesi/persona**	**Qualifica**
G. Maiani	2	P.RIC
A. Polito	1	TEC
L. Palomba	1	CO
G. Catasta	2	CTER
E Azzini	2	CTER
A. Raguzzini	2	CTER
P. Ferranti	1	OA

Collaborazioni esterne

A.R. San Istituto Scienze dell' Alimentazione (CNR)	B. De Stefano G. L. Russo	PIRIC
Lab. Biologia Cellulare	M. Minetti	PRIC
Dip Scienza Alimenti, UNINA	V. Fogliano	ORD
Dip Med. Sperim. e Patologia UNIROMA	A. Zicari	RIC
Dip Med. Sperim. e Patologia UNIROMA	M. Russo	ORD

1.4 NUTRIZIONE E RISPOSTA IMMUNITARIA

PAGINA BIANCA

1.4.1 - Modelli di coculture di enterociti e linfociti per il controllo dell'attività intestinale e dei processi infiammatori da parte di molecole alternative ad antibiotici.

E. Mengheri

Obiettivi

Chiarire se il trattamento con ossido di zinco, acidi organici e batteri probiotici sia in grado di ostacolare i processi infiammatori intestinali.

Questo programma si inserisce in progetto che è stato finanziato dalla Comunità europea,"Healthypigut", che ha come scopo intero quello di caratterizzare meglio la cellula intestinale dal punto di vista metabolico, immunologico, microbiologico, per trovare e applicare strategie alternative per una migliore crescita dei maiali e un minor rischio per i consumatori

Descrizione dell'attività

In questo studio è stato fatto lo screening *in vitro* di potenziali sostanze alternative agli antibiotici convenzionali, che vengono somministrati ai maiali per prevenire le numerose infezioni enteriche cui vanno soggetti allo svezzamento. Come modello *in vitro* sono state utilizzate colture di cellule epiteliali intestinali e co-culture con linfociti. Lo scopo era quello di trovare quelle molecole/sostanze in grado di proteggere le cellule intestinali dai danni indotti da *Escherichia coli* enterotossico (ETEC), che è il maggior responsabile delle infezioni enteriche cui vanno soggetti i suini allo svezzamento.

Nel terzo ed ultimo anno del progetto (2003) sono state messe a punto le condizioni di crescita e differenziamento di una linea di cellule intestinali di maiale, le IPEC-1 (intestinal pig epithelial cells) ed è stato effettuato lo screening di alcune sostanze/molecole alternative in parte già testate su cellule intestinali umane, le Caco-2, quali ossido di zinco (ZnO), glutammina, acidi organici e inoltre alcuni batteri probiotici. A differenza degli studi con le Caco-2, come probiotici sono stati utilizzati due ceppi specifici del maiale, uno isolato dall'intestino del maiale, *Lactobacillus amylovorus* pig e uno commerciale, *Lactobacillus amylovorus* DSM.

I parametri scelti per misurare la protezione da parte delle sostanze alternative contro i danni indotti da ETEC sono stati: mantenimento dell'integrità della barriera mucosale, inibizione dell' adesione e invasività di ETEC, modulazione della risposta immunitaria.

Integrità della barriera mucosale

I risultati ottenuti hanno mostrato che gli alternativi utilizzati non alteravano l'integrità delle giunzioni, misurata come resistenza elettrica transepiteliale (TEER). Il sodio butirrato era in grado di indurre un notevole aumento delle TEER durante il differenziamento delle cellule IPEC-1, indicando un'induzione precoce del differenziamento. Questo dato è stato anche confermato da esperimenti di immunofluorescenza per evidenziare la localizzazione di alcune proteine strutturali delle giunzioni cellulari. Infatti, i risultati indicavano una precoce localizzazione perigiunzionale delle proteine ZO-1 e occludina, circa 4-5 giorni prima del normale differenziamento. ZnO e acido formico hanno mostrato un effetto protettivo nel prevenire l'apertura delle giunzioni indotta da ETEC, misurata come TEER, analogamente a quanto osservato con le Caco-2. La glutammina non ha mostrato un effetto protettivo contro la riduzione delle TEER.

Per quanto riguarda i probiotici, *L. amylovorus* pig,e DSM non erano in grado di proteggere le IPEC-1 dalla riduzione delle TEER indotta da ETEC. Tuttavia, l'analisi di immunofluorescenza, ha indicato che *L. amylovorus* pig, ma non DSM, era in grado di prevenire la delocalizzazione sia dell'occludina che della proteina del citoscheletro, F-Actina, indotta da ETEC.

Sono state inoltre messe a punto delle co-culture omologhe di IPEC-1 con linfociti mesenterici di maiale. Analogamente a quanto osservato per le IPEC-1 da sole, ETEC induceva un significativa apertura delle giunzioni, e *L. amylovorus* pig e *L. amylovorus* DSM non erano in grado di proteggere dai danni alla permeabilità indotti da ETEC.

Adesione e invasività
L'azione protettiva dello ZnO è stata confermata anche da una riduzione dell'invasività di ETEC sulle IPEC-1, misurata con il saggio di "protezione da gentamicina", che uccide i batteri extracellulari, e mediante piastramento su agar. *L. amylovorus* pig, benché non fosse in grado di proteggere le IPEC-1 dall'apertura delle giunzioni indotta da ETEC, si è dimostrato in grado di ridurre l'adesione e l'invasività di ETEC. L'adesione veniva misurata mediante piastramento su agar dopo lisi delle cellule.
Modulazione della risposta immunitaria
L. amylovorus pig era in grado di ridurre l'espressione delle principali citochine pro-infiammatorie IL-1β e IL-8, indotta dall'infezione con ETEC, e di prevenire l'aumento della citochina anti-infiammatoria IL-10. *L. amylovorus* DSM non ha mostrato gli stessi effetti protettivi. Pertanto, tutti i dati descritti suggeriscono un'azione specie-specifica di *L. amylovorus* pig.

Parole chiave
Enterociti, linfociti, coculture.

Partecipanti alla ricerca	**Mesi uomo**	**Qualifica**
E. Mengheri	2	P.RIC
M. Roselli	8	AR
A. Finamore	2	AR
I. Garaguso	3	CTER
F. Vignolini	3	CTER
F. Nobili	2	TEC

Collaborazioni esterne:
Partecipanti al progetto EU "Healthypigut":
INRA, Unité Mixte de recherche sur le veau et le porc, Francia, JP Lalles, coordinatore,,
Institute for Animal Science and health, DLO Foundation, The Netherlands, Z. Mroz
Wageningen University, The Netherlands, A.D.L. Akkermann,
Medical School of Hannover, Germany, H.J. Rothkoetter
Institute for Animal Nutrition, The Netherlands, A. Dirkzwager,
Research Insitute for the Biology of farm Animals, Germany, W.B. Souffrant
University of Bristol, United Kingdom, C.R. Strokes
Institut de la Reserche Agronomique, France, I. Oswald
DIPROVAL, Università di Bologna, P. Bosi

1.4.2 - Sicurezza d'uso di alcuni prodotti geneticamente modificati attraverso lo studio della permeabilità intestinale e di alcune funzioni immunitarie, in relazione a periodi vulnerabili.

E. Mengheri

Obiettivi

Lo scopo della ricerca è verificare se proteine eterologhe contenute negli alimenti OGM possono alterare la permeabilità intestinale e indurre uno squilibrio nelle funzioni immunitarie intestinali, in relazione a condizioni fisiologiche e nutrizionali di maggiore vunlnerabilità.

Descrizione dell'attività

Ratte femmine del ceppo Sprague-Dowley appena svezzate sono state alimentate, per 30 giorni, con una dieta completa, contenente come fonte proteica (20%) soia geneticamente modificata oppure soia proveniente da colture isogeniche equivalenti non ingegnerizzate (provviste ambedue dalla Prof. M. Miraglia, ISS),

Per quanto riguarda la risposta imunitaria è stata valutata la capacità proliferativa dei linfociti splenici e mesenterici e l'espressione genica delle principali citochine pro- ed anti-infiammatorie.

Per quanto riguarda il sistema endocrino è stato utilizzato il test uterotrofico (*uterotrophic assay*) su ratte sessualmente immature correlato da esami istologici e misure istomorfometriche; inoltre sono stati prelevati i surreni per valutare eventuali ed ulteriori effetti sull'equilibrio endocrino immunitario.

Capacità proliferativa dei linfociti

La capacità proliferativa dei linfociti splenici e mesenterici delle ratte veniva testata dopo stimolazione con il mitogeno ConA, capace di stimolare la proliferazione policlonale delle cellule, quindi di stabilire il grado massimo di risposta proliferativa che le cellule possono raggiungere. I risultati ottenuti non mostravano una significativa differenza nel livello proliferativo splenico e mesenterico dei ratti alimentati con soia non ingegnerizzata rispetto a quello dei ratti alimentati con farina di soia transgenica.

Espressione delle citochine

L'espressione genica delle citochine pro- ed anti-infiammatorie veniva analizzata mediante il saggio RT-PCR sui linfociti intestinali e splenici dei diversi animali. I risultati ottenuti mostrano un livello maggiore di espressione delle citochine anti infiammatorie (IL-10, IL-4 e TGF-β) e, in modo particolare, di quelle pro-infiammatorie (IFN-γ e TNF-α) nei linfociti mesenterici e splenici dei ratti alimentati con farina di soia non ingegnerizzata rispetto a quelli dei ratti alimentati con farina di soia transgenica.

Esami istomorfometrici

Le misure istomorfometriche effettuate sull'utero non hanno evidenziato differenze nei tessuti tra le ratte alimentate con soia transgenica rispetto a quelle alimentate con la dieta di controllo.

La valutazione dello stato di maturazione dei follicoli nelle ovaie ha mostrato una aumento di numero, statisticamente significativo, del numero dei follicoli di Graaf nelle ratte sottoposte alla dieta con soia transgenica rispetto agli animali di controllo, mentre non ci sono state differenze nella conta dei follicoli secondari, terziari e dei corpi lutei tra i due gruppi.

I risultati riportati hanno indicato che la soia geneticamente modificata non induce alterazioni sulla capacità proliferativi dei linfociti, né a livello locale che periferico. Tuttavia si ritrovava una tendenza ad una minore capacità a produrre la citochine come indicato dalla minor espressione delle citochine sia pro- che anti-infiammatorie. Sarebbero comunque necessari ulteriori esperimenti per verificare se altri parametri del sistema immunitario siano alterati.

Lo studio effettuato non ha evidenziato alcun effetto estrogenico secondo i parametri standard utilizzati dal test uterotrofico.
Tuttavia l'esame istomorfometrico ha evidenziato un incremento significativo della presenza dei follicoli di Graaf nelle ovaie; questo dato potrebbe indicare un anticipo della matutità sessuale negli animali alimentati con la soia geneticamente modificata rispetto ai controlli.

Parole chiave
OGM, soia transgenica, risposta immunitaria, ratti allo svezzamento

Partecipanti alla ricerca	**Mesi uomo**	**Qualifica**
E. Mengheri	2	P.RIC
C. Murgia	3	RIC
F. Vignolini	3	CTER
P. Rami	4	OT
R. Rami	4	OT

Collaborazioni esterne
Questo progetto viene fatto in collaborazione con l'Istituto Superiore della Sanità nell' ambito del progetto "Valutazione della sicurezza d'uso degli organismi geneticamente modificati (OGM) in alimentazione umana" coordinato dalla Prof. M. Miraglia.

1.4.3 - Valutazione di alcune attività biologiche di farine naturalmente ricche in fruttani e antiossidanti: attività prebiotica e attività antiossidante in funzione delle diverse concentrazioni di questi composti.

E. Mengheri e M. D'Aquino

Obiettivi

Valutare alcune attività biologiche di farine naturalmente ricche in fruttani e antiossidanti

- come alimenti ad attività prebiotica in grado di modulare la flora intestinale, favorendo la crescita di batteri probiotici in grado di indurre effetti benefici a livello intestinale (responsabile E. Mengheri
- come alimenti in grado di esercitare un'azione antiossidante sui linfociti e sulle lipoproteine (responsabile M. D'Aquino).

Descrizione dell'attività

La ricerca ha riguardato lo studio degli effetti in vivo dello sfarinato di grano immaturo, naturalmente ricco in fruttani e antiossidanti , sullo stato lipidico e la concentrazione di molecole antiossidanti.

A questo scopo, ratti adulti sono stati alimentati per sei e dodici settimane con diete sintetiche contenenti il 53% di sfarinati di frumento immaturo rispetto a gruppi di controllo costituiti da ratti alimentati con diete contenenti il 53% di farina di frumento maturo.

I parametri dello stato lipidico e della concentrazione di antiossidanti sono stati

- concentrazione plasmatica dei trigliceridi, di colesterolo totale e di quello legato alle frazioni lipoproteiche attraverso l'uso di kit della Biosystem e della ditta Biomedis che utilizza il metodo ad eliminazione specifico per le frazioni lipoproteiche.
- concentrazione di antiossidanti (vitamina E e glutatione ridotto)nei linfociti e concentrazione di MDA nel plasma .

La concentrazione di vitamina E di GSH e MDA nel plasma e' stata misurata attraverso analisi fluorimetrica dopo separazione in HPLC .

I risultati ottenuti hanno mostrato che, per quanto riguarda il quadro lipidemico la dieta ricca di farina immatura era in grado di abbassare i livelli di colesterolo e trifgliceridi rispetto alla dieta controllo contenente farina proveniente da grano maturo.

Per quanto riguarda il glutatione ridotto non ci sono state variazioni significative della concentrazione plasmatica di GSH.

Anche la concentrazione di MDA non presentava variazioni significative.

Per quanto riguarda la concentrazione di vitamina E nel plasma, i dati hanno evidenziato una dimuizione significativa dopo 12 settimane nel plasma dei ratti alimentati con dieta ricca di farina matura rispetto a quella immatura.

Parole chiave

Farine, attività immunomodulatoria, attività antiossidante

Partecipanti alla ricerca	**Mesi uomo**	**Qualifica**
E. Mengheri	2	P. RIC
M.D'Aquino	8	P. RIC
F. Nobili	2	TEC
P. Rami	2	OT
R. Rami	2	OT

V. Gentili	2	CTER

Collaborazioni esterne

Questo progetto dovrebbe essere la continuazione di un progetto CNR finanziato solo parzialmente per l'anno 2002, dal titolo "Farine di frumento naturalmente ricche in fruttani e antiossidanti: produzione, caratterizzazione e valutazione biochimica e nutrizionale", in collaborazione con:

Università della Tuscia (VT); G. Tomassi (coordinatore) e Dr. N. Merendino

Università di Bari, De Gara

Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura di Roma, D'Egidio

Istituto di Cromatografia, CNR, Roma Corradini

Dipartimento di Scienze e tecnologie Agroambientali,Università di Bologna, B. Biavati.

1.4.4 - Ruolo dei batteri probiotici nella risposta immunitaria

E. Mengheri

Obiettivi

Chiarire se il trattamento con probiotici possa influire sull'induzione della tolleranza orale

Descrizione dell'attività

Per verificare il ruolo dei probiotici sulla risposta immunitaria intestinale e in particolare se potessero indurre una risposta anti-infiammatoria e tollerogenica a livello intestinale, sono stati utilizzati ratti adulti alimentati con diete complete non contenenti ovalbumina come proteina. Questi ratti ricevevano tutti i giorni una somministrazione orale di batteri probiotici quali *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus casei* (circa 8 x 10^8 batteri per ratto). Quindi, un gruppo di questi ratti veniva tollerizzato all'antigene ovalbumina (OVA) mediante trattamento orale, per 3 volte a settimana e per 2 settimane, di una dose di OVA (7 mg), mentre un altro gruppo riceveva una soluzione salina. Tutti i ratti venivano poi immunizzati con una iniezione di OVA (300 μg), emulsionata in 300 μl di adiuvante di Freund completo, con un richiamo dopo un'altra settimana. Alla fine del periodo sperimentale, venivano prelevati i linfonodi mesenterici e la milza per isolarne i linfociti.

Risultati in vivo:

I risultati precedenti avevano messo in evidenza una ridotta proliferazione solo a livello dei linfociti mesenterici negli animali trattati con i probiotici, sia tollerizzati che immunizzati in seguito a stimolazione in vitro con lo stesso antigene OVA. Inoltre, si ritrovava un aumento della citochina IL-10, sia come espressione genica che come produzione della proteina. Ulteriori esperimenti hanno messo in evidenza che la proliferazione linfocitaria ritornava alta dopo trattamento in vitro con anticorpo anti IL-10, suggerendo che fosse la IL-10 responsabile della ridotta risposta immunitaria. Gli esperimenti sono proseguiti con l'analisi al citofluorimetro delle sottopopolazione linfocitarie $CD4^+$ e $CD8^+$, dopo marcatura con anticorpi anti-CD4 e anti-CD8, e dei linfociti T secernenti la IL-10, dopo marcatura con anticorpi anti-IL-10. I risultati ottenuti finora suggeriscono un aumento della sottopopolazione $CD4^+$ nei linfociti provenienti dai ratti trattati con probiotici. Inoltre, sembra che in questi ratti aumenti una frazione di linfociti CD4 con elevata capacità di produzione di IL-10, e questa sottopopolazione potrebbe essere quella responsabile dell'aumento di IL-10.

Questi risultati indicano che la modulazione della risposta immunitaria indotta dai probiotici risulta differente a livello intestinale e periferico, e che il raggiungimento della tolleranza orale può essere influenzato dai batteri probiotici

In conclusione, questo studio ha messo in evidenza un nuovo ruolo svolto da B. animalis e L. casei GG quali induttori di uno stimolo tollerogenico. Questi probiotici appaiono così dei promettenti candidati non solo per il trattamento di condizioni infiammatorie intestinali e per ristabilire la corretta microflora intestinale, ma anche per il mantenimento delle condizioni fisiologiche ottimali dell'intestino.

Risultati in vitro:

Sono stati condotti anche degli esperimenti in vitro su cellule intestinali umane, le Caco-2, infettate con un batterio enterotossigenico, ETEC K88, e trattate con i batteri probiotici *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus casei.* E' stata analizzata l'adesione di questo patogeno sulle cellule, e se i probiotici fosero in grado di inibire l'adesione e di impedire quindi lo sviluppo di reazioni infiammatorie. L'adesione è stata saggiata medinate piastramento su agar dei batteri dopo lisi delle cellule.

I risultati hanno indicato un elevato numero di batteri patogeni adesi alle Caco-2, quando venivano infettate con ETEC ma non trattate con i probiotici. Dei due probiotici, solo il *B. animalis* si è rivelato in grado di inibire l'adesione di ETEC.
Si stanno conducendo attualmente anche degli esperimenti al microscopio elettronico, per controllare ulteriormente l'adesione di questi batteri, in presenza anche di competitori del recettore, ossia con i gangliosidi. Finora sono state messe a punto le condizioni sperimentali per continuare questi esperimenti.

Parole chiave
Tolleranza orale, probiotici, carenza di zinco.

Partecipanti alla ricerca	**Mesi uomo**	**Qualifica**
E. Mengheri	2	P.RIC
A. Finamore	2	AR
F. Nobili	2	TEC
S. Britti	8	TES
M. Roselli	4	AR
P. Rami	2	OT
R. Rami	3	OT

Collaborazioni esterne
Per la parte riguardante la tolleranza orale: Dr. N. Merendino, Università della Tuscia (VT)

Per la parte riguardante probiotici e gangliosidi: Prof. Pavan, Università dell'Aquila.