



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA LOTTA ALLA CONTRAFFAZIONE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

DOMANDA NUMERO	101999900765778
Data Deposito	09/06/1999
Data Pubblicazione	09/12/2000

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

Titolo

COMPOSIZIONE COMPRENDENTE SFINGOMIELINASI ALCALINA, UTILIZZABILE QUALE PRODOTTO DIETETICO, INTEGRATORE ALIMENTARE O MEDICAMENTO.

RM 99 A 000376

DESCRIZIONE

dell'invenzione avente per titolo: "Composizione comprendente sfingomielinasi alcalina, utilizzabile quale prodotto dietetico, integratore alimentare o medicamento"

a nome: MENDES s.u.r.l.
di nazionalità: italiana
con sede in: Via Nuoro 12, Ardea RM
Inventore: Claudio DE SIMONE

---000---

La presente invenzione riguarda l'uso della sfingomielinasi alcalina per produrre composizioni destinate ad uso nutrizionale, dietetico o propriamente terapeutico, e le composizioni così ottenute.

Corrispondentemente, tali composizioni possono assumere la forma e svolgere l'attività di un integratore alimentare o di un supporto dietetico, oppure di un vero e proprio medicamento, in funzione dell'azione di supporto o preventiva oppure propriamente terapeutica che si intende che la composizione espliciti a seconda dei particolari individui cui è destinata.

Sono stati identificati a tutt'oggi tre tipi diversi di sfingomielinasi (SMasi).

Esistono infatti una sfingomielinasi acida, che è un enzima lisosomiale (con un pH ottimale pari a 4,5-5), ed il cui deficit è alla base del morbo di Niemann-Pick, ed una sfingomielinasi neutra che ha un pH ottimale di 7,5 e di cui sono state descritte due

isoforme, la prima localizzata a livello della membrana plasmatica e dipendente dal magnesio, e la seconda citosolica e indipendente da catoni. Sia la sfingomielinasi acida, sia la sfingomielinasi neutra, sono state riscontrate in molti tessuti e cellule, e sono enzimi ubiquitari che regolano molteplici funzioni cellulari.

Il terzo tipo di sfingomielinasi, quella cosiddetta alcalina perché è maggiormente attiva a pH 9, è Mg indipendente, ed è stata riscontrata nell'orletto a spazzola dell'intestino e nella bile. La sfingomielinasi alcalina è assente nello stomaco, nel duodeno e nel pancreas, mentre è presente nell'intestino, soprattutto nella parte distale del digiuno. Una notevole attività di sfingomielinasi alcalina è stata altresì riscontrata a livello del colon e del retto. Alti livelli di sfingomielinasi alcalina sono anche nella bile, attività che appare peculiare della specie umana. Questa duplice origine della sfingomielinasi rende l'essere umano assai efficiente, se paragonato ad altri esseri viventi, per l'idrolisi della sfingomielina (SM) introdotta con la dieta. Fino ad oggi è stato escluso che la sfingomielinasi alcalina possa essere prodotta dai batteri intestinali perché non sono state riscontrate differenze tra gli animali convenzionali e quelli germ-free (Duan, R. D., Scand. J. Gastroenterology 1998; 33:673-683).

Oltre alla sfingomielinasi alcalina presente a livello intestinale e quella della bile, non sono conosciute altre sfingomielinasi alcaline utilizzabili per produrre composizioni destinate ad uso nutrizionale, dietetico o propriamente terapeutico, e d'altra parte

le sfingomielinasi acida e neutra non sono utilizzabili per le diverse caratteristiche (si veda la tabella che segue).

Tabella

	SMasi acida	SMasi neutra	SMasi alcalina
Localizzazione	lisosomi	membrana plasmatica	intestino e bile umana
pH ottimale	5,5	7,4	9
Mg ⁺⁺	indipendente	dipendente	indipendente
Tripsina	non resistente	non resistente	resistente
Stabilità al calore	<40°C	---	<50-60°C
Substrato	SM endocitata	SM di membrana	SM dietetica

L'uso di sfingomielinasi a scopo cosmetico e dermatologico è già noto.

Il brevetto giapponese 63 216813 descrive composizioni cosmetiche contenenti sfingomielinasi atte a contrastare la diminuzione fisiologica di questo enzima nella pelle con l'avanzare dell'età, ed a promuoverne la conversione a ceramide che, a sua volta, provoca un benefico effetto umettante sull'epidermide.

La domanda internazionale PCT WO 98/22082 descrive l'uso di sfingomielinasi per produrre delle composizioni dermatologiche atte al trattamento di affezioni patologiche della pelle quali dermatiti, psoriasi, ichtiosi e simili. Inoltre, tale domanda PCT descrive l'ottenimento della sfingomielinasi a partire da ceppi di batteri Gram-negativi, di batteri Gram-positivi e di batteri lattici, con notevoli vantaggi rispetto ai procedimenti precedentemente noti che utilizzano quali prodotti di partenza organi di animali superiori, quali cervello e fegato.

Ora è stato sorprendentemente trovato che alcuni batteri possiedono elevati livelli di sfingomielinasi alcalina e che la loro ingestione può essere giovevole per l'ospite. Tali batteri possono essere ingeriti vitali o sotto forma di estratti, purché enzimaticamente attivi, in associazione o meno con altri batteri, ad esempio batteri lattici, con SM e/o con alimenti contenenti SM.

Di conseguenza, uno scopo della presente invenzione è quello di fornire una composizione dietetica, nutritiva o farmaceutica che comprende una quantità di sfingomielinasi alcalina sufficiente a provocare un effetto dietetico, nutriente o terapeutico in un soggetto che ne necessita.

In particolare, tale composizione è atta alla prevenzione e/o al trattamento di disturbi legati allo sviluppo dell'intestino, di processi cancerosi, di disturbi della risposta immunitaria, di processi infiammatori ed apoptotici dell'intestino e delle strutture annesse, di disturbi legati alla sintesi del colesterolo ed alla idrofobicità delle superfici dell'apparato gastrointestinale, di disturbi dei processi digestivi, di malattie intestinali infiammatorie, della ipercolesterolemia, delle infezioni da *Helicobacter pylori*, di disturbi della crescita neonatale e di disturbi legati alla omeostasi intestinale.

Preferibilmente, la composizione contiene sfingomielinasi alcalina di origine batterica, ed i batteri contenenti la sfingomielinasi alcalina sono scelti tra i batteri Gram-positivi, i batteri Gram-negativi ed i batteri lattici, o loro miscele.

Più preferibilmente, la sfingomielinasi alcalina della composizione viene ottenuta a partire da batteri lattici, ed i batteri lattici sono scelti nel gruppo costituito da *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus cateniforme*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus leichmannii*, *Lactobacillus minutus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rogosae*, *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium dentium*, *Bifidobacterium eriksonii*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium plantarum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium pseudolongum*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus raffinolactis* e *Streptococcus thermophilus*.

Tra questi batteri lattici, si preferisce in particolare il ceppo di *Lactobacillus brevis* CD2 depositato presso il DSM - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germania, con il numero di accesso DSM 11988.

Secondo una forma di realizzazione preferita dell'invenzione, i batteri lattici vengono usati nella composizione sotto forma di batteri vitali, liofilizzati o sonicati.

Preferibilmente, la composizione comprende da 1×10^2 a 1×10^{13} CFU di batteri lattici per grammo di composizione.

Sempre secondo l'invenzione, la composizione può comprendere ulteriormente acidi biliari, pectina, sfingomielina oppure composti, farmaci o alimenti contenenti sfingomielina, arginina deiminasi, acidi grassi, acidi grassi poliinsaturi, inibitori del colesterolo, delle ceramidasi e delle proteasi, immunomodulatori, agenti anticancerosi, vitamine, fattori di crescita, tensioattivi, cereali, fibre, emulsionanti, stabilizzanti, lipidi, antiossidanti, conservanti, neutralizzatori di radicali liberi e/o vasoprotettori.

La composizione dell'invenzione è somministrabile per via orale, sotto forma di integratore alimentare, oppure per via orale o parenterale, sotto forma di medicamento.

L'invenzione riguarda altresì l'uso di sfingomielinasi alcalina per produrre una composizione dietetica, nutritiva o farmaceutica atta alla prevenzione e/o al trattamento di disturbi legati allo sviluppo dell'intestino, di processi cancerosi, di disturbi della risposta immunitaria, di processi infiammatori ed apoptotici dell'intestino e delle strutture annesse, di disturbi legati alla sintesi del colesterolo ed alla idrofobicità delle superfici dell'apparato gastrointestinale, di disturbi dei processi digestivi, di malattie intestinali infiammatorie, della ipercolesterolemia, delle infezioni da *Helicobacter pylori*, di disturbi della crescita neonatale e di disturbi legati alla omeostasi intestinale.

Preferibilmente, la sfingomielinasi alcalina usata è di origine batterica, i batteri contenenti la sfingomielinasi alcalina essendo scelti tra i batteri Gram-positivi, i batteri Gram-negativi

ed i batteri lattici, o loro miscele.

Più preferibilmente, i batteri lattici usati sono scelti nel gruppo costituito da *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus catenaforme*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus leichmannii*, *Lactobacillus minutus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rogosae*, *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium dentium*, *Bifidobacterium eriksonii*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium plantarum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium pseudolongum*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus raffinolactis* e *Streptococcus thermophilus*.

Tra questi batteri lattici, si preferisce usare in particolare il ceppo di *Lactobacillus brevis* CD2 depositato presso il DSM - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germania, con il numero di accesso DSM 11988.

Secondo una forma di realizzazione preferita dell'invenzione, i batteri lattici vengono usati nella composizione sotto forma di batteri vitali, liofilizzati o sonicati.

Preferibilmente, viene usata una composizione comprendente da 1×10^2 a 1×10^{13} CFU di batteri lattici per grammo di composizione.

Per confermare l'esistenza e l'efficacia della sfingomielinasi alcalina dei batteri della presente invenzione, sono stati condotti i seguenti esperimenti, basati sulla rivelazione della sfingomielinasi alcalina, l'enzima responsabile della generazione di ceramide nella pelle umana.

Metodi

Dosaggio di sfingomielinasi acida, neutra ed alcalina in batteri dell'acido lattico ed in biopsie intestinali

10 mg di *Streptococcus thermophilus* liofilizzato sono stati risospesi in 500 μ l di tampone contenente Tris-HCl 50 mM, pH 7,4, $MgCl_2$ 10 mM, EDTA 2 mM, DTT 5 mM, Na_3VO_4 0,1 mM, Na_2MoO_4 0,1 mM, p-nitrofenilfosfato 30 mM, β -glicerofosfato 10 mM, ATP 750 mM, PMSF 1 μ M, leupeptina 10 μ M, pepstatina 10 μ M (Sigma Chemical Co.) e Triton X-100 allo 0,2% (per il dosaggio dell'attività di SMasi neutra) o 500 μ l di Triton X-100 allo 0,2% (per il dosaggio dell'attività di SMasi acida). Per il dosaggio della SMasi alcalina, i batteri e le biopsie intestinali (omogeneizzate) sono stati risospesi in tampone saccarosio 0,25 M contenente $MgCl_2$ 5 mM, KCl 0,15 M, KH_2PO_4 50 mM, PMSF 1 mM e benzamidina 1 mM (pH 7,4). I campioni così preparati sono stati in seguito sottoposti a lisi per sonicazione (per 30 minuti, alternando 10 sec di sonicazione e 10 sec di riposo) utilizzando un sonicatore

Vibracell (Sonic and Materials Inc., Danbury, CT). I campioni sonificati sono stati quindi centrifugati per 30 min a 14.000 rpm, a 4°C, il sopranatante è stato allontanato, e la concentrazione proteica è stata determinata utilizzando il kit della Bio-Rad Laboratories (Richmond, CA).

Per misurare la SMasi neutra, 100 µg di campione sono stati incubati per 2 ore a 37°C in un tampone (50 µl, volume finale) contenente Tris-HCl 50 mM, MgCl₂ 1 mM, pH 7,4, e 2,25 µl di [N-metil-¹⁴C]sfingomielina (SM) (0,2 µCi/ml, attività specifica 56,6 mCi/mmol, Amersham).

Per misurare l'attività della sfingomielinasi acida, 100 µg di lisato batterico sono stati incubati per due ore a 37°C in un tampone (50 µl volume finale) contenente sodio acetato 250 mM, EDTA 1 mM, pH 5,0, e 2,25 µl di [N-metil-¹⁴C]SM.

Per il dosaggio della SMasi alcalina, i campioni sono stati aggiunti in 375 µl di tampone Tris-EDTA (pH 9) fino ad un volume finale di 0,4 ml, contenente Tris 50 mM, NaCl 0,15 M, EDTA 2 mM, ed una miscela di sali biliari 3 mM con un rapporto molare TC:TDC:GC:GCDC si 3:2:1,8:1. Una tale miscela di sali biliari era risultata in precedenza possedere il massimo effetto stimolatorio sulla SMasi alcalina. Il supplemento di EDTA nel tampone serviva a inibire l'attività di SMasi neutra che è Mg⁺⁺ dipendente con un pH ottimale a 7,5. ¹⁴C-SM disciolta in etanolo è stata essiccata sotto azoto e sospesa nel tampone di dosaggio contenente una miscela di Triton X-100 al 3% e sali biliari 3 mM.

La reazione è stata bloccata con l'aggiunta di 2 ml di cloroformio:metanolo (2:1). I fosfolipidi sono stati estratti, analizzati su piastre mediante TLC e l'idrolisi di SM è stata quantificata per mezzo di autoradiografia e scintillazione liquida. La SMasi presente nei batteri sonicati o nelle biopsie intestinali è stata indicata come pmol di SM idrolizzata/hr/mg di proteina.

Attività di SMasi dello *Streptococcus thermophilus*

Nella Figura 1 sono riportati i livelli di attività sfingomielinasica nei campioni di batteri lattici sonicati. Non è stata rivelata attività di SMasi acida, mentre nei campioni batterici saggiati in base alle condizioni sperimentali (pH diverso e presenza/assenza di $MgCl_2$) si sono potuti rivelare livelli notevoli di SMasi sia neutra, sia alcalina.

SMasi alcalina in biopsie intestinali

Come mostrato in Figura 2, l'analisi dell'attività di SMasi sulle biopsie intestinali ha evidenziato una attività elevata di SMasi alcalina sali biliari-dipendente, che non era rivelabile in assenza di sali biliari. I livelli di attività enzimatica nel tessuto di un paziente affetto dal morbo di Crohn mostravano un livello minore di SMasi alcalina in confronto al campione di controllo.

Effetto dello *Streptococcus thermophilus* sulla SMasi alcalina intestinale

Come mostrato in Figura 3, il dosaggio dell'attività di SMasi nei campioni di *Streptococcus thermophilus*, nelle condizioni sperimentali usate per la determinazione della SMasi intestinale, ha

rivelato che l'enzima batterico non veniva influenzato dalla presenza o dalla assenza dei sali biliari. Inoltre, allorché saggiate contemporaneamente, le attività della SMasi batterica e della SMasi intestinale, l'idrolisi della SM aumentava in modo addizionale. Risultati analoghi (non mostrati) sono stati ottenuti con il ceppo di *Lactobacillus brevis* CD2 depositato presso il DSM - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germania, con il numero di accesso DSM 11988.

RIVENDICAZIONI

1. Composizione dietetica, nutritiva o farmaceutica caratterizzata dal comprendere una quantità di sfingomielinasi alcalina sufficiente a provocare un effetto dietetico, nutriente o terapeutico in un soggetto che ne necessita.

2. Composizione secondo la rivendicazione 1, atta alla prevenzione e/o al trattamento di disturbi legati allo sviluppo dell'intestino, di processi cancerosi, di disturbi della risposta immunitaria, di processi infiammatori ed apoptotici dell'intestino e delle strutture annesse, di disturbi legati alla sintesi del colesterolo ed alla idrofobicità delle superfici dell'apparato gastrointestinale, di disturbi dei processi digestivi, di malattie intestinali infiammatorie, della ipercolesterolemia, delle infezioni da *Helicobacter pylori*, di disturbi della crescita neonatale e di disturbi legati alla omeostasi intestinale.

3. Composizione secondo la rivendicazione 1 o 2, caratterizzata dal fatto che la sfingomielinasi alcalina è di origine batterica, i batteri contenenti la sfingomielinasi alcalina essendo scelti tra i batteri Gram-positivi, i batteri Gram-negativi ed i batteri lattici, o loro miscele.

4. Composizione secondo la rivendicazione 3, caratterizzata dal fatto che i batteri lattici sono scelti nel gruppo costituito da *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus catenaforme*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus*

curvatus, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus fermentum*,
Lactobacillus jensenii, *Lactobacillus leichmannii*, *Lactobacillus*
minutus, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rogosae*,
Lactobacillus salivarius, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifido-*
bacterium angulatum, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium*
breve, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium dentium*,
Bifido-bacterium eriksonii, *Bifidobacterium infantis*, *Bifido-*
bacterium longum, *Bifidobacterium plantarum*, *Bifidobacterium*
pseudocatenulatum, *Bifidobacterium pseudolongum*, *Streptococcus*
lactis, *Streptococcus raffinolactis* e *Streptococcus thermophilus*.

5. Composizione secondo la rivendicazione 4, caratterizzata dal fatto che viene usato il ceppo di *Lactobacillus brevis* CD2 depositato presso il DSM - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germania, con il numero di accesso DSM 11988.

6. Composizione secondo la rivendicazione 4 o 5, caratterizzata dal fatto che i batteri lattici vengono usati nella composizione sotto forma di batteri vitali, liofilizzati o sonicati.

7. Composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 4 a 6, caratterizzata dal fatto di comprendere da 1×10^2 a 1×10^{13} CFU di batteri lattici per grammo di composizione.

8. Composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, caratterizzata dal fatto di comprendere ulteriormente acidi biliari, pectina, sfingomieline oppure composti, farmaci o alimenti contenenti sfingomieline, arginina deiminasi, acidi grassi,

acidi grassi poliinsaturi, inibitori del colesterolo, delle ceramidasi e delle proteasi, immunomodulatori, agenti anticancerosi, vitamine, fattori di crescita, tensioattivi, cereali, fibre, emulsionanti, stabilizzanti, lipidi, antiossidanti, conservanti, neutralizzatori di radicali liberi e/o vasoprotettori.

9. Composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, somministrabile per via orale, sotto forma di integratore alimentare.

10. Composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, somministrabile per via orale o parenterale, sotto forma di medicamento.

11. Uso di sfingomielinasi alcalina per produrre una composizione dietetica, nutritiva o farmaceutica atta alla prevenzione e/o al trattamento di disturbi legati allo sviluppo dell'intestino, di processi cancerosi, di disturbi della risposta immunitaria, di processi infiammatori ed apoptotici dell'intestino e delle strutture annesse, di disturbi legati alla sintesi del colesterolo ed alla idrofobicità delle superfici dell'apparato gastrointestinale, di disturbi dei processi digestivi, di malattie intestinali infiammatorie, della ipercolesterolemia, delle infezioni da *Helicobacter pylori*, di disturbi della crescita neonatale e di disturbi legati alla omeostasi intestinale.

12. Uso secondo la rivendicazione 11, in cui la sfingomielinasi alcalina è di origine batterica, i batteri contenenti la sfingomielinasi alcalina essendo scelti tra i batteri Gram-positivi, i

batteri Gram-negativi ed i batteri lattici, o loro miscele.

13. Uso secondo la rivendicazione 12, caratterizzato dal fatto che i batteri lattici sono scelti nel gruppo costituito da *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus cateniforme*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus leichmannii*, *Lactobacillus minutus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rogosae*, *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium dentium*, *Bifidobacterium eriksonii*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium plantarum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium pseudolongum*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus raffinolactis* e *Streptococcus thermophilus*.

14. Uso secondo la rivendicazione 13, caratterizzato dal fatto che viene usato il ceppo di *Lactobacillus brevis* CD2 depositato presso il DSM - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germania, con il numero di accesso DSM 11988.

15. Uso secondo la rivendicazione 13 o 14, caratterizzato dal fatto che i batteri lattici vengono usati nella composizione sotto forma di batteri vitali, liofilizzati o sonicati.

16. Uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 13 a 15,
caratterizzata dal fatto di comprendere da 1×10^2 a 1×10^{13} CFU
di batteri lattici per grammo di composizione.

p.i. di MENDES s.u.r.l.

Dott: Fabio Cavattoni

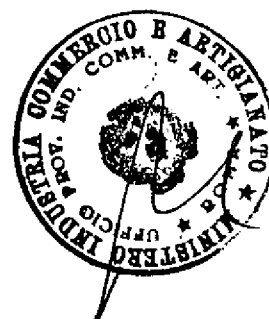
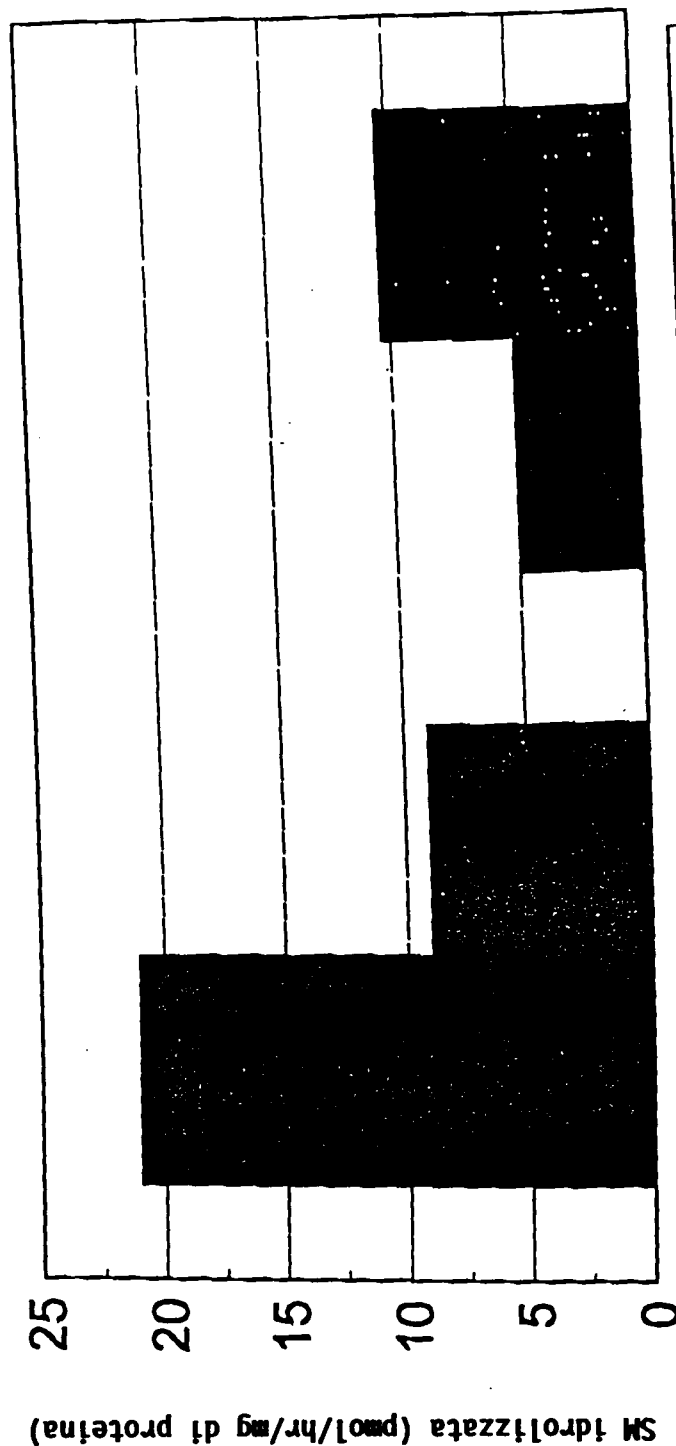


Fig. 1

Attività di SMasi dello Streptococcus thermophilus

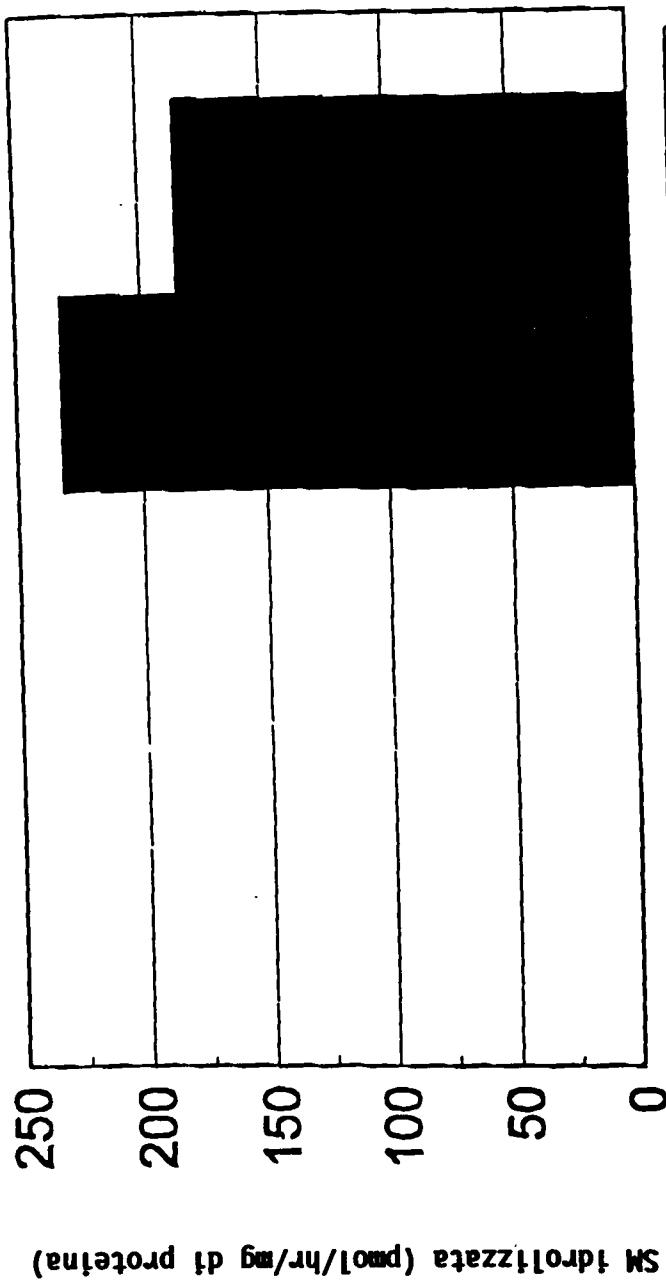


CONSIDERATE DEFINITIVE DAL TITOLARE CON LETTERA DEL 10/SETT. 2001

RM 99 A000376

Fig. 2

SMasi alcalina in biopsie intestinali



con sali biliari

senza sali biliari

232

0

Colon di controllo

185

0

Colon con Crohn

RM 99 A 000376

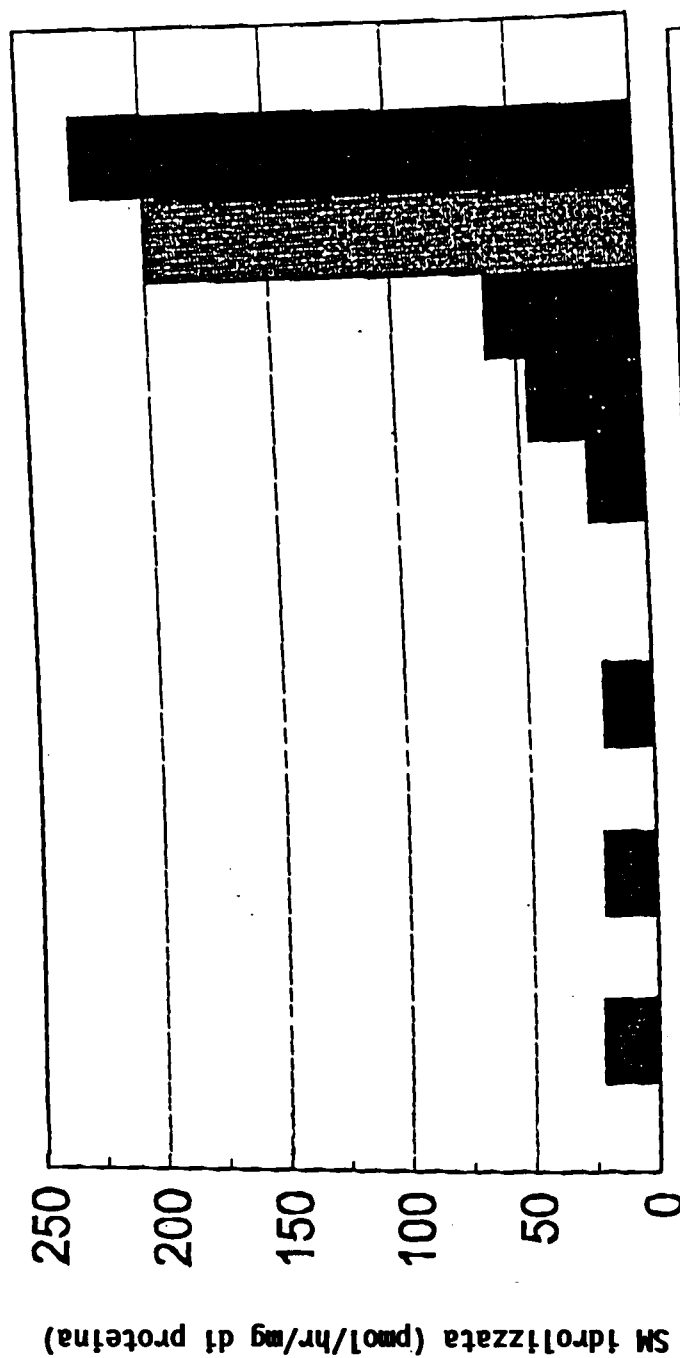
p.i. di MENDES s.u.r.l.

Dott. Fabio Cavattoni



Fig. 3

Effetto dello Streptococcus thermophilus sulla SMasi alcalina intestinale



RM 99 A 000376