

Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma
Facoltà di Medicina e Chirurgia "A. Gemelli"

Landesfachhochschule für Gesundheitsberufe Bozen
Scuola Provinciale Superiore di Sanità Bolzano
Claudiana

CORSO DI LAUREA IN DIETISTICA
LAUREATSSTUDIENGANG FÜR ERNÄHRUNGSTHERAPIE

TESI DI LAUREA
DIPLOMARBEIT

Valutazione del microbiota intestinale e delle abitudini alimentari in soggetti
affetti da Disturbi dello Spettro Autistico in Alto Adige

Untersuchung der intestinalen Mikrobiota und der Essgewohnheiten von
Personen mit einer Autismus-Spektrum-Störung in Südtirol

Relatore/Erstbetreuer:
Prof. Masucci Luca

Correlatrice/Zweitbetreuerin:
Dott.ssa mag. Gasser Monica

Laureanda/Verfasserin der Diplomarbeit
Lisa Messner

Anno Accademico / Akademisches Jahr: 2019/2020

Indice

Abstract

Introduzione	1
1. Il microbiota umano	4
1.1. Definizioni	4
1.2. Diversità microbica	5
1.3. Composizione del microbiota umano	6
1.4. Microbiota intestinale	7
1.5. Metodi di studio del microbiota: metagenomica	11
2. Le funzioni del microbiota intestinale	17
2.1. Metabolismo dei nutrienti	17
2.2. Protezione antimicrobica	18
2.3. Immunomodulazione	19
3. I fattori che influenzano il microbiota	20
3.1. Età gestazionale	20
3.2. Modalità di nascita	20
3.3. Latte materno e latte artificiale	23
3.4. Età	23
3.5. Dieta	24
3.5.1. Carboidrati	25
3.5.2. Proteine	27
3.5.3. Lipidi	29
3.5.4. Cambiamento del microbiota a seguito di un certo regime alimentare	32
3.6. Antibiotici	38

3.7. Prebiotici, Probiotici e Simbiotici	41
3.7.1. Prebiotici.....	41
3.7.2. Probiotici.....	41
3.7.3. Simbiotici	42
4. L'asse intestino-microbiota-cervello	43
4.1. Vie di segnalazione neuroendocrina ed enteroendocrina	46
4.2. Cellule enterocromaffini (ECC)	47
4.3. Segnalazione neuroimmune	49
4.4. Segnali dal cervello all'intestino e al microbiota.....	50
5. I DSA, la nutrizione e il microbiota intestinale in soggetti affetti da DSA.....	51
5.1. Disturbi dello spettro autistico (DSA)	51
5.2. DSA e Nutrizione	57
5.2.1. DSA e selettività alimentare	57
5.2.2. DSA e sovrappeso, obesità e le complicazioni correlate	59
5.2.3. DSA e assunzione di nutrienti	60
5.3. DSA e cambiamenti nella composizione del microbiota intestinale ..	60
6. Materiali e metodi.....	64
6.1. Revisione della letteratura	64
6.2. Ricerca	64
6.2.1. Tipo di studio	64
6.2.2. Campione	65
6.2.3. Anamnesi	66
6.2.4. Raccolta dei campioni delle feci	68
6.2.5. Analisi metagenomica	69
6.2.6. Analisi statistica	71

6.2.7. Etica, privacy e consenso informato	71
7. Risultati	72
7.1. Caratteristiche del campione	72
7.2. Nutrizione della madre	78
7.2.1. Gravidanza	78
7.2.2. L'alimentazione attuale delle madri	82
7.3. Nutrizione del bambino	92
7.3.1. Allattamento e introduzione di alimenti solidi	92
7.3.2. L'alimentazione attuale dei bambini	102
7.4. Calcolo della distribuzione dei macronutrienti e dell'assunzione di fibre alimentari	110
7.5. Risultati del sequenziamento	115
8. Discussione e conclusione	121
8.1. Discussione dei risultati	121
8.2. Limiti dello studio	128
8.3. Suggerimenti per ulteriori ricerche	129
8.4. Raccomandazioni per la pratica	129

Glossario

Indice delle figure

Indice delle tabelle

Bibliografia

Ringraziamenti

Allegato

Abstract

Background: I disturbi dello spettro autistico (DSA) consistono in deficit persistenti della comunicazione e comportamenti stereotipati. Nei soggetti affetti si osserva una selettività alimentare e un aumentato rischio di disturbi intestinali. In più, si riscontrano dei cambiamenti nel microbiota intestinale, che si ritiene abbiano un'influenza sul cervello e quindi sul comportamento. In questo contesto, gli interventi nutrizionali assumono importanza perché rappresentano una possibile strategia per la modificazione specifica del microbiota intestinale.

Obiettivo: Lo scopo principale dello studio è di valutare le abitudini alimentari e la composizione del microbiota intestinale di soggetti affetti da DSA, confrontandoli con soggetti sani della stessa età.

Materiali e metodi: Lo studio effettuato è uno studio caso-controllo, per il quale sono stati intervistati tramite un FFQ cinque pazienti con DSA e sette controlli volontari senza DSA sulle loro abitudini alimentari, includendo anche le madri dei bambini. In più, ogni partecipante ha consegnato un campione fecale, sul quale è stata effettuata un'analisi metagenomica.

Risultati: I dati statisticamente rilevanti, che sono emersi dall'analisi statistica dell'FFQ, mostrano che nei bambini con DSA l'assunzione di verdura cruda era più bassa e che il BMI dei bambini senza DSA si trovava nel 56° percentile, mentre quello dei bambini con DSA nel 77° percentile. Nelle madri dei bambini con DSA, il consumo di fibra, come anche l'assunzione di frutta e verdura cruda erano più bassi. Dall'analisi metagenomica emerge la presenza di Cyanobacteria nel gruppo con DSA, assente invece nel gruppo senza DSA. Nei bambini con DSA si è osservato inoltre un aumento di Bacteroidetes e Verrucomicrobia. La β -diversità dei bambini mostra un *trend* che evidenzia una similitudine dei campioni all'interno dei due singoli gruppi.

Conclusione: Sulla base dello studio si può consigliare una terapia dietetica personalizzata, orientata ai sintomi individuali ed adeguata ad eventuali carenze nutrizionali. Al contrario, non vanno consigliate diete che limitano ulteriormente l'assunzione di cibo.

Key words: autism, autism spectrum disorders (ASD), gut microbiome, diet, microbiota-brain-gut axis, eating habits, FFQ.

Introduzione

Dagli anni '90, il ruolo del microbiota intestinale sulla salute dell'organismo umano è sempre più spesso sotto la lente degli scienziati.

Con il termine microbiota si intende l'insieme di microorganismi presenti in un ambiente definito, nel nostro caso, nel tratto gastrointestinale.

Cambiamenti del microbiota intestinale sono stati associati ad un gran numero di diverse malattie, tra cui anche ai disturbi dello spettro autistico (DSA).

I disturbi dello spettro autistico rappresentano disturbi comportamentali complessi, che consistono in deficit persistenti nella comunicazione e comportamenti stereotipati.

Inoltre, nei soggetti affetti da DSA, spesso si osserva una selettività alimentare, come anche un rischio aumentato di disturbi intestinali.

Secondo i dati forniti dal progetto "Osservatorio Nazionale per il monitoraggio dei disturbi dello spettro autistico", effettuato nel 2016 e co-coordinato dal Ministero della Salute e dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS), in Italia 1 bambino su 77 (età 7-9 anni) presenta un disturbo dello spettro autistico. La prevalenza è maggiore nei maschi, i quali sono colpiti 4,4 volte in più rispetto alle femmine (Ministero della salute, 2019).

Vista la crescente prevalenza di DSA e il loro impatto significativo sui servizi educativi e sulla famiglia delle persone colpite, nuove considerazioni relativi alla prevenzione e alle opzioni terapeutiche stanno acquistando sempre più importanza.

Uno studio di De Angelis, Francavilla, Piccolo, De Giacomo, & Gobetti (2015) ha evidenziato uno squilibrio nel microbiota fecale di bambini con DSA, caratterizzato da una crescita eccessiva di alcuni organismi e la perdita di altri (disbiosi), rispetto ai controlli sani.

Data la crescente evidenza relativa all'esistenza di interazioni bidirezionali tra il sistema nervoso e i microrganismi del microbiota intestinale umano, Rhee, Poehlmann, & Mayer (2009) hanno riassunto tali risultati e ampliato il concetto dell'asse microbioma-intestino-cervello.

La comunicazione tra il microbiota intestinale e il cervello avviene attraverso il sistema neuroendocrino, neuroimmune e il sistema nervoso autonomo (De Angelis et al., 2015).

In questo contesto, gli interventi nutrizionali rivestono un ruolo fondamentale, in quanto rappresentano un importante fattore esterno in grado di influenzare il microbiota intestinale. La capacità della dieta di modificare la composizione microbica dell'intestino è stata descritta per la prima volta già più di un secolo fa (Herter & Kendall, 1910).

Uno studio di David et al. (2014) ha dimostrato che i cambiamenti sul microbiota intestinale causati da un intervento dietetico negli esseri umani sono rilevabili solo entro 24-48 ore, il che sottolinea ulteriormente l'importanza dell'effetto dell'alimentazione sul microbiota intestinale umano.

Ho avuto l'opportunità di inserirmi nel progetto di ricerca "Studio del microbiota intestinale e correlato stato infiammatorio di soggetti affetti da Autism Spectrum Disorders (ASD) nell'Alto Adige", gestito dal Dipartimento di Microbiologia della "Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS" di Roma in collaborazione con il Dipartimento di Psichiatria del Distretto Sanitario di Bolzano e la Scuola Provinciale Superiore di Sanità "Claudiana".

L'obiettivo della mia tesi è quello di determinare la composizione del microbiota intestinale di soggetti affetti da DSA in Alto Adige, confrontandola con soggetti sani appaiati per età. Inoltre, i risultati dell'analisi microbiologica vengono messi in relazione con un'anamnesi alimentare effettuata sui partecipanti allo studio.

La presente tesi è strutturata in due parti principali.

La prima parte consiste in una revisione della letteratura, in cui sono riportati i risultati attuali della ricerca. Le banche dati utilizzate sono "Medline" (Pubmed), "Google Scholar" e "Researchgate".

Nella seconda parte della tesi, viene descritto il lavoro di ricerca.

Ai fini dello studio condotto è stato utilizzato un FFQ (Food Frequency Questionnaire) per indagare le abitudini alimentari dei bambini e delle loro madri.

Inoltre, è stata effettuata un'analisi metagenomica su un campione fecale dei partecipanti, per studiare la composizione del loro microbiota intestinale.

Nella parte finale della tesi sono elencate le raccomandazioni per la pratica della terapia nutrizionale, che sono state formulate in base ai risultati del presente lavoro di ricerca e allo stato attuale delle conoscenze.

1. Il microbiota umano

1.1. Definizioni

Come introduzione alla tematica, è importante chiarire alcuni termini di base, che saranno trattati nei capitoli successivi.

Con il termine microbiota si intende l'insieme dei microorganismi presenti in un ambiente definito, come il tratto gastrointestinale (Quigley, 2017).

Si tratta di una combinazione dei due termini di origine greca antica "micro" (μικρος, piccolo) e "biota" (βιοτα, indica gli organismi viventi di un ecosistema o di un'area specifica) (Berg et al., 2020).

Poiché il nostro microbiota è costituito principalmente da batteri, la maggior parte della ricerca riguarda il microbiota batterico, mentre la composizione e la funzionalità delle componenti virali ed eucariotiche del microbiota intestinale sono ancora in gran parte inesplorate (Hörmannspurger, Blesl, & Haller, 2016).

Il termine microbioma invece, si riferisce all'insieme dei microorganismi, il loro patrimonio genetico (DNA e RNA) e le sue interazioni con l'organismo ospite, nel nostro caso l'uomo.

Anche la parola "bioma" è di origine greca antica e deriva dalla parola greca bíos (βίος), che può essere tradotta con la parola italiana "vita" (Berg et al., 2020).

Whipps, Lewis e Cooke fornirono già nel 1988 la prima definizione del termine microbioma, descrivendolo come una comunità microbica specifica in un habitat ragionevolmente ben definito con proprietà fisico-chimiche distinte, da loro chiamato il campo d'azione (*"theatre of activity"*).

Marchesi e Ravel (2015) descrivono il microbioma come l'intero habitat, compresi i microorganismi (batteri, archea, protozoi, lieviti e virus), i loro genomi (cioè i geni) e le condizioni ambientali circostanti.

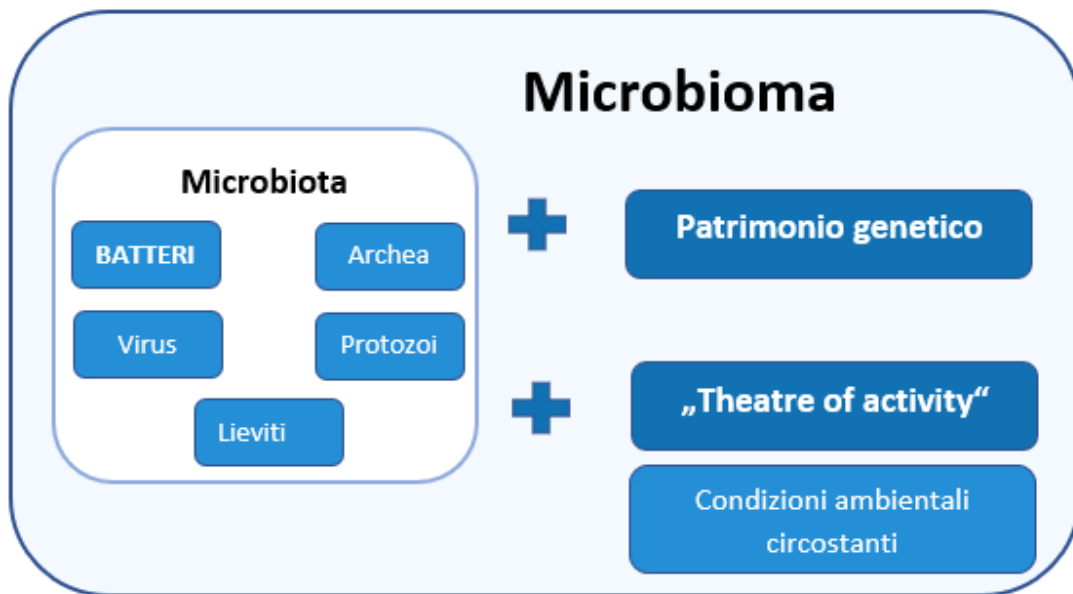


Figura 1: Microbiota e microbioma (Berg et al., 2020, p. 6, modificato).

Il termine metagenoma si riferisce alla raccolta di genomi e geni dei membri di un microbiota. Conoscendo il metagenoma si possono ricavare informazioni sulla potenziale funzione del microbiota in esame.

Con il termine metagenomica viene definito il processo per caratterizzare il metagenoma (Marchesi & Ravel, 2015).

1.2. Diversità microbica

La diversità del microbiota può essere distinta in diversità alfa e beta.

Il termine diversità alfa descrive la diversità all'interno di un dato ecosistema. Diversi parametri possono essere inclusi nel calcolo della diversità alfa, compreso il numero puro di diverse specie (*richness*) o la proporzione relativa delle rispettive specie nel campione (abbondanza relativa).

In generale, quanto più diverse sono le specie batteriche in un campione, tanto maggiore è la diversità alfa di questo specifico microbiota intestinale.

La diversità beta descrive la diversità dei diversi ecosistemi microbici.

Come indicatore della diversità beta, viene calcolata e indicata la distanza filogenetica tra i diversi campioni.

Le analisi della diversità beta vengono eseguite per confrontare la composizione microbica tra singoli campioni o gruppi di campioni (Hörmannspurger et al., 2016).

1.3. Composizione del microbiota umano

Tutte le superfici interne ed esterne del corpo umano sono colonizzate da microrganismi.

Dato l'enorme numero di microrganismi, che supera di gran lunga il numero delle nostre cellule corporee, in quanto solo il 10% del nostro corpo è costituito da cellule umane e il restante 90% è composto da cellule di microrganismi, spesso il microbioma umano viene anche definito come il “secondo genoma” (Campion, Ponzo, Alessandria, Saracco, & Balzola, 2018).

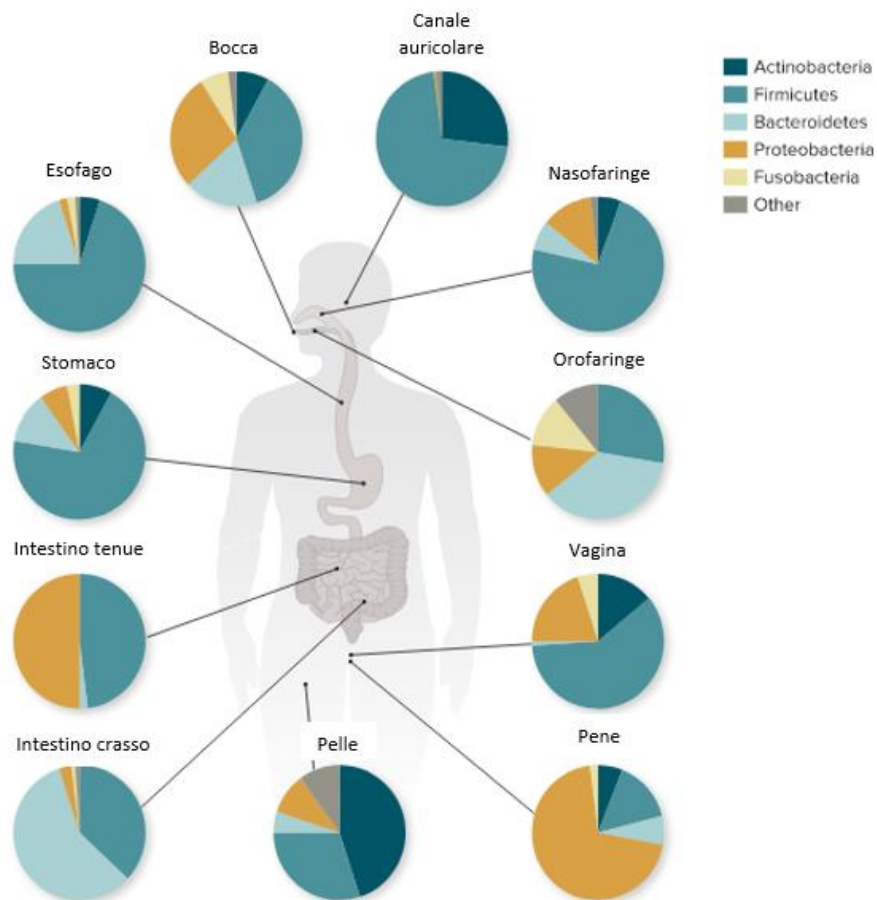


Figura 2: Distribuzione della flora batterica (Katsnelson, 2017).

L'immagine mostra le diverse aree del corpo che sono colonizzate da microrganismi e riporta la distribuzione dei diversi phyla batterici.

La cavità orale ospita una grande varietà di microrganismi ed è solitamente dominata da *Streptococcus spp*, che fa parte del phylum Firmicutes.

Il microbiota cutaneo è fortemente influenzato dalle caratteristiche locali della pelle (secca vs. umida vs. sebacea) ed è colonizzato principalmente da *Corynebacterium* (Actinobacteria), *Propionibacterium* (Actinobacteria) e *Staphylococcus* (Firmicutes).

La vagina sana contiene uno degli ecosistemi microbici più notevolmente strutturati ed è dominata da batteri del genere *Lactobacillus* (Firmicutes) (Lloyd-Price, Abu-Ali, & Huttenhower, 2016).

1.4. Microbiota intestinale

La parte del corpo più densamente popolata è il tratto gastrointestinale.

Circa il 95% dell'intera popolazione di microorganismi si trova nel tratto gastroenterico, il quale comprende 100 bilioni (10^{14}) di microrganismi, principalmente batteri, ma anche archea, virus, lieviti e protozoi (Hörmannspurger et al., 2016).

La densità dei microbi aumenta dallo stomaco al colon: mentre il tratto digestivo superiore contiene fino a 1000 microrganismi per millilitro, l'intestino crasso è il più densamente popolato con 10^{12} cellule per grammo di contenuto. La maggior parte dei batteri nel tratto digestivo sono anaerobi, cioè ottengono la loro energia dalla fermentazione (Hörmannspurger et al., 2016).

Inoltre, sono in grado di adattarsi in modo flessibile al cambiamento della disponibilità di diversi alimenti, poiché hanno un elevato potenziale genetico (Hahn, Ferschke, & Groeneveld, 2019).

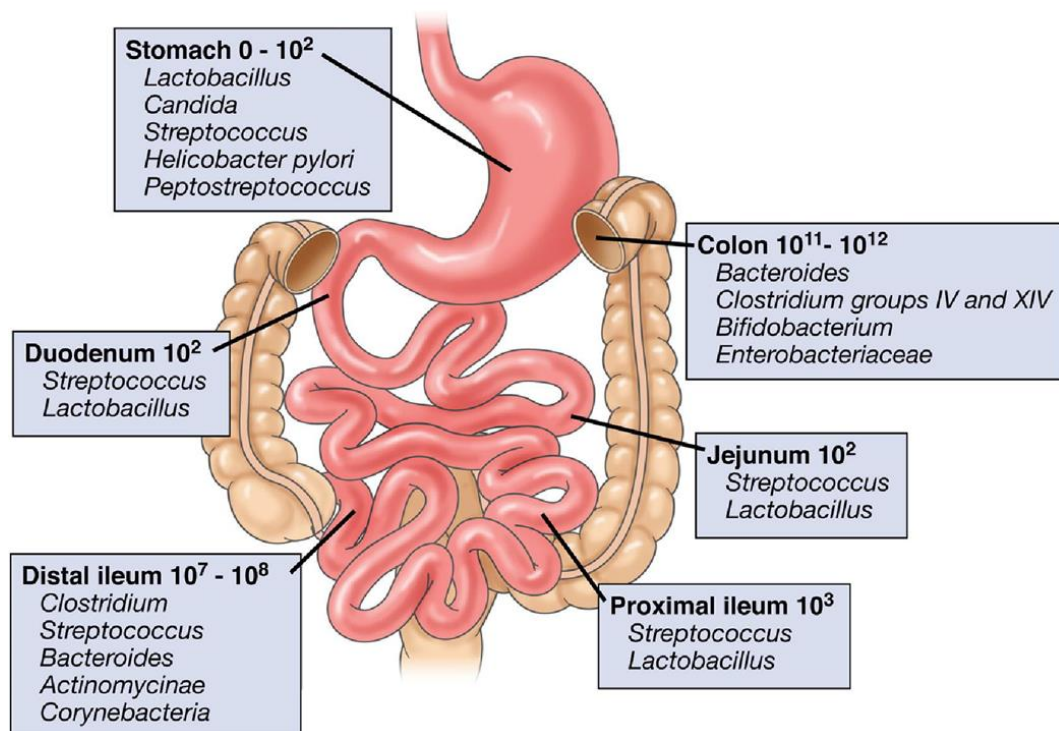


Figura 3: Distribuzione e abbondanza di batteri nel tratto gastrointestinale umano (Sartor, 2008, p. 578).

Come si può vedere nella figura sopra riportata, le diverse parti del tratto gastrointestinale sono colonizzate da batteri differenti.

Streptococcus sembra essere il genere dominante a livello di esofago, duodeno e digiuno.

Helicobacter pylori si trova molto comunemente a livello dello stomaco.

Quando esso abita il distretto gastrico come commensale si riscontra una ricca diversità di *Streptococcus* (Firmicutes), *Prevotella* (Bacteroidetes), *Veillonella* (Firmicutes) e *Rothia* (Actinobacteria).

Tale biodiversità viene meno nel momento in cui *Helicobacter pylori* acquisisce un fenotipo patologico (Jandhyala et al., 2015).

Come descritto precedentemente in questo capitolo, il distretto intestinale che ospita il maggior numero di specie batteriche è l'intestino crasso (circa il 70% delle specie microbiche riscontrate nel corpo umano).

I phyla batterici dominanti nell'intestino adulto sano sono i Firmicutes e i Bacteroidetes (che insieme costituiscono il 95% della popolazione batterica intestinale), con una proporzione minore del microbiota costituito da Actinobacteria, Proteobacteria, Fusobacteria e Verrucomicrobia (Hughes, Rose, & Ashwood, 2018; Hörmannspurger et al., 2016)

I Firmicutes sono un phylum di batteri Gram-positivi, che include i batteri dei generi *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Streptococcus* e *Staphylococcus*, mentre i Bacteroidetes sono batteri Gram-negativi come *Bacteroides* e *Prevotella* (Campion et al., 2018).

Oltre ai phyla dominanti Firmicutes e Bacteroidetes, il colon umano ospita anche microrganismi patogeni del phylum Proteobacteria, come *Campylobacter jejuni*, *Salmonella spp.*, *Vibrio spp.* ed *Escherichia coli*, i quali sono però presenti a concentrazioni bassissime (0,1%).

Il fatto che il phylum Proteobacteria è scarsamente rappresentato insieme ad un'alta abbondanza dei phyla Firmicutes e Bacteroidetes correla con un microbiota intestinale equilibrato e quindi sano (Jandhyala et al., 2015).

La tabella seguente di Rinninella et al. fornisce una visione d'insieme dei sei phyla batterici principali del tratto gastrointestinale.

I phyla vengono classificati in base alla classificazione tassonomica di Carlo Linneo del 1735, che consiste in sette livelli decrescenti: regno (nel nostro caso i batteri), phylum, classe, ordine, famiglia, genere e specie (Carl Linnaeus, n.d.).

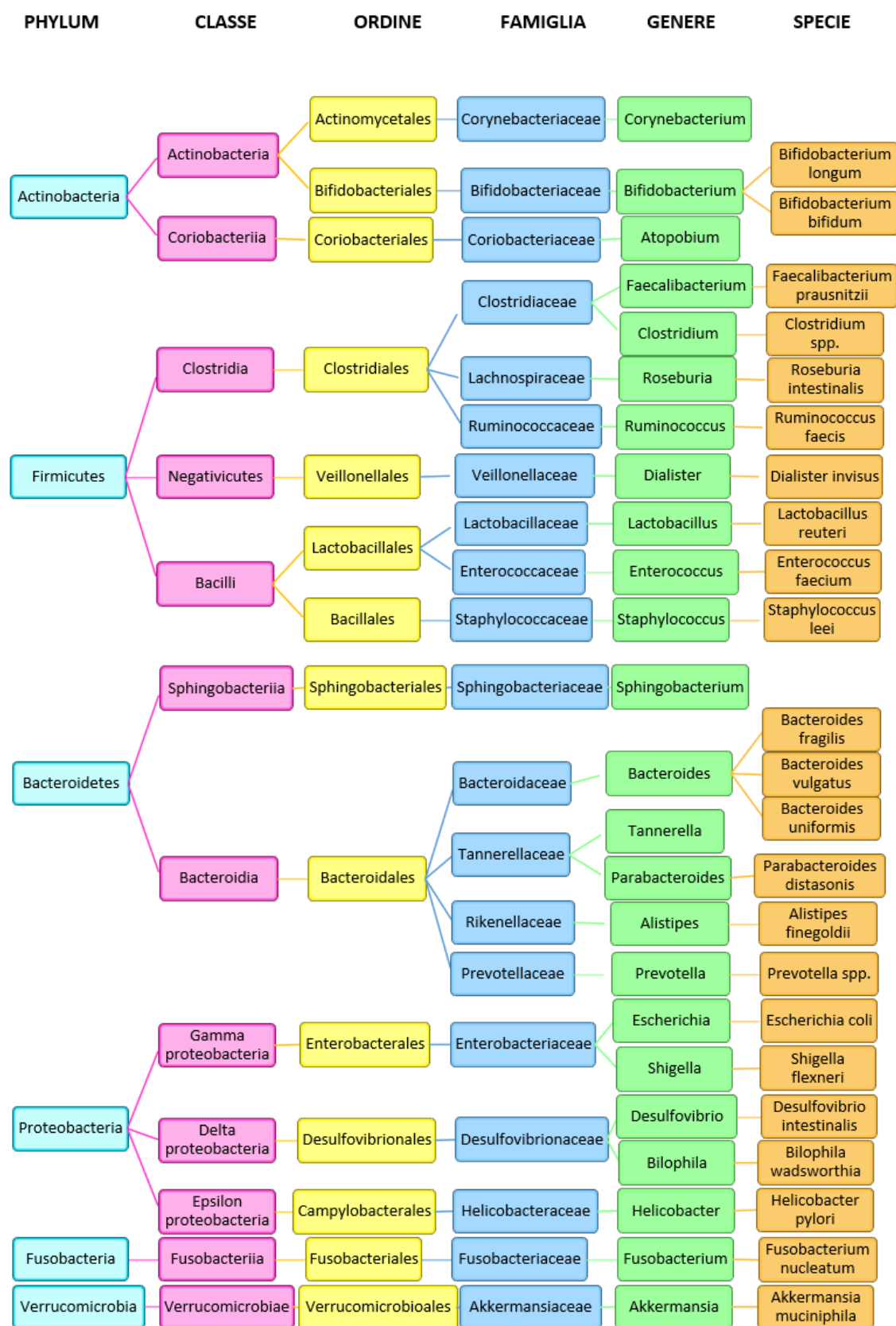


Figura 4: Composizione tassonomica del microbiota intestinale (Rinninella et al., 2019, p. 3, modificato).

1.5. Metodi di studio del microbiota: metagenomica

La metagenomica rappresenta una nuova branca della biologia che si pone come obiettivo lo studio e la caratterizzazione dei genomi presenti in una determinata comunità biologica complessa.

Il termine greco “meta” significa trascendentale e descrive la necessità di non concentrarsi più esclusivamente sui singoli organismi, ma sui *cluster* genetici che condividono e influenzano le attività della comunità biologica presa in esame (National Research Council Committee on Metagenomics: Challenges and Functional Applications, 2007).

Dal punto di vista tecnico, questo nuovo approccio analitico microbiologico ha permesso di studiare microrganismi sconosciuti o difficili da caratterizzare fino a qualche decennio fa. Infatti, la crescita su terreni di coltura permette di identificare solo l'1-3% dei microrganismi presenti (Hugenholtz, Goebel, & Pace, 1998).

Le nuove tecniche richiedono l'uso di DNA genomico totale estratto da una matrice di varia natura e il sequenziamento del 16S rRNA. In questo modo è possibile studiare sia le abbondanze relative delle singole specie microbiche presenti sia le interazioni dei vari microrganismi tra loro e con l'ambiente (ecologia microbica), e quindi determinarne le funzioni (Metzker, 2010).

Negli ultimi sessanta anni si è osservato un notevole incremento delle conoscenze riguardanti il genoma umano, dalla scoperta della struttura del DNA nel 1953 alla pubblicazione della prima bozza del genoma umano nel 2001.

Il sequenziamento Sanger, noto anche come sequenziamento di prima generazione, è stato il metodo utilizzato per sequenziare il genoma nel “Human Genome Project”, nel 2003.

La prima piattaforma NGS (Next Generation Sequencing) ad entrare nel mercato nel 2005, il 454 Roche, è il risultato della convergenza di due metodi: un'amplificazione del DNA in micro-comparti e il sequenziamento basato sulla misurazione del pirofosfato rilasciato durante la sintesi molecolare.

Successivamente sono state introdotte altre piattaforme NGS, tutte caratterizzate da due importanti fasi: una fase biologica e una fase informatica di analisi dei dati ottenuti.

La prima parte del processo è suddivisa in tre fasi: preparazione del campione, amplificazione e sequenziamento (vedi figura 16).

La preparazione del campione consiste nella frammentazione del DNA genomico in frammenti di piccole dimensioni che variano tra le 100 e le 500 paia di basi (bp) a seconda della piattaforma utilizzata.

Ai frammenti vengono poi aggiunti degli adattatori che vengono utilizzati per la fase successiva, l'amplificazione (Metzker, 2010).

L'amplificazione si basa su due metodiche esclusive:

- La PCR in emulsione, nella quale le singole molecole di DNA vengono amplificate clonalmente in micro-compartimenti composti da miscele di acqua e olio.
- Nell'amplificazione a stato solido, i frammenti di DNA vengono immobilizzati legandosi con sequenze complementari all'adattatore, ma su una superficie solida, simile ad un vetrino. I frammenti sono amplificati mediante la formazione di un ponte (*bridge*) dato dal ripiegamento dei filamenti di DNA che si ibridano ad un nucleotide di ancoraggio adiacente nel vetrino.

Tutte le piattaforme NGS presenti sul mercato sono caratterizzate dalla capacità di sequenziare parallelamente e massivamente molecole di DNA amplificate in modo clonale o singole (Metzker, 2010).

Next-generation DNA sequencing

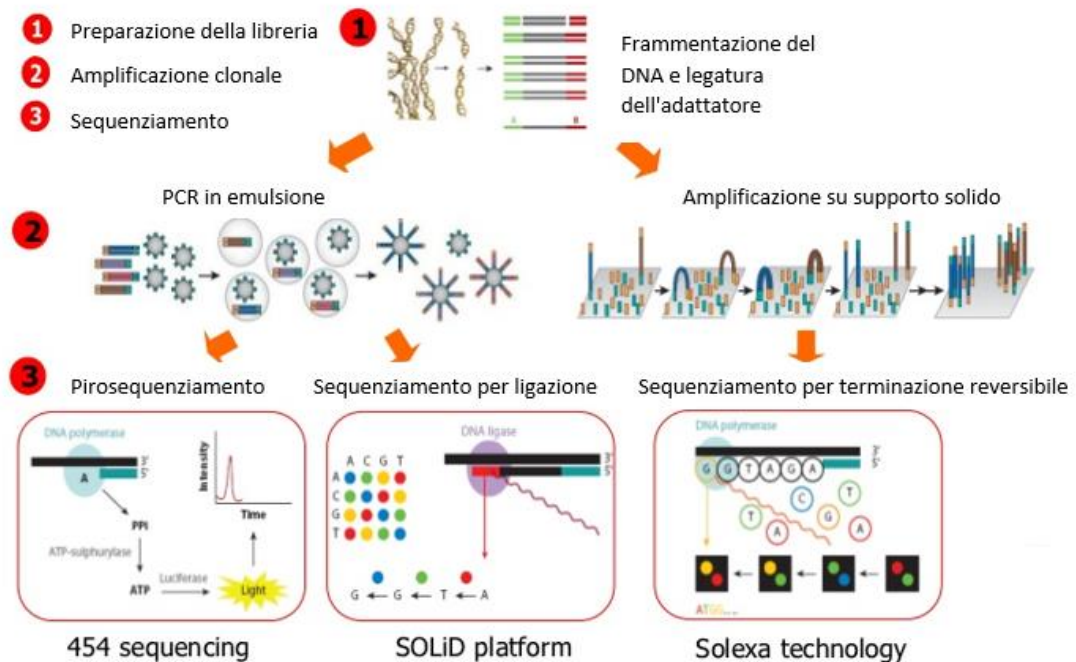


Figura 5: Uno schema illustrativo delle metodiche di sequenziamento (Sánchez, 2011).

Il principio su cui si basa il sequenziamento e l'acquisizione delle immagini sono i passaggi peculiari che caratterizzano le diverse piattaforme in commercio.

Ad oggi sono noti quattro diversi metodi di sequenziamento. Il metodo utilizzato nel presente studio è il sequenziamento per terminazione ciclica reversibile, noto anche come sequenziamento per sintesi.

In questo tipo di sequenziamento si utilizzano nucleotidi terminatori marcati in modo reversibile. Ogni ciclo di sequenziamento include: l'incorporazione dei nucleotidi, l'acquisizione della fluorescenza e il taglio dei nucleotidi.

La DNA polimerasi aggiunge alla sequenza di innesco un nucleotide modificato fluorescente che è complementare al template, e questa incorporazione provoca il termine della reazione di estensione. La successiva fase di lavaggio consente l'eliminazione di tutti i nucleotidi non incorporati.

A questo punto viene catturata l'immagine per identificare il nucleotide incorporato, seguito da uno step di clivaggio che rimuove il gruppo terminatore e il fluorocromo del nucleotide appena analizzato.

Dopo l'eliminazione dei gruppi funzionali clivati, la polimerasi può continuare la reazione di estensione e legare il secondo nucleotide. Questo metodo è utilizzato da due tipi di piattaforme commerciali: "Illumina" ed "Helicos", che differiscono per il template di partenza per il sequenziamento. Mentre "Illumina" utilizza frammenti amplificati clonicamente su base solida, "Helicos" è attualmente l'unica piattaforma commerciale in grado di utilizzare singole molecole di DNA non amplificate. Inoltre, la piattaforma "Illumina" utilizza un'acquisizione a 4 colori (i quattro nucleotidi del terminatore reversibile sono etichettati con un fluorocromo diverso e vengono dispensati contemporaneamente nel sequenziatore), mentre nella piattaforma "Helicos" tutti i nucleotidi sono marcati con lo stesso fluorocromo (Metzker, 2010; Gupta & Verma, 2019).

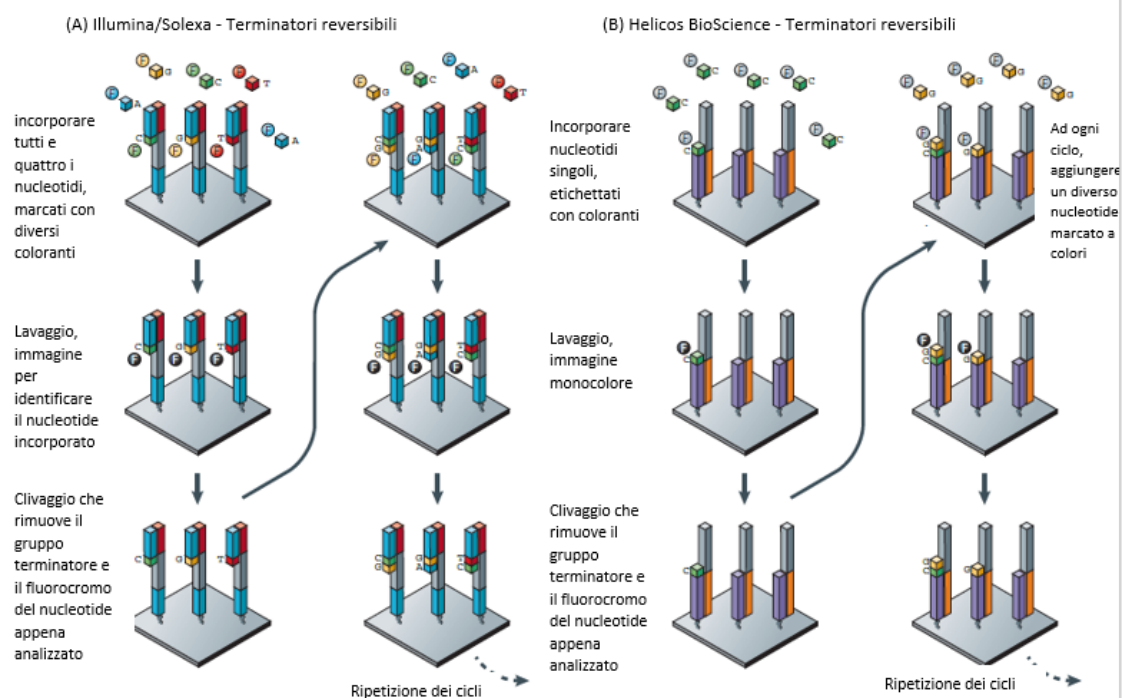


Figura 6: Sequenziamento per terminazione reversibile basato su acquisizione a 4 colori (A) o ad un colore (B) (Metzker 2010, p. 6, tradotto dall'inglese).

Il gene ribosomico 16S rRNA che rappresenta il gene principalmente utilizzato per studiare la filogenesi e la tassonomia batterica è costituito da 10 regioni conservate e 9 regioni ipervariabili. È un locus genetico presente in tutti i batteri ed è soggetto ad un basso tasso di evoluzione (Nguyen, Warnow, Pop, & White, 2016).

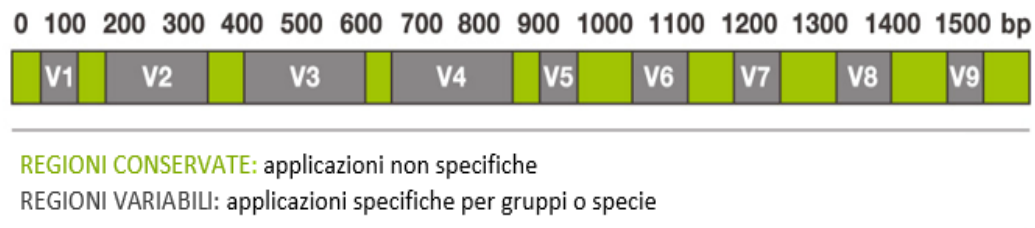


Figura 7: Schema del gene 16S rRNA (Renvoisé, Brossier, Sougakoff, Jarlier, & Aubry, 2013, tradotto dall'inglese).

Il tasso di variazione delle sequenze dei geni che codificano per l'rRNA è molto più basso di quello degli altri geni, rendendo possibile la determinazione di relazioni filogenetiche su lunghe distanze evolutive.

Il prodotto genico del 16S rRNA è una regione che costituisce la subunità minore 30S dei ribosomi procariotici (Nguyen et al., 2016).

Nella tassonomia numerica tradizionale, il termine *Operational Taxonomic Unit* (OTU) viene utilizzato per classificare una specie o un gruppo di specie, basandosi sulla similarità di sequenza.

La classificazione tassonomica (specie, genere, famiglia e phylum) si basa sulla sequenza delle 9 regioni ipervariabili del gene 16S rRNA.

Tuttavia, questo metodo può talvolta portare a incertezze nella corretta assegnazione tassonomica delle OTUs, soprattutto se le differenze tra le sequenze geniche dei diversi 16S rRNA non sono distribuite in modo eterogeneo lungo il gene 16S rRNA e sono concentrate principalmente in alcune delle nove regioni ipervariabili.

È stato dimostrato che alcune delle 9 regioni ipervariabili sono più informative di altre e consentono una classificazione tassonomica più affidabile di altre (Nguyen, Warnow, Pop, & White, 2016).

Pertanto, la scelta della regione ipervariabile ha un impatto significativo sulla valutazione dell'abbondanza relativa delle OTUs.

Pertanto, è fondamentale identificare le regioni ipervariabili più adatte, a secondo della matrice da analizzare.

In particolare, i campioni fecali forniscono maggiori informazioni tassonomiche studiando la regione ipervariabile V1-V3.

Inoltre, i database pubblici contengono per la maggior parte sequenze che corrispondono alla regione V1-V3, il che facilita notevolmente l'analisi filogenetica (Nguyen et al., 2016).

2. Le funzioni del microbiota intestinale

Il microbiota intestinale umano si è evoluto nei millenni parallelamente al suo ospite fino a divenire un vero e proprio organo, con un peso di circa 2 kg, in grado di esplicare funzioni metaboliche, protettive e immunologiche per l'uomo.

La chiave di questa capacità risiede nella diversità in termini di comunità batterica presente a livello intestinale, dove ogni specie può esplicare un ruolo specifico sia in condizioni di salute che in condizioni patologiche (Jandhyala et al., 2015).

2.1. Metabolismo dei nutrienti

Il microbiota intestinale trae il suo nutrimento principalmente dai carboidrati. Le specie dei generi batterici residenti nel colon come *Bacteroides*, *Roseburia*, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Xylanibacter* e *Prevotella* sono responsabili della fermentazione dell'amido resistente e dei polisaccaridi non amidacei (Jandhyala et al., 2015).

Da questo processo consegue la produzione di SCFA (*short-chain fatty acids*) come butirrato, propionato ed acetato i quali rappresentano sia una ricca fonte energetica per l'ospite sia fattori protettivi per l'epitelio intestinale (Martin, Osadchiy, Kalani, & Mayer, 2018).

Altre specie microbiche, come *Oxalobacter formigenes* (Proteobacteria), *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.*, partecipano attivamente alla neutralizzazione dell'ossalato che viene sintetizzato nell'intestino come risultato della fermentazione dei carboidrati, riducendo così il rischio di calcoli renali (Jandhyala et al., 2015).

Il microbiota intestinale eubiotico svolge inoltre un ruolo chiave nel metabolismo lipidico attraverso la soppressione dei processi di inibizione delle lipoproteine ad azione lipasica a livello degli adipociti (Jandhyala et al., 2015). Di conseguenza, il grasso depositato viene idrolizzato maggiormente e quindi reso disponibile per la produzione di energia (Kasper & Burghardt, 2014).

Inoltre, è dimostrato che *Bacteroides thetaiotaomicron* aumenta l'efficienza dell'idrolisi dei lipidi (Jandhyala et al., 2015).

In più, il microbiota intestinale sintetizza diverse molecole come la vitamina K e i costituenti delle vitamine del gruppo B. Alcuni di queste possono contribuire direttamente alla nutrizione umana attraverso il loro assorbimento dall'intestino. La vitamina B12, prodotta dal microbiota intestinale, è improbabile che sia disponibile direttamente all'ospite. La fisiologia dell'assorbimento della vitamina B12 è tale che richiede il legame al fattore R nello stomaco, il trasferimento al fattore intrinseco nell'intestino tenue, e l'assorbimento del complesso nell'ileo terminale (Ramakrishna, 2013).

Protagonisti della sintesi vitaminica risultano essere le specie appartenenti al genere *Bacteroides* e *Fusobacterium* (Yoshii, Hosomi, Sawane, & Kunisawa, 2019).

2.2. Protezione antimicrobica

Una delle funzioni principali del cosiddetto “healthy gut microbiota” è quella di garantire l'equilibrio di tutti i fattori che contribuiscono all'omeostasi e al funzionamento intestinale, tra cui il bilanciamento tra i batteri commensali e patogeni.

Uno dei meccanismi più semplici di protezione antimicrobica è rappresentato dallo strato di muco presente a livello dell'epitelio intestinale.

A livello dell'intestino crasso, il muco è costituito da una varietà di mucine glicoproteiche secrete dalle cellule caliciformi.

Lo strato interno del muco è estremamente denso e non ospita alcun microrganismo mentre la porzione più esterna contiene glicani che fungono da nutrimento per i microrganismi.

Nell'intestino tenue, dove lo strato di muco è discontinuo ed inadeguato, il ruolo chiave nella funzione di equilibrio ed omeostasi batterica è svolto dalle proteine antimicrobiche:

Il microbiota intestinale, attraverso le sue componenti strutturali, induce la sintesi di molecole definite AMP (*anti-microbial-proteins*) da parte delle cellule di Paneth dell'intestino tenue.

L'azione di queste molecole si concretizza mediante il legame a specifici recettori e il risultato di queste interazioni è la produzione di ulteriori peptidi antimicrobici e di conseguenza l'omeostasi funzionale della barriera mucosale. *Bacteroides thetaiotaomicron* e *Lactobacillus innocua* sembrano essere tra le specie maggiormente coinvolte in questi processi.

Un altro meccanismo che il microbiota intestinale ha sviluppato nel corso della sua evoluzione per controllare la crescita eccessiva (*overgrowth*) da parte dei ceppi patogeni residenti è l'induzione locale di immunoglobuline.

Nello specifico, batteri Gram-negativi come *Bacteroides* hanno mostrato la capacità di attivare le cellule dendritiche intestinali provocando il successivo rilascio di IgA secretorie da parte delle plasmacellule distribuite nella mucosa intestinale (Jandhyala et al., 2015).

2.3. Immunomodulazione

L'intestino rappresenta la più ampia barriera difensiva dell'organismo umano. Circa il 60% delle cellule immunitarie risiede nel distretto intestinale pronte a identificare e contrastare la presenza di potenziali agenti patogeni e ad inibire incontrollate risposte infiammatorie.

Diversi studi hanno dimostrato come alcune specie microbiche possano giocare un ruolo chiave nella attivazione di differenti cellule immunitarie come CD8⁺, CD4⁺, Th17 e Cellule T regolatrici.

Alcune specie commensali riescono ad iperattivare cellule T effettrici con conseguente sviluppo di processi flogistici ed autoimmunitari (Garrett, Gordon, & Glimcher, 2010).

3. I fattori che influenzano il microbiota

Ci sono diversi fattori intrinseci ed estrinseci che influenzano la composizione dei batteri intestinali e possono quindi avere un impatto sulla salute.

In questo capitolo vengono descritti i fattori più importanti.

3.1. Età gestazionale

L'età gestazionale alla nascita è un fattore determinante per la colonizzazione dei microrganismi intestinali. La composizione del microbiota intestinale dei neonati pretermine (< 37 settimane di gestazione) differisce da quella dei neonati a termine.

Nei neonati pretermine, la colonizzazione del microbiota dopo la nascita è complicata dall'imaturità degli organi e da fattori ambientali come l'uso di antibiotici, il ricovero ospedaliero e la nutrizione enterale.

Per questi motivi, la maturazione postnatale dell'intestino e l'immunità sistemica possono essere gravemente compromesse in neonati pretermine (Rinninella et al., 2019).

Secondo uno studio di Arboleya et al. (2012), i neonati pretermine presentano una ridotta diversità con una maggiore colonizzazione da parte di batteri potenzialmente patogeni della famiglia delle Enterobacteriaceae (Proteobacteria) e livelli ridotti di Bacteroides, Bifidobacterium e Atopobium (Actinobacteria).

3.2. Modalità di nascita

Secondo i dati della “Direzione Generale della digitalizzazione, del sistema informativo sanitario e della Statistica” pubblicati sulla pagina del Ministero della Salute, nell'anno 2016 il 33,7% dei parti è avvenuto con taglio cesareo (Boldrini, Di Cesare, Basili, Messina, & Gianetti, 2016).

La modalità di nascita ha un'influenza significativa sulla composizione del microbiota intestinale e di conseguenza si possono osservare differenze tra i bambini nati da parto naturale e quelli nati da parto cesareo.

Il microbiota iniziale dei bambini nati naturalmente è molto simile al microbiota vaginale o fecale materno ed è dominato da *Lactobacillus* e *Prevotella* (Campion et al., 2018).

Inoltre, Biasucci, Benenati, Morelli, Bessi e Boehm (2008) hanno dimostrato che il microbiota dei neonati partoriti per via vaginale è caratterizzato da gruppi predominanti come *Bifidobacterium longum* e *Bifidobacterium catenulatum* (Actinobacteria).

Il microbiota intestinale dei bambini nati da parto cesareo invece, è fortemente influenzato dal microbiota cutaneo della madre e dai microrganismi ambientali ed è dominato da *Staphylococcus* (Firmicutes), *Corynebacterium* (Actinobacteria) e *Propionibacterium* (Actinobacteria) (Campion et al., 2018). Secondo uno studio di Biasucci et al. (2008), il microbiota intestinale dei neonati partoriti con taglio cesareo dimostra una ridotta diversità in termini di specie batteriche rispetto al microbiota dei bambini nati da parto naturale.

Tuttavia, anche se in passato l'ambiente intrauterino era considerato completamente sterile, in alcuni studi, le indagini sul meconio infantile suggeriscono che i batteri sono già presenti nell'intestino del feto prima della nascita, il che significa che la colonizzazione potrebbe avvenire già nell'utero. Studi recenti, effettuati negli ultimi 5-10 anni, confermano infatti la presenza di batteri nel liquido amniotico, nella placenta, nel sangue del cordone ombelicale e nel meconio, benché i meccanismi precisi non possano ancora essere spiegati (Campion et al., 2018).

Il primo meconio è ricco di generi come *Escherichia-Shigella* (Proteobacteria), *Enterococcus* (Firmicutes), *Lactococcus* (Firmicutes) e *Streptococcus* (Firmicutes) (Jandhyala et al., 2015).

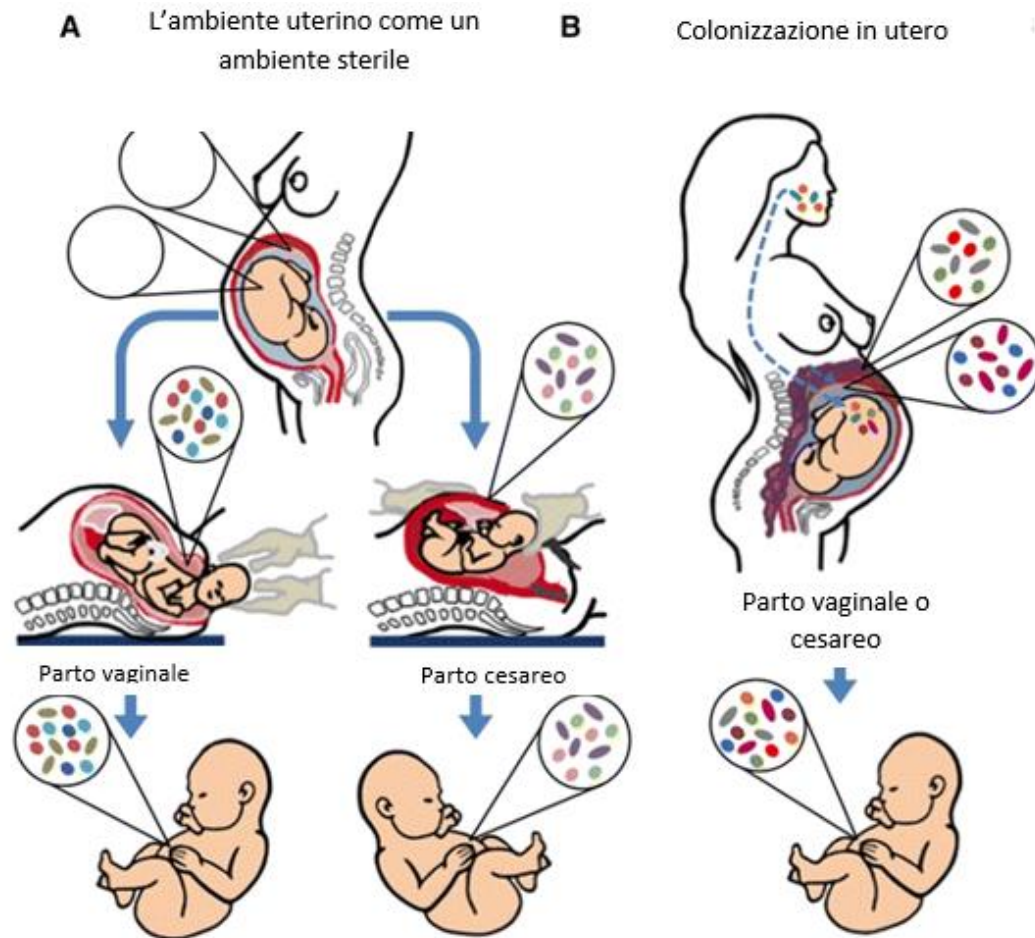


Figura 8: L'ambiente uterino come un ambiente sterile (A) e la colonizzazione del microbiota in utero (B) (Perez-Muñoz, Arrieta, Ramer-Tait, & Walter, 2017, p. 3).

Nonostante il microbiota intestinale "adulto" sia considerato relativamente stabile, è comunque un sistema dinamico che si adatta a fattori ambientali costantemente in cambiamento (come p.e. l'assunzione di cibo e l'utilizzo di farmaci, soprattutto antibiotici) così come a fattori intrinseci dell'organismo (come p.e. lo stato di salute e lo stato nutrizionale) (Hörmannspurger et al., 2016).

3.3. Latte materno e latte artificiale

I neonati alimentati con latte artificiale hanno più probabilità di essere colonizzati con *Escherichia coli*, *Bacteroides* e *Clostridium difficile* rispetto ai neonati allattati al seno.

Sebbene non vi siano differenze significative nella concentrazione dei *Bifidobacterium spp.* tra i neonati allattati al seno e quelli allattati con il latte in polvere, i neonati allattati al seno hanno generalmente una maggiore diversità di *Bifidobacterium spp.* rispetto ai neonati alimentati con latte artificiale. Ciò è in parte dovuto al fatto che il latte materno contiene una maggiore quantità di *Bifidobacterium spp.*

Inoltre, i *Bifidobacterium spp.* sono responsabili della fermentazione del galattooligosaccaride (GOS), uno dei principali componenti del latte materno, per formare gli SCFA.

Anche il mantenimento di un microbiota intestinale “sano” (eubiotico) della madre durante la gravidanza è considerato un fattore importante per influenzare positivamente la composizione del microbiota del latte materno.

L'integrazione di probiotici nelle madri che hanno partorito per via vaginale può aumentare la frequenza di *Bifidobacterium spp.* e *Lactobacillus spp.* nel latte materno.

Con l'introduzione di alimenti complementari, la composizione del microbiota dei bambini allattati al seno si avvicina a quella dei bambini nutriti con il latte artificiale (Rinninella et al., 2019).

3.4. Età

Il microbiota intestinale del neonato inizialmente appare instabile e mostra una bassa diversità.

All'età di un anno, la composizione del microbiota del bambino è caratterizzata da un'abbondanza di *Akkermansia muciniphila* (Verrucomicrobia), *Bacteroides* (Bacteroidetes), *Veillonella* (Firmicutes), *Clostridium coccoides* e *Clostridium botulinum* (Firmicutes).

Successivamente il microbiota infantile si stabilizza, acquisisce una maggiore diversità e raggiunge una somiglianza del 40%-60% con il microbiota adulto, che è dominato dai Phyla Firmicutes e Bacteroidetes, all'età di 3 anni.

Il microbiota intestinale è generalmente in uno stato stabile dal 3° al 7° decennio di vita, anche se le proporzioni di *Bifidobacterium* e Firmicutes tendono a diminuire, con un aumento di Proteobacteria, tra cui *Escherichia coli*, e *Staphylococcus* (Firmicutes).

Sebbene il microbiota dopo la nascita sia in gran parte modificato dal tipo di alimentazione (latte materno o artificiale), nel corso degli anni è inoltre influenzato da variabili genetiche, tipo di alimentazione, stile di vita, fisiologia intestinale e fattori ambientali.

Con l'avanzare dell'età (s.t. in persone di età superiore ai 70 anni), la composizione del microbiota intestinale può essere influenzata dai cambiamenti nell'attività digestiva e nell'assorbimento dei nutrienti e dalla diminuzione dell'attività immunitaria.

Inoltre, i cambiamenti nelle abitudini alimentari, in particolare l'aumento della monotonia nella selezione degli alimenti, possono ridurre la diversità del microbiota intestinale.

In questo contesto è stata osservata una diminuzione di *Bifidobacterium spp.* e un aumento di *Clostridium* e Proteobacteria.

Dato il ruolo di *Bifidobacterium spp.* nel funzionamento del sistema immunitario e nei processi metabolici, una diminuzione dei Bifidobacteria potrebbe spiegare almeno in parte uno stato infiammatorio sistemico basso e un aumento del rischio di malnutrizione nelle persone anziane (Rinninella et al., 2019; Jandhyala et al., 2015).

3.5. Dieta

Diversi studi, di cui una selezione verrà descritta più avanti in questo capitolo, hanno dimostrato che il microbiota intestinale può adattarsi a un'alimentazione modificata nel giro di poche ore.

A questo proposito, il cibo è un fattore importante che influenza la composizione e l'attività del microbiota (Hahn et al., 2019).

La consapevolezza che la dieta è un importante fattore che contribuisce alla composizione del microbiota intestinale lo rende il bersaglio più logico da manipolare (Wen & Duffy, 2017).

In questo capitolo vengono descritti i macronutrienti e il loro effetto sul nostro microbiota.

3.5.1. Carboidrati

I carboidrati sono la fonte di energia più importate per il nostro corpo in termini di percentuale dell'energia totale.

L'apporto raccomandato di carboidrati secondo i “Livelli di Assunzione di Riferimento di Nutrienti ed energia per la popolazione italiana” (LARN) della “Società Italiana di Nutrizione Umana” è pari al 45 - 60% dell'apporto energetico totale.

I carboidrati comprendono, oltre ai mono-, di-, oligo- e polisaccaridi, anche le fibre alimentari (Società Italiana di Nutrizione Umana, 2014a).

Fondamentalmente, le fibre alimentari sono componenti vegetali non digeribili. Secondo la definizione biologica, le fibre alimentari sono carboidrati che non vengono scomposti enzimaticamente nell'intestino tenue e quindi raggiungono l'intestino crasso. Questa definizione include anche l'amido resistente non degradabile enzimaticamente nell'intestino tenue.

Secondo la definizione chimica, le fibre alimentari sono polisaccaridi non amilacei più la lignina. L'amido resistente non è incluso in questa definizione. L'amido resistente si riferisce a quella parte dell'amido ingerito che non viene assorbito nell'intestino tenue e quindi raggiunge l'intestino crasso, dove è fermentato battericamente, proprio come le fibre alimentari.

Circa il 10% dell'amido in una dieta mista è resistente all' α -amilasi.

Fondamentalmente, le fibre alimentari possono essere suddivise in fibre solubili in acqua e fibre insolubili in acqua.

Le fibre insolubili in acqua, che consistono principalmente di cellulosa ed emicellulosa, sono scomposte dai batteri solo in misura relativamente piccola.

Grazie alla loro elevata capacità di trattenere l'acqua, aumentano il volume delle feci, stimolando la peristalsi e accorciando il tempo di transito nel colon. Le fibre alimentari solubili in acqua sono rapidamente e quasi completamente decomposte dai batteri anaerobici intestinali.

I tipi di fibre quantitativamente più importanti sono la cellulosa, l'emicellulosa e la pectina, nonché l'amido resistente e gli oligosaccaridi di legumi, cipolle e aglio (Kasper & Burghardt, 2014).

L'apporto di fibre raccomandato dai LARN è di 8,4 g / 1000 Kcal per i bambini e di 12,6-16,7 g / 1000 Kcal per gli adulti.

L'assunzione effettiva dal secolo scorso è in continua diminuzione nei paesi industrializzati occidentali e in Italia in media è di 7,6g / 1000 Kcal per i bambini da 1-6 anni, di 7,3g / 1000 Kcal per i bambini di 7-10 anni e di 8,7g / 1000 Kcal per le donne adulte (18 – 59 anni) (Società Italiana di Nutrizione Umana, 2014a).

La fibra alimentare è un componente importante di una dieta sana. Ha effetti sia preventivi che terapeutici su molti disturbi del colon e altre malattie, tra cui le malattie cardiovascolari, il diabete di tipo II e l'obesità.

Molti dei benefici per la salute attribuiti alla fibra alimentare sono una conseguenza della sua fermentazione da parte del microbiota e dei metaboliti che produce.

La fibra alimentare viene fermentata in acidi organici che forniscono energia ad altri batteri, all'epitelio intestinale e ai tessuti periferici.

Gli acidi grassi a catena corta (SCFA = short-chain fatty acids), in particolare l'acido acetico, l'acido propionico e l'acido butirrico (che insieme costituiscono il 90% della quantità totale di SCFA), sono i più importanti prodotti finali della fermentazione dei carboidrati.

Essi abbassano il pH nel colon, inibendo la crescita e l'attività dei batteri patogeni (Conlon & Bird, 2014).

Il butirrato serve come principale fonte di energia metabolica per i colonociti (propionato solo in piccola quantità), contribuisce in modo significativo al mantenimento dell'integrità della mucosa e contrasta l'infiammazione intestinale.

La capacità del butirrato di regolare la differenziazione e l'apoptosi dei colonociti e di promuovere la rimozione delle cellule disfunzionali è un fattore determinante per la sua capacità di protezione contro il cancro al colon, per il quale la dieta è riconosciuta come un fattore chiave di modificazione del rischio (Fung, Cosgrove, Lockett, Head, & Topping, 2012).

La maggior parte dell'acetato assorbito raggiunge il fegato attraverso la vena porta.

L'acetato e in parte anche il propionato sono poi utilizzati dal fegato per la lipogenesi e la gluconeogenesi.

Gli acidi grassi a catena corta svolgono un ruolo anche al di là dell'intestino e possono ridurre il rischio di malattie e disturbi del sistema metabolico e immunitario come l'osteoartrite, l'obesità, il diabete di tipo II e le malattie cardiovascolari (Conlon & Bird, 2014).

3.5.2. Proteine

Gli elementi costitutivi delle proteine sono gli amminoacidi. Le diverse proteine sono caratterizzate da un diverso ordine (sequenza) degli amminoacidi.

La combinazione di più di 100 amminoacidi è chiamata proteina, di 10 - 100 amminoacidi un polipeptide e di 2 - 9 amminoacidi un oligopeptide.

La sintesi proteica (che avviene all'interno del nostro corpo) è determinata dall'apporto di amminoacidi essenziali, cioè quelli che il nostro corpo non è in grado di produrre.

Dei 20 aminoacidi che compongono le strutture dell'organismo, nove sono essenziali e devono quindi essere forniti dal cibo (Kasper & Burghardt, 2014).

Secondo i LARN, l'apporto di proteine raccomandato per gli adulti tra i 18 e i 59 anni è di 0,9 g / kg di peso corporeo.

Con l'aumentare dell'età e in presenza di certe malattie, il fabbisogno proteico aumenta. (Società Italiana di Nutrizione Umana, 2014a)

Anche le proteine alimentari hanno un'influenza significativa sulla salute intestinale. A seconda del tipo di proteina e delle altre sostanze nutritive contenute nell'alimento, questa influenza può essere positiva o negativa.

Uno studio di coorte di Chao et al. (2005) con più di 145.000 partecipanti ha indicato una piccola ma significativa associazione tra il consumo di elevate quantità di carne rossa e lavorata, e un aumento del rischio di cancro al colon-retto.

Il fatto che le proteine possano danneggiare il tessuto coloretale può essere spiegato in base alle conoscenze attuali.

Un aumento dell'apporto di proteine porta di solito a un maggior numero di macronutrienti e quindi un maggior substrato fermentabile che viene trasportato nel colon.

Le proteine alimentari sono importanti per il microbiota intestinale, in quanto servono come principale fonte di azoto per la crescita dei microorganismi presenti nel colon e sono essenziali per la loro assimilazione di carboidrati e la produzione di sostanze benefiche come gli SCFA.

Pertanto, una combinazione di proteine e carboidrati nell'intestino crasso può contribuire alla salute intestinale.

Nonostante questo, a differenza dei carboidrati, la fermentazione delle fonti proteiche da parte del microbiota produce una varietà molto maggiore di gas e metaboliti.

Quando il bolo alimentare passa attraverso l'intestino, il suo contenuto di carboidrati diminuisce e la fermentazione delle proteine diventa sempre più importante.

Molti dei prodotti finali della fermentazione delle proteine, tra cui l'ammoniaca, l'acido solfidrico, le ammine e i fenoli, hanno dimostrato di essere citotossine, genotossine e agenti cancerogeni in vitro e modelli animali.

In uno studio di Toden, Bird, Topping e Conlon (2005), i ratti sono stati alimentati con una dieta contenente il 15% o 25% di caseina, con o senza amido ad alto contenuto di amilosio.

Dopo quattro settimane, i tessuti e il contenuto intestinale sono stati rimossi, tra l'altro per misurare i danni al DNA.

Si è visto che un'elevata assunzione di caseina, in assenza di amido, ha aumentato significativamente il danno al DNA dei colonociti rispetto ad una dieta a basso contenuto di caseina. Ciò sottolinea l'importanza della combinazione di carboidrati e proteine.

Studi recenti indicano che questi risultati sono validi anche per gli esseri umani: in uno studio di Russell et al. (2011), 17 uomini obesi sono stati sottoposti per quattro settimane o a una dieta ad alto contenuto di proteine e moderata in carboidrati o a una dieta ad alto contenuto di proteine e a basso contenuto di carboidrati.

I campioni di feci sono stati analizzati per determinare le concentrazioni di metaboliti fenolici, acidi grassi a catena corta e composti azotati di origine alimentare e microbica.

Le diete ad alto contenuto proteico hanno portato ad una significativa diminuzione dei metaboliti fecali che proteggono dal cancro e ad un aumento delle concentrazioni di metaboliti dannosi.

L'adesione a lungo termine a tali diete potrebbe quindi aumentare il rischio di malattie del colon.

3.5.3. Lipidi

Con 9 Kcal / g, i grassi sono la riserva di energia più importante del corpo umano.

Hanno inoltre funzioni importanti come componenti delle membrane cellulari e come sostanze di partenza per la sintesi degli eicosanoidi e di altre sostanze biologicamente attive (Kasper & Burghardt, 2014).

L'apporto giornaliero raccomandato secondo i LARN per gli adulti è compreso tra il 20-35% dell'apporto energetico totale (i 35% sono coerenti con diete in cui l'apporto di carboidrati sia vicino al limite inferiore del corrispondente intervallo di riferimento, negli altri casi si raccomanda di mantenere valori $\leq 30\%$).

L'assunzione di acidi grassi saturi non deve superare il 10%.

Per quanto riguarda gli acidi grassi polinsaturi, la quantità raccomandata è del 5 - 10%, suddiviso in 4 - 8% per quanto riguarda gli acidi grassi omega-6 e 0,5 - 2% per gli acidi grassi omega-3.

L'apporto di acidi grassi trans deve essere mantenuto il più basso possibile e l'apporto di colesterolo non deve superare i 300mg / giorno (Società Italiana di Nutrizione Umana, 2014a).

Il grasso nella dieta influenza anch'esso la composizione e l'attività metabolica dei microorganismi del microbiota intestinale.

L'influenza del grasso alimentare sul microbiota intestinale può essere indirettamente mediata dagli acidi biliari.

La produzione epatica e il rilascio di acidi biliari dalla cistifellea nell'intestino tenue aumentano con l'aumento dell'assunzione di grassi.

Inoltre, questo aumento del rilascio di acido biliare aumenta anche la quantità di acido biliare che non viene più trasportato indietro al fegato con il circolo enteroepatico.

Gli acidi biliari secondari prodotti dalla deidrossilazione degli acidi biliari primari da parte del microbiota del colon sono potenzialmente cancerogeni e sono stati inclusi nell'eziologia del carcinoma coloretale (Conlon & Bird, 2014).

Al fine di indagare il rapporto tra il contenuto di grassi nella dieta e la produzione di acido biliare secondario da parte del microbiota intestinale, sono stati effettuati diversi studi.

Uno studio di Ou, DeLany, Zhang, Sharma e O'Keefe (2012) ha confrontato il contenuto del colon di 12 afroamericani adulti ad alto rischio (AA) e 10 americani caucasici (CA) che seguivano diete ad alto contenuto di grassi con 13 africani nativi (NA) che seguivano diete a basso contenuto di grassi.

I principali acidi biliari secondari del colon (acido desossicolico e acido litocolico) sono correlati con l'assunzione di grassi e risultavano simili tra AAs e CAs.

In confronto alle NAs, però, la concentrazione degli acidi biliari secondari nelle AAs e CAs era 3-4 volte superiore.

Inoltre, i principali SCFA erano significativamente più bassi in AAs e CAs rispetto ai NAs. Al contrario, gli acidi grassi a catena ramificata (BCFA), che vengono prodotti durante la fermentazione delle proteine da parte del microbiota, erano più alti nelle AAs e CAs che nelle NAs.

Questi risultati suggeriscono che il rischio più elevato di cancro colorettale tra gli americani può essere in parte spiegato dalla loro dieta ad alto contenuto di grassi e proteine con una bassa assunzione di carboidrati complessi. Inoltre, si può supporre che questa dieta porta ad una maggiore produzione di acidi biliari secondari potenzialmente cancerogeni e a una minore produzione di SCFA antineoplastici da parte del microbiota intestinale.

Il ruolo degli BCFA nella carcinogenesi del colon necessita di ulteriori studi.

Inoltre, le diete ad alto contenuto di grassi negli esseri umani inducono un aumento delle concentrazioni circolanti di LPS (lipopolisaccaride).

LPS è un componente della parete cellulare dei batteri Gram-negativi. Quando i batteri muoiono, l'LPS - noto anche come endotossina - viene rilasciato dalla parete cellulare.

Si presume che l'aumento della concentrazione nella circolazione sistemica sia causato da una maggiore permeabilità intestinale.

LPS è un modulatore del sistema immunitario e un potente fattore infiammatorio che è associato allo sviluppo di diverse malattie metaboliche (Conlon & Bird, 2014).

3.5.4. Cambiamento del microbiota a seguito di un certo regime alimentare

In generale, c'è una crescente preoccupazione che i cambiamenti dello stile di vita attuale, in particolare l'adesione alla Dieta occidentale, che è associata ad un elevato consumo di grassi e zuccheri, stanno cambiando la composizione dei geni e il metabolismo del nostro microbiota.

Si ritiene che queste modulazioni siano associate ad un aumento delle malattie croniche, tra cui il diabete e le IBD (malattie infiammatorie croniche intestinali) (David et al., 2014).

Al fine di comprendere meglio gli effetti dell'assunzione di alcuni alimenti e nutrienti o dell'attuazione di un certo regime dietetico sul microbiota intestinale, sono stati condotti diversi studi, sia nei topi che nell'uomo, alcuni dei quali sono citati in questo capitolo.

Uno studio di Turnbaugh et al. (2009) su modelli murini *germ-free* (GF) nei quali un microbiota umano è stato simulato da un trapianto di microbiota fecale, mostra che i cambiamenti nella dieta possono cambiare il microbiota intestinale in breve tempo.

Ad esempio, il passaggio da una dieta a basso contenuto di grassi, prevalentemente vegetale, a una "dieta occidentale", caratterizzata da un elevato contenuto di zuccheri e grassi, ha mostrato un cambiamento nel microbiota, nel metabolismo e nell'espressione genica del microbiota (il cosiddetto microbioma) in un giorno.

Inoltre, un aumento del rischio di obesità è stato trovato nei topi alimentati con la dieta occidentale. Questa caratteristica è trasferibile anche tramite il trapianto fecale.

In uno studio di David et al. (2014) che indagava gli effetti del consumo di certi alimenti sull'uomo, il consumo di alimenti prevalentemente vegetali, tra cui cereali, legumi, frutta e verdura, è stato confrontato con una dieta che comprendeva principalmente alimenti di origine animale.

Quest'ultima era caratterizzata da un elevato consumo di carne, uova e formaggio.

In questo studio, le due diete sono state seguite in cinque giorni consecutivi da sei uomini e quattro donne ciascuna. I partecipanti avevano un'età compresa tra i 21 e i 33 anni e un IMC (indice di massa corporea / Body-Mass-Index = BMI) tra 19 e 32 kg/m².

Durante l'anamnesi si è riscontrato che l'apporto di grassi è aumentato da circa il 32,5% al 69,5% dell'apporto energetico totale nella dieta prevalentemente animale. Anche l'apporto di proteine è aumentato da circa il 16,2% al 30,1%. L'assunzione di fibre alimentari invece, è scesa quasi a zero.

Con la dieta prevalentemente vegetale, l'assunzione di fibre alimentari è aumentata a circa 25,6g / 1000Kcal, mentre l'assunzione di grassi (22,1%) e proteine (10%) è diminuita.

Nel grafico sottostante sono riportati schematicamente i risultati relativi all'assunzione di nutrienti.

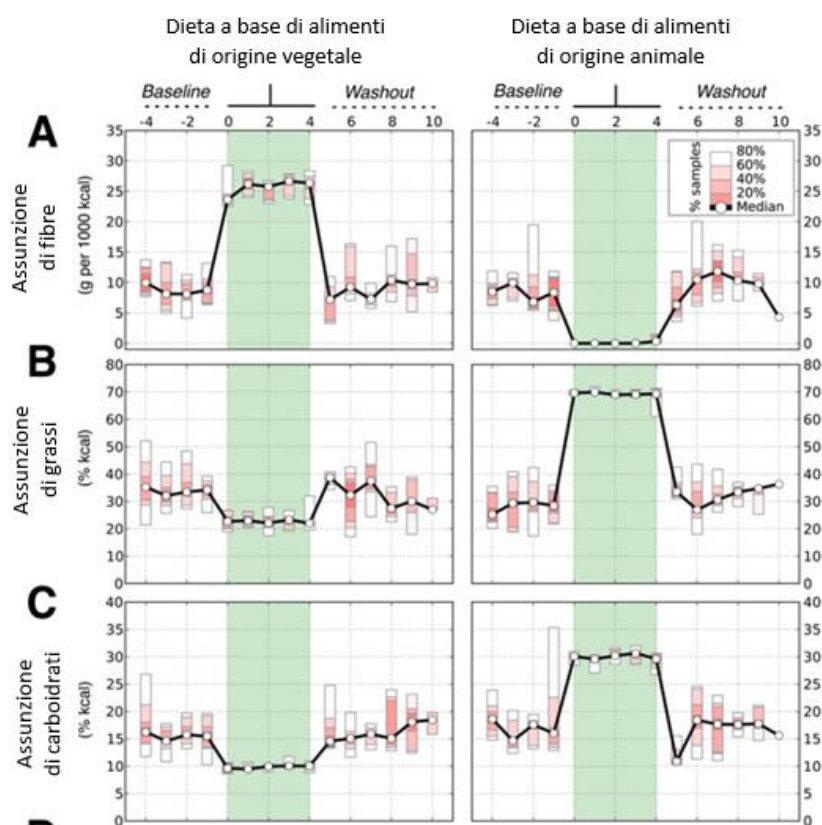


Figura 9: Cambiamenti nell'assunzione di nutrienti (David et al., 2014, p. 18, solo una parte dell'immagine originale).

Come confronto: i LARN della Società Italiana di Nutrizione Umana (2014a) raccomandano per gli adulti un apporto di grassi compreso tra il 20-35% dell'apporto totale di energia e un apporto di fibre tra 12,6-16,7 g / 1000 kcal.

Dall'analisi della composizione del microbiota a *base-line*, cioè prima dell'intervento nutrizionale, è emerso che un aumento del consumo di fibre alimentari negli anni precedenti ha portato ad un aumento della concentrazione di *Prevotella*.

Esaminando la composizione del microbiota durante e dopo l'intervento nutrizionale, si è visto che la dieta prevalentemente animale ha avuto una maggiore influenza sul microbiota intestinale.

In essa è stato osservato che soprattutto la concentrazione di *Bilophila wadsworthia* (Proteobacteria), *Alistipes putredinis* (Bacteroidetes) e *Bacteroides* (Bacteroidetes) è aumentata.

Questi tre ceppi condividono la resistenza alla bile e la loro maggiore concentrazione può essere spiegata da una maggiore secrezione di acido biliare in una dieta ad alto contenuto di grassi.

Cambiandosi la composizione del microbiota intestinale a seguito dell'intervento dietetico, anche l'attività metabolica dei microrganismi è cambiata.

Si presume che ciò sia attribuibile allo spostamento dei macronutrienti.

Una quantità inferiore di prodotti derivanti dalla fermentazione dei carboidrati, tra cui l'acetato e il butirrato, è stata trovata nella dieta a base di alimenti di origine animale (animal-based) rispetto a quella a base di alimenti vegetali (plant-based).

Nella dieta a base di alimenti di origine vegetale, invece, sono state riscontrate quantità inferiori di prodotti derivanti dalla fermentazione degli aminoacidi, tra cui l'isovalerato e l'isobutirrato, che appartengono al gruppo degli acidi grassi a catena ramificata (David et al., 2014).

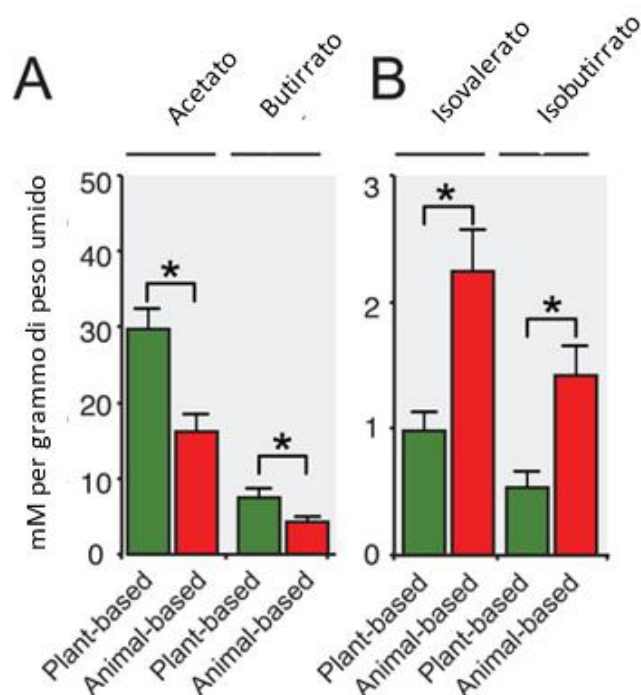


Figura 10: Prodotti derivanti dalla fermentazione dei carboidrati e degli aminoacidi (David et al., 2014, p. 21, solo una parte dell'immagine originale).

Oltre a questi cambiamenti nel microbiota durante gli interventi dietetici per un breve periodo di tempo, alcuni studi sull'uomo hanno dimostrato chiare associazioni tra specifiche abitudini alimentari per un lungo periodo di tempo e la composizione e funzionalità del microbiota intestinale.

In uno studio di De Filippo et al. (2010) si è visto che il microbiota intestinale dei bambini delle zone rurali del Burkina Faso, la cui dieta è caratterizzata da un elevato contenuto di polisaccaridi, si differenzia dal microbiota dei bambini europei.

Il microbiota dei bambini del Burkina Faso, a differenza del microbiota dei bambini europei, contiene specifici batteri deputati alla degradazione dei polisaccaridi.

Guardando ora le differenze nella concentrazione dei singoli batteri del microbiota intestinale, è stato osservato che i bambini del Burkina Faso (BF) mostrano una concentrazione significativamente aumentata di Bacteroidetes e una riduzione dei Firmicutes.

Inoltre, nei bambini del BF è stata trovata una concentrazione particolarmente elevata di batteri del genere *Prevotella* (Bacteroidetes) e *Xylanibacter* (Bacteroidetes), che sono noti per contenere una serie di geni batterici per l'idrolisi della cellulosa e dello xilano.

Gli scienziati hanno in più osservato un numero significativamente maggiore di acidi grassi a catena corta nei bambini del Burkina Faso rispetto ai bambini dell'UE.

Le Enterobacteriaceae (*Shigella* ed *Escherichia*), che appartengono al phylum dei Proteobacteria, sono risultate significativamente ridotte nei soggetti del BF rispetto ai bambini dell'UE.

I ricercatori, dati questi risultati, hanno ipotizzato che il microbiota intestinale si è adattato alla dieta ricca di polisaccaridi delle persone del BF nel corso dell'evoluzione. Questo adattamento ha aumentato l'apporto di energia dalle fibre e allo stesso tempo ha garantito la protezione contro le infiammazioni e le malattie intestinali non infettive.

Il grafico sottostante riporta le differenze nella composizione del microbiota nei bambini del Burkina Faso (A) e dell'UE (B).

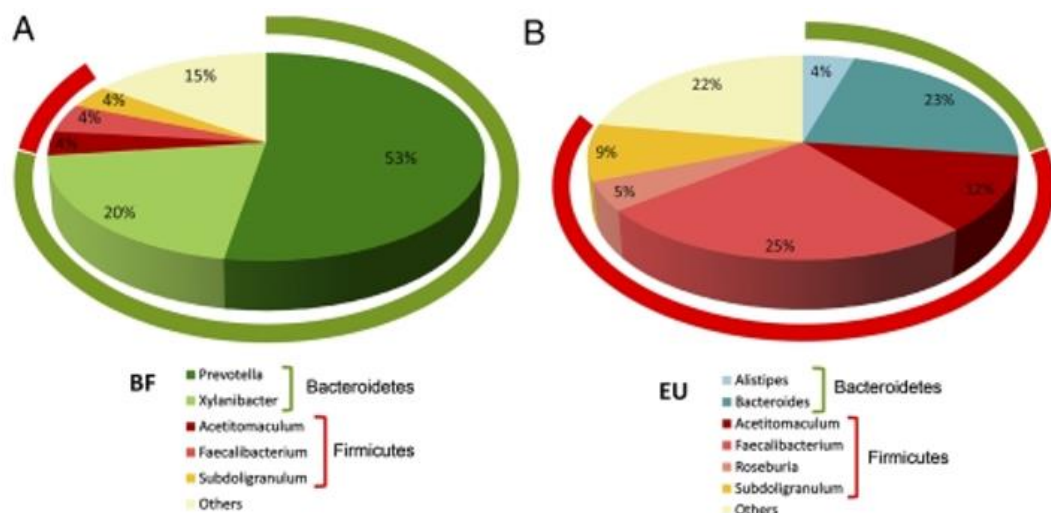


Figura 11: Differenze nella composizione del microbiota nei bambini del Burkina Faso e dell'UE (De Filippo e al., 2010, p. 14693).

In uno studio di Zimmer et al. (2011) si è visto che, il microbiota intestinale dei vegetariani e dei vegani differisce significativamente dal microbiota degli individui onnivori.

I conteggi totali di *Bacteroides spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Escherichia coli* ed *Enterobacteriaceae spp.* erano significativamente più bassi nei campioni vegani che nei controlli.

I soggetti che seguono una dieta vegetariana si sono classificati tra i vegani e i controlli.

Anche se ci sono differenze nella composizione, la conta microbica totale non differisce da un gruppo all'altro.

Inoltre, i soggetti che seguono una dieta vegana o vegetariana hanno mostrato un pH delle feci significativamente più basso rispetto ai controlli.

Data la composizione alterata del microbiota intestinale, si può supporre che anche la funzione metabolica sia alterata.

Effettivamente, in uno studio di Koeth et al. (2013), si è visto che il microbiota dei vegetariani e dei vegani era associato ad una ridotta capacità di produrre trimetilammina (TMA) dopo la somministrazione orale di L-carnitina (che in natura troviamo s.t. nella carne rossa).

Poiché la TMA prodotta microbiologicamente viene metabolizzata nel fegato in trimetilammina N-ossido (TMAO), un fattore di rischio per l'aterosclerosi, si può supporre che l'adattamento del microbiota intestinale alla dieta vegetariana o vegana abbia un effetto protettivo sui vasi sanguigni.

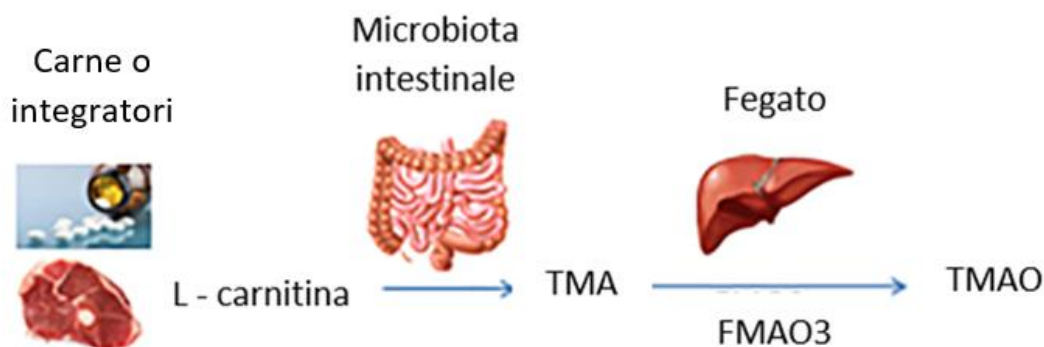


Figura 12: Conversione di L-Carnitina in TMAO (Vallance et al., 2018, p. 131).

In uno studio di De Filippis et al (2016), gli scienziati hanno osservato che i metaboliti rilasciati dal microbiota, seguendo la dieta mediterranea sono paragonabili a quelli rilasciati seguendo una dieta prevalentemente vegetale. La dieta mediterranea è caratterizzata da un elevato consumo di verdure e da un basso apporto di carne, ed è stata associata ad un aumento dei livelli di acidi grassi a catena corta e della concentrazione di Prevotella nelle feci, e ad una riduzione dei livelli di TMAO nell'urina.

I risultati di questi studi dimostrano che la dieta ha un'influenza significativa sul microbiota intestinale.

L'effetto specifico di un intervento nutrizionale dipende sia dal singolo fattore nutrizionale che dallo specifico microbiota presente ed è quindi difficile da prevedere.

Per questo motivo, sono necessari ulteriori studi per poter modificare in modo specifico la composizione del microbiota attraverso un intervento dietetico (Hörmannspurger et al.,2016).

3.6. Antibiotici

Gli antibiotici sono utilizzati per il trattamento profilattico e curativo di una vasta gamma di infezioni batteriche potenzialmente letali, salvando molte vite umane.

Negli ultimi anni, gli studi sul microbiota hanno dimostrato che l'uso eccessivo, l'uso prolungato e l'applicazione non corretta possono portare a conseguenze impreviste e indesiderate.

Queste conseguenze includono la resistenza agli antibiotici, un aumento della concentrazione di batteri patogeni nell'intestino, la perdita temporanea o prolungata della diversità tassonomica, l'aumento e la prolungata suscettibilità alle infezioni e un aumentato rischio di infezioni ricorrenti (Kim, Covington, & Pamer, 2017).

Queste infezioni ricorrenti possono essere spiegate, tra l'altro, dal fatto che una delle principali caratteristiche del microbiota intestinale sano è l'esclusione competitiva degli agenti patogeni.

Già quarant'anni fa era possibile dimostrare che gli antibiotici possono portare a un'interruzione di questi meccanismi di esclusione, poiché già allora si osservava che le infezioni da *Salmonella* si verificavano con maggiore frequenza subito dopo la somministrazione di antibiotici (Jandhyala et al., 2015).

Per quanto riguarda la riduzione della diversità tassonomica, uno studio di Jernberg, Löfmark, Edlund, & Jansson (2007), ha osservato che questa si può trovare già in caso di applicazione a breve durata (per sette giorni) di un antibiotico ad ampio spettro, per esempio della Clindamicina.

Lo studio ha inoltre esaminato lo sviluppo dei microbioti intestinali a lungo termine e si è visto che questi cambiamenti sono durati fino a due anni, con le specie della classe *Bacteroides* che non regredivano permanentemente.

Per studiare la relazione tra l'uso di antibiotici durante la gravidanza e il rischio di DSA nel bambino, Hamad, Alessi-Severini, Mahmud, Brownell e Kuo (2019) hanno condotto uno studio di coorte con 214.834 partecipanti.

Di questi, 80.750 (37,6%) sono stati trattati prenatalmente con antibiotici.

All'esame di follow-up sono stati diagnosticati 2965 bambini con DSA.

I risultati di questo ampio studio di coorte hanno mostrato un aumento del 10% del rischio di DSA nei bambini esposti prenatalmente agli antibiotici rispetto a quelli non esposti.

Tuttavia, questo aumento non è clinicamente significativo e l'apparente aumento del rischio può anche essere stato influenzato da fattori non misurati.

Anche un altro studio ha indagato su questa possibile connessione:

Uno studio di coorte condotto da Atladóttir, Henriksen, Schendel e Parner (2012) ha esaminato 96.736 bambini di età compresa tra gli 8 e i 14 anni.

In 976 di essi era stato diagnosticato un DSA.

Oltre alla somministrazione di antibiotici, lo studio ha incluso anche infezioni ed episodi di febbre della madre durante la gravidanza.

I ricercatori hanno osservato un leggero aumento del rischio di DSA dopo l'assunzione di antibiotici durante la gravidanza.

Tuttavia, non è chiaro se questo aumento sia dovuto alla somministrazione di antibiotici o se anche altri fattori come l'infezione stessa, la gravità di essa o una risposta immunitaria materna abbiano avuto un ruolo.

Inoltre, non si può escludere che si tratti di un possibile esito accidentale.

Data la mancanza di prove di un legame tra l'uso di antibiotici in gravidanza e il rischio di DSA nei bambini, sono necessari ulteriori studi.

Anche nella ricerca sulla relazione tra la terapia antibiotica nell'infanzia e l'aumento del rischio di DSA si registrano risultati contraddittori.

In uno studio di coorte di Hamad, Alessi-Severini, Mahmud, Brownell e Kuo (2018) con 214.834 soggetti, è stato affermato che 94.024 di questi bambini hanno assunto un antibiotico nel primo anno di vita.

Durante il follow-up, a 2965 bambini è stato diagnosticato un DSA.

Rispetto ai bambini che non hanno usato antibiotici nel primo anno di vita, quelli che hanno ricevuto antibiotici avevano un rischio ridotto di DSA.

Tuttavia, i ricercatori affermano che questi risultati non sono clinicamente rilevanti e che eventuali fattori non osservati potrebbero averne alterato i risultati.

In uno studio di Wimberley et al. (2018) condotto su 780.547 bambini, tra cui 9352 con autismo, il rischio di autismo è aumentato dopo l'esposizione ad antibiotici ad ampio spettro prima dei 5 anni.

Tuttavia, i ricercatori nella conclusione affermano che i loro risultati potrebbero essere stati influenzati da fattori non osservati.

Dati questi risultati contrastanti, non è possibile, in questo momento, dare una risposta chiara sul fatto che l'esposizione agli antibiotici nei primi anni di vita influenzi o meno il rischio di DSA.

3.7. Prebiotici, Probiotici e Simbiotici

3.7.1. Prebiotici

“Un prebiotico è una sostanza non digeribile di origine alimentare che ha un effetto positivo sulla salute, attraverso la stimolazione della crescita e/o dell'attività metabolica di alcuni microrganismi intestinali specifici” (Kasper & Burghardt, 2014, p. 136).

Le fibre alimentari, soprattutto quelle solubili, fungono da substrato per il microbiota.

Tuttavia, essi favoriscono la crescita di diversi gruppi di batteri, e non solo di quelli che hanno un effetto benefico sulla salute: secondo lo stato attuale delle conoscenze, solo la riproduzione di *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* è auspicabile.

Questo criterio è soddisfatto solo dai fruttoligosaccaridi (FOS), ma si discute anche dell'effetto dei galattoligosaccaridi e degli oligosaccaridi contenuti nella soia.

I fruttoligosaccaridi si dividono in oligofruttosio e inulina, e questi due si trovano principalmente nei seguenti alimenti: topinambur e cicoria, così come nell'aglio e nella cipolla.

Inoltre, anche il lattulosio prodotto sinteticamente viene fermentato selettivamente dai *Bifidobacterium spp.* (Kasper & Burghardt, 2014).

I benefici per la salute dei prebiotici includono: una migliore integrità e funzione della barriera intestinale, un miglioramento dell'immunità della mucosa, una maggiore produzione di SCFA e la conseguente inibizione della crescita e dell'attività dei batteri patogeni (Joint Research Centre, 2018).

3.7.2. Probiotici

“I probiotici sono microrganismi viventi definiti che dopo la somministrazione orale hanno la capacità di promuovere la salute dell'organismo umano” (Kasper & Burghardt, 2014, p. 130).

C'è un numero crescente di scoperte scientifiche che confermano gli effetti profilattici e terapeutici di *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.*

Il prerequisito fondamentale per un effetto positivo è che raggiungano il colon. Ciò significa che i probiotici devono passare attraverso lo stomaco (ambiente acido e presenza della pepsina) e l'intestino tenue (sali biliari ed enzimi pancreatici).

Tra le specie probiotiche di *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, che vengono utilizzate per produrre alimenti fermentati come yogurt, latticello o kefir, vi sono tra gli altri: *L. casei*, *L. rhamnosus* e *L. reuteri*, e *B. adolescentis* e *B. bifidum*.

I probiotici inibiscono la colonizzazione dell'intestino da parte di batteri patogeni, ottimizzano la funzione di barriera della mucosa intestinale e regolano e rafforzano la barriera immunologica dell'epitelio intestinale.

Lo stato attuale di conoscenza suggerisce che le infezioni intestinali causate da virus, batteri e funghi possono essere prevenute o trattate attraverso il consumo di cibo fermentato.

Inoltre, le specie probiotiche appartenenti al genere *Lactobacillus*, sembrano avere un effetto protettivo in relazione al carcinoma coloretale, migliorando l'immunità cellulare e riducendo la produzione di sostanze cancerogene a livello dell'intestino.

I latticini fermentati, trattati termicamente, hanno effetti meno evidenti.

Tuttavia, va detto che sembra che i probiotici *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* non colonizzino l'intestino in modo permanente.

Ciò significa che l'interruzione della somministrazione orale porta a una diminuzione della concentrazione dei batteri introdotti (Kasper & Burghardt, 2014).

3.7.3. Simbiotici

“Le combinazioni sinergiche di pro- e prebiotici sono chiamate simbiotici.

Il termine è riservato in particolare ai prodotti in cui il composto o i composti prebiotici favoriscono selettivamente l'organismo o gli organismi probiotici” (Joint Research Centre, 2018, p. 18).

4. L'asse intestino-microbiota-cervello

Sebbene i microrganismi dell'intestino siano principalmente responsabili della digestione degli alimenti assunti, sia loro stessi che i prodotti metabolici da essi rilasciati hanno un'influenza significativa sullo sviluppo e sulla funzione del cervello (Frahm & Witte, 2019).

Quigley (2017) per questo motivo usa il termine di "little brain", cioè "piccolo cervello", quando parla del sistema nervoso enterico (SNE).

Il concetto dell'asse intestino-cervello è noto da tempo ed è stato ampliato nell'ultimo decennio includendo il fattore microbiota (asse intestino-microbiota-cervello).

I risultati di diversi studi suggeriscono che i microrganismi nell'intestino, soprattutto i batteri, comunicano con il "big brain", cioè il "grande cervello".

Un'interessante scoperta fatta durante un'emergenza sanitaria pubblica nel 2000 ha attirato l'attenzione su una possibile relazione tra il microbiota intestinale e il cervello.

Nella città di Walkerton, in Canada, si è verificata un'inondazione che ha contaminato l'acqua potabile con *Escherichia coli* e *Campylobacter jejuni*.

In uno studio di Marshall et al. (2010), che indagava sugli effetti di questa contaminazione sulla salute dei cittadini, 2451 dei 4561 soggetti infetti sono stati rivalutati otto anni dopo.

A 1166 di loro è stata diagnosticata la sindrome dell'intestino irritabile (IBS = Irritable bowel syndrome).

È interessante notare che l'ansia e la depressione sono risultati essere fattori di rischio indipendenti per una persistente sindrome dell'intestino irritabile in questi pazienti.

Al fine di comprendere meglio l'influenza del microbiota intestinale sul comportamento e sulle funzioni cerebrali, gli scienziati hanno iniziato ad effettuare studi su topi.

In uno studio di Erny et al. (2015), i topi GF (germ-free), nati e cresciuti in un ambiente speciale anche esso privo di germi, mostrano carenze nella popolazione delle cellule della microglia e deficit nel loro stato di maturità, combinati con una ridotta funzione immunitaria.

Questa ridotta immunità è dovuta alla mancanza di funzionalità della microglia, visto che le cellule microglia sono delle cellule altamente specializzate che effettuano sia l'eliminazione di neuroni morti che di virus, batteri, o altri materiali estranei, tramite un processo chiamato fagocitosi. (Fagocitosi: il cervello ha bisogno di fare pulizia per rimanere in buona salute, 2016)

Inoltre, uno studio condotto da Bravo et al. (2011) ha indagato se la somministrazione di probiotici come il *Lactobacillus rhamnosus* possono avere un effetto diretto sui recettori dei neurotrasmettitori nel SNC in animali sani.

I risultati hanno mostrato che la somministrazione di *L. rhamnosus* ha ridotto il corticosterone indotto da stress e il comportamento ansioso e depressivo.

Il fatto che gli effetti neurochimici e comportamentali non sono stati trovati nei topi vagotomizzati, identifica il nervo vago come un'importante via di comunicazione tra il microbiota intestinale e il cervello.

Questi risultati forniscono importanti informazioni sulla comunicazione bidirezionale dell'asse intestino-microbiota-cervello e suggeriscono che la somministrazione di alcuni organismi potrebbe rappresentare un'opzione terapeutica per i disturbi legati allo stress, come l'ansia e la depressione.

Riassumendo questi risultati si può presumere, che non solo l'assenza di microrganismi ha un effetto dannoso sul cervello, ma anche la disbiosi intestinale.

Poiché i risultati degli studi sopra citati e di altri studi suggeriscono che i cambiamenti nel microbiota intestinale possono influenzare il comportamento, i ricercatori hanno indagato in quale fase della vita questa influenza è particolarmente importante.

Nel 2011, uno studio di Diaz Heijtz et al. ha dimostrato che i topi GF hanno osservato un comportamento meno ansioso e un aumento della sintesi di 5-HT (= 5-idrossitriptamina = serotonina) nel talamo rispetto ai topi convenzionali, allevati in un ambiente specifico privo di agenti patogeni (SPF = Specific-pathogen-free).

Anche dopo che i topi adulti GF sono stati trasferiti nell'ambiente SPF, il loro ridotto comportamento ansioso non è aumentato.

Nella loro prole, invece, la situazione era diversa, in quanto il comportamento ansioso in essi è tornato alla normalità.

Ciò indica che esiste una finestra temporale critica per l'influenza del microbiota intestinale sullo sviluppo comportamentale.

All'inizio di questo capitolo è già stato introdotto il concetto del "little brain".

Nel SNE ci sono tra i 200 e i 600 milioni di neuroni, che è all'incirca lo stesso numero di neuroni nel midollo spinale, il che fa capire la sua grande dimensione.

La dimensione e la complessità del SNE non sorprendono, considerata la sua importanza.

Il SNE si interfaccia strettamente con:

- la nostra più grande superficie corporea, cioè la superficie intestinale, che è circa 100 volte più grande della superficie della pelle
- la più grande popolazione di microrganismi commensali di tutte le superfici corporee
- il sistema immunitario associato all'intestino (il sistema immunitario mucosale), che contiene due terzi delle cellule immunitarie del corpo, e con
- migliaia di cellule entero-endocrine, che contengono più di 20 ormoni identificati (Mayer, 2011).

La comunicazione tra il microbiota e l'intestino con il SNC avviene principalmente attraverso vie di segnalazione neuroimmuni e neuroendocrine, spesso con il coinvolgimento del nervo vago, come è stato osservato, tra gli altri, nello studio di Bravo et al. (2011) sopra citato.

Questa comunicazione è mediata da diverse molecole prodotte dal microbiota. Tra queste troviamo gli acidi grassi a catena corta (SCFAs), gli acidi biliari secondari (2°BA) e la 5-HT.

Queste molecole generano i loro segnali principalmente attraverso l'interazione con le cellule enteroendocrine (EEC), che comprendono le cellule enteroromaffiniche (ECC), e il sistema immunitario mucosale.

Alcune di loro attraversano la barriera intestinale, entrano nel flusso sanguigno e possono attraversare la barriera emato-encefalica.

Non è ancora del tutto chiaro se e quali di queste molecole entrano direttamente nel cervello o se inducono solo reazioni centrali attraverso afferenze vagali e/o spinali (Martin et al., 2018).

4.1. Vie di segnalazione neuroendocrina ed enteroendocrina

Un'importante via di segnalazione attraverso la quale il microbiota intestinale e i suoi metaboliti comunicano con il sistema nervoso centrale è fornita dalle cellule del sistema endocrino intestinale, che producono più di 20 ormoni.

Tali ormoni vengono rilasciati in risposta a stimoli chimici e/o meccanici.

Queste molecole possono entrare nella circolazione sistemica e raggiungere i centri del SNC che sono coinvolti nell'assunzione di cibo, compreso l'ipotalamo, che tra l'altro influenza lo sviluppo di sensazioni di fame e di sazietà.

Inoltre, queste molecole possono anche agire localmente e attivare terminali vagali afferenti nell'intestino o nel fegato per generare segnali cerebrali.

Gli SCFA, prodotti dalla fermentazione microbica di amido resistente e polisaccaridi non amilacei, sono importanti molecole di segnalazione nella comunicazione tra l'ospite e i microrganismi attraverso le EEC.

Svolgono un ruolo importante nella produzione di energia dell'ospite, stimolano inoltre il flusso sanguigno nel colon, l'assorbimento dei fluidi e degli elettroliti e la proliferazione delle mucose, e regolano il metabolismo del glucosio, la fame e la sazietà (Martin et al., 2018).

Uno studio randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, condotto da Cani et al. (2009), in cui dieci adulti sani sono stati assegnati casualmente a due gruppi, ha esaminato l'effetto dei prebiotici sulla sazietà.

Le persone del primo gruppo hanno ricevuto 16 g di prebiotici al giorno per 2 settimane, mentre quelle del secondo gruppo hanno ricevuto 16 g di maltodestrina.

L'integrazione prebiotica è stata associata ad un aumento delle concentrazioni plasmatiche di GLP-1 e peptide YY.

Questi due ormoni vengono rilasciati dopo il pasto e portano alla sazietà post-prandiale (De Silva & Bloom, 2012).

Inoltre, anche i partecipanti stessi hanno segnalato un aumento della sazietà (misurata con una VAS = scala analogica visiva) (Cani et al., 2009).

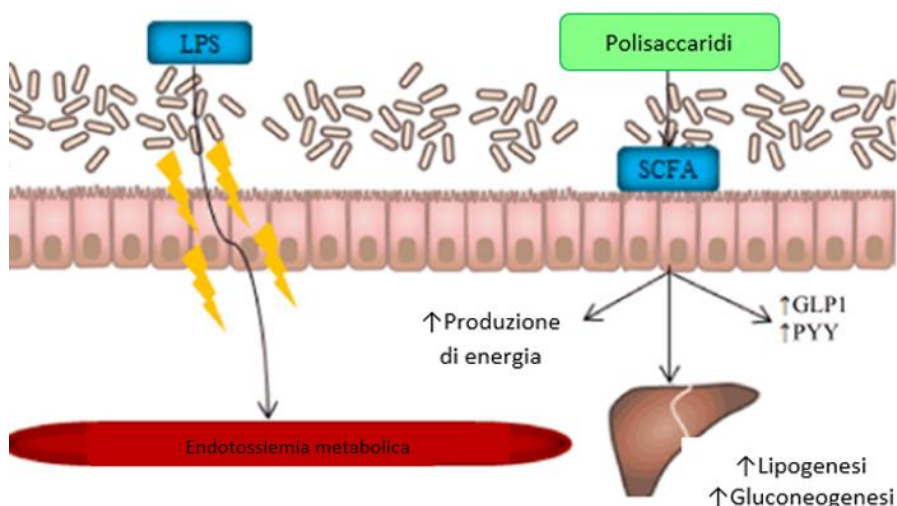


Figura 13: Trasmissione del segnale da parte del microbiota intestinale tramite SCFA e LPS (Kristensen & Pedersen, 2015, p. 2).

4.2. Cellule enterocromaffini (ECC)

Uno dei migliori esempi della connessione tra intestino, microbiota e cervello è l'interazione bidirezionale tra microbi, ECC e il sistema nervoso centrale.

Il 5-HT (= 5-idrossitriptamina = serotonina), che svolge un ruolo centrale nella regolazione della pressione sanguigna, della motilità e della secrezione GI, così come nella trasmissione degli stimoli nel SNC, viene prodotto e conservato dai ECC del tratto gastrointestinale (Martin et al., 2018).

Oltre alle funzioni sopra menzionate, la serotonina ha un'influenza sulle nostre emozioni. Ad esempio, il livello di serotonina si riduce nella depressione, motivo per cui la maggior parte degli antidepressivi moderni funziona aumentando la concentrazione di serotonina (Mawe & Hoffman, 2013).

La produzione e l'emissione di 5-HT da parte delle ECC è regolata da SCFAs e 2°BA formati da Clostridiales formanti spore.

L'amminoacido essenziale triptofano (Trp) è una molecola chiave nell'asse microbiota-cervello-intestino, visto che è il precursore del neurotrasmettitore 5-HT.

Gli ECC comunicano tramite connessioni sinaptiche con le fibre nervose afferenti e quindi con il sistema nervoso centrale.

Il sistema nervoso autonomo può a sua volta attivare le ECC per rilasciare 5-HT nel lume intestinale dove può interagire con i batteri del microbiota intestinale (Martin et al., 2018).

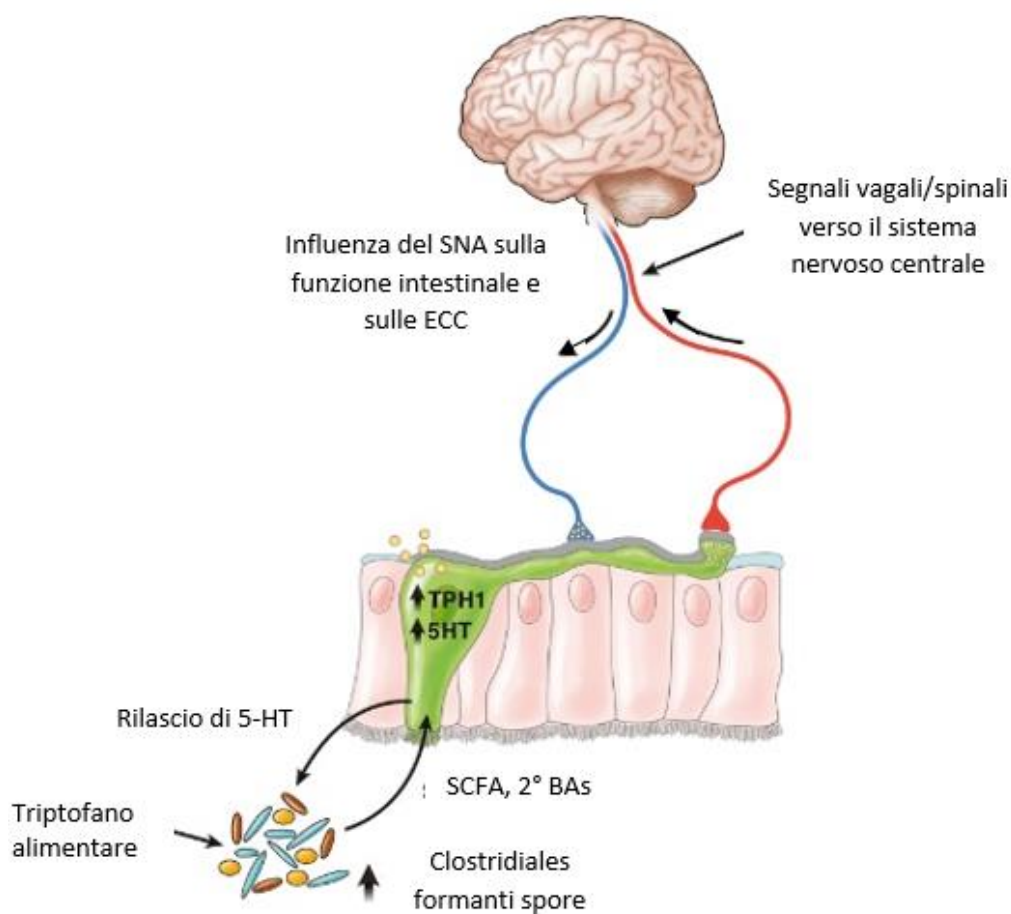


Figura 14: - Comunicazione tramite le cellule enterocromaffini (Martin et al., 2018, p. 136).

L'ECC è mostrata in verde nella figura.

TPH1, cioè il triptofano idrossilasi di tipo 1 è l'enzima che converte l'aminoacido L-triptofano in 5-idrossitriptofano (5-HTP). Questo processo è essenziale per la biosintesi della serotonina (5-HT).

4.3. Segnalazione neuroimmune

La comunicazione tra i batteri commensali dell'intestino con il sistema immunitario associato all'intestino e di conseguenza con il sistema nervoso centrale è molto ampia (Martin et al., 2018).

I mediatori di segnale del sistema immunitario - le citochine - possono segnalare dalla periferia attraverso il nervo vago al cervello, oppure possono raggiungere il cervello direttamente passando per la barriera emato-encefalica.

Come già descritto nel capitolo sui lipidi, i batteri Gram-negativi possono stimolare la produzione di citochine pro-infiammatorie come l'interleuchina (IL)-6 legando la componente lipopolisaccaride (LPS) delle loro pareti cellulari ai Toll-like receptor (TLR) espressi su monociti, macrofagi e microglia (Sherwin, Sandhu, Dinan, & Cryan, 2016).

Inoltre, è importante sottolineare ancora una volta che, come già citato in relazione allo studio di Erny et al. (2015), i microrganismi intestinali influenzano lo sviluppo e la funzione delle cellule immunitarie situate nel SNC, in particolare la microglia.

Nel caso di una disbiosi troviamo una maggiore permeabilità della barriera intestinale, che si manifesta con un trasporto non specifico di componenti alimentari, batteri e tossine, così come mediatori infiammatori, nel flusso sanguigno.

Questo processo può a sua volta influire negativamente sulla funzione di difesa della barriera emato-encefalica e la comunicazione tra l'intestino e il cervello può essere permanentemente compromessa in entrambe le direzioni (Frahm & Witte, 2019).

4.4. Segnali dal cervello all'intestino e al microbiota

Ci sono più di 40 anni di letteratura che mostrano l'effetto dello stress sul microbiota intestinale. L'esposizione a fattori di stress sociale per solo due ore può modificare la composizione del microbiota intestinale e promuovere processi infiammatori.

Il sistema nervoso autonomo (SNA) regola le funzioni intestinali, tra cui la motilità e la secrezione di acido gastrico, muco, bicarbonato, peptidi intestinali e peptidi antimicrobici, come anche la permeabilità intestinale e la risposta immunitaria mucosale.

Pertanto, il SNA può modulare l'habitat dei microrganismi e quindi influenzare la composizione e l'attività del microbiota intestinale.

Anche il tempo di transito intestinale influenza la composizione del microbiota intestinale, in quanto un tempo di transito aumentato riduce la massa e la diversità batterica.

Inoltre, la barriera intestinale può essere danneggiata dallo stress. Questo porta ad una maggiore traslocazione di batteri intestinali come *l'Escherichia coli* o di molecole come l'LPS, con un conseguente milieu pro-infiammatorio nell'intestino.

In aggiunta ai cambiamenti del microbiota intestinale indotti dal sistema nervoso centrale, il sistema neuroendocrino può comunicare con il microbiota attraverso il rilascio intraluminale delle molecole di segnalazione, comprese le 5-HT e le citochine (Martin et al., 2018).

5. I DSA, la nutrizione e il microbiota intestinale in soggetti affetti da DSA

5.1. Disturbi dello spettro autistico (DSA)

I disturbi dello spettro autistico rappresentano disturbi comportamentali complessi che si verificano prima del terzo anno di vita e interessano diverse aree del regolare sviluppo mentale (Campion et al., 2018).

Rientrano nella classe dei disturbi che vengono definiti “disturbi pervasivi dello sviluppo” (Ministero della Salute, 2019).

I DSA sono diagnosticati in tutti i gruppi razziali, etnici e socioeconomici. (Campion et al., 2018).

La diffusione dei disturbi dello spettro autistico è in aumento.

In Italia, un bambino su 77 (età 7-9 anni) presenta un DSA con una prevalenza maggiore nei maschi, che sono colpiti 4,4 volte in più rispetto alle femmine (Ministero della Salute, 2019).

Il termine "spettro" si riferisce alla grande variabilità dei disturbi autistici, sia per quanto riguarda il tipo, sia per quanto riguarda la gravità dei sintomi.

Infatti, con la 5° edizione del Manuale Diagnostico e Statistico dei Disturbi mentali (DSM-5), la diagnosi dei DSA è diventata unica, e tutti i sottotipi che prima erano presenti nel DSM-IV (Sindrome di Asperger, Disturbo disintegrativo dell'infanzia e Disturbo Pervasivo della Sviluppo Non Altrimenti Specificato) sono stati eliminati.

Per soddisfare i criteri diagnostici per i DSA secondo il DSM-5, un bambino deve avere deficit persistenti in ognuna delle tre aree di comunicazione e interazione sociale (vedi da A.1. a A.3.), così come almeno due dei quattro tipi di comportamento limitato e ripetitivo (vedi da B.1. a B.4.).

A. Carenze persistenti nella comunicazione e nell' interazione sociale in molteplici contesti che si sono manifestate o attualmente o in passato:

1. Deficit nello scambio sociale-emotivo, che vanno, per esempio, da un riavvicinamento sociale anormale e il fallimento delle conversazioni ordinarie, alla diminuzione degli interessi e delle emozioni, fino al mancato avvio o alla mancata risposta alle interazioni sociali.
2. Deficit che influiscono sulla comunicazione non verbale, ad esempio contatto visivo anormale o deficit nella comprensione e nell'uso dei gesti per una completa mancanza di espressioni facciali e di comunicazione non verbale.
3. Deficit nello sviluppo, nel mantenimento e nella comprensione delle relazioni, che vanno dalla difficoltà di adattare i comportamenti ai diversi contesti sociali, alla difficoltà di fare amicizia, fino alla mancanza di interesse nei confronti dei coetanei.

B. Modelli ristretti e ripetitivi di comportamento, interessi o attività in cui almeno due dei quattro criteri seguenti sono soddisfatti o attualmente o in passato:

1. Movimenti, uso di oggetti o linguaggio ripetitivi o stereotipati.
2. L'insistenza sull'uguaglianza, l'adesione inflessibile alle routine o a modelli ritualizzati di comportamento verbale o non verbale (ad esempio estremo disagio con piccoli cambiamenti o la necessità di mangiare ogni giorno lo stesso cibo).
3. Interessi fissi e fortemente limitati, di intensità anomala.
4. Iper- o iporeattività all'input sensoriale o interesse insolito per gli aspetti sensoriali dell'ambiente (ad esempio, evidente indifferenza al dolore o eccessivo fascino visivo per la luce o il movimento).

Inoltre, per ogni criterio viene definito il livello di gravità (CDC – Centers for Disease Control and Prevention, 2020).

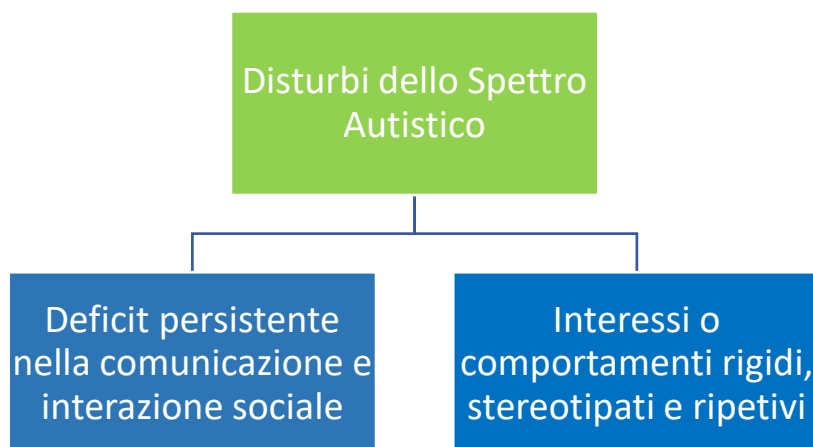


Figura 15: DSA (DGKJP & DGPPN, 2016, tradotto dal tedesco).

Per poter effettuare la diagnosi di un DSA, devono essere soddisfatti inoltre i seguenti criteri:

1. i sintomi devono essere presenti nelle prime fasi dello sviluppo (ma possono manifestarsi in maniera completa solo quando le richieste sociali superano le capacità limitate)
2. i sintomi causano un danno clinicamente significativo nella vita sociale, professionale o in altri settori importanti della vita
3. questi disturbi non possono essere spiegati meglio con la disabilità intellettuale (disturbo dello sviluppo intellettuale) o con il ritardo dello sviluppo globale (CDC – Centers for Disease Control and Prevention, 2020).

Come già accennato, la modalità e la gravità dei sintomi dei DSA sono diversi in ogni persona, con una vasta gamma di comportamenti e gradi di gravità.

Anche i quozienti di intelligenza (QI) verbale e non verbale sono altamente variabili nei DSA, e i comportamenti ripetitivi e limitati possono variare da comportamenti motori stereotipati di grado più debole a disturbi comportamentali più gravi come l'insistenza sull'uguaglianza.

Attualmente si ritiene che questi disturbi siano dovuti a cambiamenti nello sviluppo neurologico pre- e/o postnatale.

Tali anomalie nello sviluppo del sistema nervoso portano ad una compromissione della capacità del bambino di relazionarsi con le altre persone nei primi anni di vita.

Questo a sua volta causa seri disturbi cognitivi, affettivi e comportamentali.

Tali disturbi comportamentali devono essere gestiti in modo appropriato sia in famiglia che a scuola.

Tra i fattori patogeni dei DSA vi sono componenti genetiche molto forti, con un'influenza dei geni stimata tra il 60% e oltre l'80%.

Tuttavia, i fattori genetici che favoriscono i DSA sono molto eterogenei e ci sono pochi geni che possono essere strettamente correlati ai DSA.

Oltre agli aspetti genetici, alcuni fattori ambientali sembrano aumentare il rischio di DSA, tra cui l'inquinamento atmosferico, esposizione ai pesticidi, età parentale avanzata, infezioni materne, fattori nutrizionali, il diabete gestazionale, stress, farmaci, infezioni, processi infiammatori o l'uso di antibiotici durante la gravidanza (Campion et al., 2018).

I fattori di rischio dietetici comprendono anche lo stato prenatale e perinatale dei folati e del ferro della madre e l'assunzione di acidi grassi polinsaturi (PUFA) prima e durante la gravidanza (Ristori et al., 2019).



Figura 16: Fattori di rischio per i DSA (figura elaborata)

I bambini con DSA sono a maggior rischio per una vasta gamma di comorbidità, di cui i più comuni sono i problemi del sonno, l'epilessia, i disturbi immunitari e i disturbi gastrointestinali (GI).

La comparsa simultanea di diverse di queste comorbidità sembra essere associata a sintomi comportamentali più gravi nel bambino (Campion et al., 2018).

Secondo un rapporto di consenso di Buie et al. del 2010, pubblicato sulla rivista scientifica americana "Pediatrics", la prevalenza di disturbi gastrointestinali nei pazienti con DSA di età compresa tra 1 e 18 anni variava dal 9 al 91%.

I disturbi gastrointestinali più comunemente segnalati tra i bambini affetti da DSA sono costipazione cronica, dolore addominale, diarrea, gonfiore, reflusso gastro-esofageo, carenze di disaccaridasi, così come un'inflammazione del tratto gastrointestinale e anomalie del sistema nervoso enterico.

Oltre ai disturbi gastrointestinali, nei bambini con DSA possiamo spesso riscontrare una restrizione alimentare e comportamenti alimentari difficili.

Effettivamente, i bambini con DSA tendono ad essere molto schizzinosi, e la maggior parte di loro mostra un'avversione per certi colori, consistenze, odori o altre proprietà alimentari.

Ciò ha un impatto negativo diretto sulla qualità nutrizionale, sulle carenze di nutrienti e sulla composizione del microbiota intestinale.

In più, anche le disfunzioni immunitarie e le infiammazioni del tratto gastrointestinale sono più comuni nelle persone con DSA e sembrano contribuire alla gravità dei disturbi comportamentali.

In molti bambini con DSA possiamo inoltre osservare delle anomalie nella fisiologia del tratto gastrointestinale, tra cui: aumento della permeabilità intestinale, cambiamenti generali nella composizione del microbiota e infezioni intestinali con *Clostridium difficile* (Ristori et al., 2019).

Le comorbidità GI stanno suscitando un crescente interesse non solo a causa del loro impatto nel peggioramento del comportamento tipico dei DSA, ma anche per il loro potenziale ruolo nel contribuire alla genesi del disturbo dello sviluppo neurologico.

Infatti, problemi di ansia, irritabilità, disturbi del sonno, autolesionismo e comportamenti oppositivi sembrano essere significativamente più comuni tra i bambini con DSA con sintomi gastrointestinali, rispetto ai soggetti con DSA senza disturbi gastrointestinali (Campion et al., 2018).

5.2. DSA e Nutrizione

5.2.1. DSA e selettività alimentare

I bambini in generale, soprattutto quelli in età prescolare, vengono frequentemente definiti "mangiatori schizzinosi" ("picky eaters"), visto che tendono a mostrare un rifiuto di certi alimenti.

Questo comportamento alimentare di solito diminuisce intorno ai sei anni e può fare parte di un comportamento tipico dell'età evolutiva.

Nei bambini con DSA, questo comportamento è più pronunciato, inizia in età molto precoce e porta ad una vera selettività alimentare (Ristori et al., 2019).

In uno studio di Schreck, Williams e Smith (2004), gli autori hanno confrontato la selettività alimentare di 138 bambini con DSA con 298 bambini neurotipici di età compresa tra 7-9,5 anni.

Per poter valutare le preferenze alimentari e la varietà della dieta dei bambini, è stato compilato un questionario da parte dei genitori.

I genitori dei bambini con DSA hanno riferito che i loro figli rifiutavano un numero significativamente maggiore di alimenti e risultava che i bambini con DSA avevano una dieta meno varia rispetto ai bambini senza DSA.

Inoltre, è stato riportato che i bambini con DSA mangiavano una minore varietà di alimenti all'interno di ogni gruppo alimentare: in generale, i bambini con DSA mangiavano circa la metà del numero di alimenti di ogni gruppo rispetto ai bambini neurotipici.

Un'eccezione è rappresentata dagli alimenti ricchi di amido, dove la quantità di alimenti accettati comprende circa due terzi rispetto ai bambini neurotipici.

Tabella I: Numero di alimenti accettati all'interno dei gruppi alimentari (Schreck et al., 2004, p. 437)

Gruppo alimentare	Soggetti con DSA		Soggetti senza DSA (controlli)	
	Media	Deviazione standard	Media	Deviazione standard
Frutta	8,09	6,52	15,75	7,62
Latte e derivati	4,32	3,30	8,07	3,48
Verdura	4,00	5,00	8,23	6,06
Proteine	7,82	5,98	14,24	7,40
Alimenti contenenti amido	15,82	8,80	24,08	11,38

Inoltre, i problemi nutrizionali tendono a rimanere stabili nel tempo, con le relative conseguenze negative per la salute e lo stato nutrizionale delle persone colpite.

Il comportamento alimentare atipico e il particolare stile di vita dei soggetti affetti da DSA, che coinvolge tra l'altro l'attività fisica e le abilità sociali alterate, sono fattori che implicano il rischio di malnutrizione sia in eccesso che in difetto.

L'importanza di questa selettività alimentare nei bambini con DSA è sottolineata nel DSM-5, anche se non fa parte dei criteri diagnostici (Ristori et al., 2019).

Uno studio di Williams, Dalrymple e Neal (2000), in cui sono stati intervistati 100 genitori di bambini con DSA, ha rilevato che la selettività alimentare è determinata tra l'altro dai seguenti fattori: la consistenza degli alimenti (in 69% dei bambini con DSA), l'aspetto del cibo (58%), il modo in cui il cibo è presentato (48,6%), il gusto dei cibi (45%), l'odore degli alimenti (36%) e la loro temperatura (22%), come anche la riluttanza a provare nuovi alimenti (69%), un repertorio più piccolo di alimenti accettati (60%) e le caratteristiche dei piatti stessi (13,8%).

5.2.2. DSA e sovrappeso, obesità e le complicazioni correlate

Una forte preferenza per l'amido, ma anche per gli snack e gli alimenti confezionati, e un rifiuto di frutta, verdura e proteine è particolarmente comune nei bambini con DSA (Ristori et al., 2019).

Data questa predilezione per gli alimenti ad alto contenuto calorico, si può supporre che i bambini con DSA abbiano un aumentato rischio di sovrappeso e obesità.

Uno studio di Hill, Zuckerman e Fombonne (2015), ha esaminato 5053 bambini di età compresa tra i 2 e i 17 anni con una diagnosi confermata di un DSA per il sovrappeso e l'obesità.

Per calcolare i percentili del BMI sono stati utilizzati i valori misurati riguardanti il peso e l'altezza. I criteri del Center for Disease Control and Prevention (CDC) sono stati utilizzati per definire il sovrappeso e l'obesità, in cui un BMI maggiore o uguale all'85° percentile è definito come sovrappeso e maggiore o uguale al 95° percentile come obesità.

I risultati hanno mostrato che il 33,6% dei bambini con DSA erano in sovrappeso e il 18% erano obesi.

Confrontando questi risultati con un campione generale della popolazione degli Stati Uniti del "National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)", il rischio di sovrappeso e obesità era significativamente più alto nei bambini con DSA di età compresa tra i 2 e i 5 anni: nella popolazione generale (NHANES), il 23,4% dei bambini di età compresa tra i 2 e i 5 anni erano in sovrappeso, e il 10,1% erano obesi (Ogden, Carroll, Kit, & Flegal, 2014).

Nei bambini con DSA, il 32,1% dei bambini di età compresa tra i 2 e i 5 anni erano in sovrappeso, e il 16% erano obesi (Hill et al., 2015).

Inoltre, le complicazioni legate all'obesità, come l'ipertensione arteriosa o il diabete, sono generalmente più comuni negli adulti con DSA che negli adulti non affetti da un DSA (Ristori et al., 2019).

5.2.3. DSA e assunzione di nutrienti

Anche se i disturbi dello spettro autistico sono considerati malattie psichiatriche associate a carenze di nutrienti causate dalla selettività alimentare, la letteratura continua a mostrare risultati contraddittori per quanto riguarda il rischio di carenze di nutrienti nei bambini con DSA.

Tuttavia, in un gran numero di studi, i bambini con DSA mostrano una varietà significativamente inferiore di alimenti accettati.

I bambini con DSA in generale mangiano meno verdura, per cui l'apporto di fibre è stato insufficiente in un numero considerevole di bambini con DSA.

Dall'altra parte, una preferenza per l'amido, gli snack e gli alimenti confezionati è particolarmente comune nei bambini con DSA.

Questo porta ad un aumentato introito di zuccheri semplici, acidi grassi saturi e sodio (Ristori et al., 2019).

In uno studio trasversale di Herndon, DiGuseppi, Johnson, Leiferman, & Reynolds (2009), il consumo di macro- e micronutrienti e la porzionatura dei vari alimenti nei bambini con DSA (n = 46) e nei bambini con sviluppo neurotipico (n = 31) sono stati confrontati utilizzando un diario alimentare, che veniva compilato da parte dei partecipanti per 3 giorni.

I bambini con DSA consumavano una quantità significativamente maggiore di vitamina B6 ed E, e di porzioni di proteine non casearie, con una minore assunzione di prodotti caseari e di calcio.

Una gran parte dei bambini di entrambi i gruppi non ha soddisfatto le raccomandazioni per l'assunzione giornaliera di fibre alimentari, calcio, ferro, vitamina E e vitamina D.

5.3. DSA e cambiamenti nella composizione del microbiota intestinale

Nei soggetti con DSA, si osservano cambiamenti nella composizione del microbiota intestinale rispetto ai controlli neurotipici (NT).

Tra l'altro, l'esame del profilo batterico nelle feci mostra una maggiore incidenza batterica del genere *Clostridium* nei pazienti con DSA rispetto ai controlli neurotipici (Vuong & Hsiao, 2017).

Questo è stato osservato per esempio in uno studio di Parracho, Bingham, Gibson e McCartney (2005), che hanno esaminato le differenze nella composizione del microbiota tra 58 bambini con DSA, 12 fratelli di essi senza DSA e 10 bambini non imparentati senza DSA. Differenze significative sono state osservate per quanto riguarda il *Clostridium histolyticum*, in quanto nel gruppo dei soggetti con DSA sono stati osservati valori significativamente più alti, sia rispetto ai bambini sani non imparentati che ai fratelli sani.

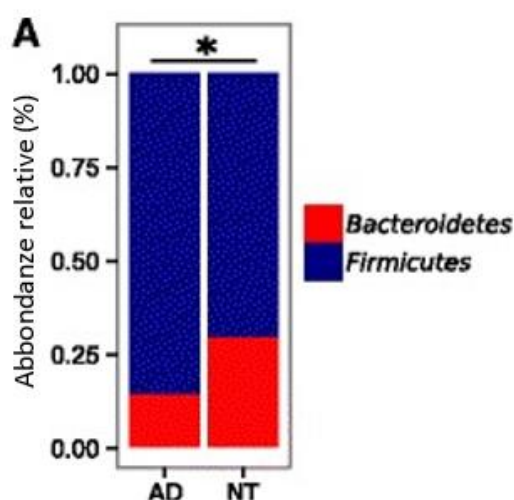
I pazienti affetti da DSA hanno inoltre mostrato una diminuzione del rapporto Bacteroidetes/Firmicutes e un aumento della concentrazione di *Lactobacillus* (Vuong & Hsiao, 2017).

Lo spostamento del rapporto Bacteroidetes/Firmicutes e il cambiamento della concentrazione di *Lactobacillus* è stato osservato tra l'altro in uno studio di Tomova, et al. (2015): i ricercatori hanno esaminato la composizione fecale di 10 bambini con DSA, 9 fratelli senza DSA e 10 bambini non imparentati.

Il microbiota fecale dei bambini autistici ha mostrato una significativa diminuzione del rapporto Bacteroidetes/Firmicutes e un aumento della quantità di *Lactobacillus spp.*

Inoltre, è stato osservato un aumento della concentrazione di *Desulfovibrio spp.* nei bambini autistici.

Anche Strati et al. (2017) sono giunti a questa conclusione, esaminando il microbiota di 40 bambini con DSA e 40 bambini neurotipici: hanno riscontrato una ridotta concentrazione di Bacteroidetes e quindi una diminuzione del rapporto Bacteroidetes/Firmicutes.



*p < 0,005

Figura 17: Abbondanze relative medie (%) di Firmicutes e Bacteroidetes in soggetti autistici (AD) e neurotipici (NT) (Strati et al., 2017, p. 3, viene mostrata solo una parte dell'immagine originale).

Anche in uno studio di Adams, Johansen, Powell, Quig e Rubin (2011), i ricercatori hanno osservato un significativo aumento della concentrazione di *Lactobacillus* nei bambini con DSA rispetto ai bambini neurotipici.

Per quanto riguarda la concentrazione di *Bifidobacterium* hanno osservato una significativa diminuzione.

Tabella II: Concentrazione di *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* in soggetti affetti da DSA e controlli (Adams et al, 2011, p. 6, viene mostrata solo una parte della tabella originale)

	Controlli	DSA	<i>P-value</i>	% Differenza
Bifidobacterium	2.8 ± 1.8	1.6 ± 1.9	0.002	-44%
Lactobacillus	1.3 ± 1.4	2.6 ± 1.4	0.00002	+100%

I valori delle colture batteriologiche variavano da 0 a 4.

Oltre ai suddetti cambiamenti nella composizione del microbiota intestinale, è stato osservato che questi sono associati alla gravità dei sintomi dei DSA.

La gravità dei DSA è stata in particolare associata ad una riduzione nelle feci degli acidi grassi a catena corta (SCFA = *short chain fatty acids*), tra cui acetato, proprionato e butirato, che vengono sintetizzati dai batteri del microbiota intestinale (Vuong & Hsiao, 2017).

I principali generi batterici per la degradazione e la fermentazione dei carboidrati, tra cui Prevotella, erano presenti in concentrazioni ridotte nei pazienti affetti da DSA (Vuong & Hsiao, 2017).

Questa riduzione dei batteri in grado di fermentare i carboidrati è stata osservata tra l'altro in uno studio di Kang et al. (2013).

In sintesi, questi studi suggeriscono che i DSA possono essere associati ad un'alterazione della composizione e della funzione del microbiota intestinale.

È interessante notare che un piccolo studio clinico condotto da Sandler et al. (2000) sul trattamento con vancomicina, un antibiotico, nei bambini con DSA ha riportato alcuni miglioramenti nel comportamento in 8 su 10 bambini.

Purtroppo, questi miglioramenti si sono attenuati dopo aver interrotto il trattamento antibiotico.

Questo suggerisce che la composizione del microbiota intestinale potrebbe contribuire attivamente alla gravità delle anomalie comportamentali in soggetti affetti da DSA.

Nonostante queste segnalazioni di disbiosi intestinale nei soggetti con DSA, c'è poco accordo su specifiche specie batteriche che sono analogamente alterate in studi separati.

Diversi fattori potrebbero contribuire a questa discrepanza, tra cui le variazioni nella metodologia e l'eterogeneità delle coorti, la gravità dei sintomi, le possibili comorbilità, le storie mediche e le differenze di stile di vita.

Ciò significa che non è stato possibile identificare una composizione tipica e generalmente valida del microbiota intestinale in soggetti affetti da DSA (Vuong & Hsiao, 2017).

Per questo motivo sono necessarie ulteriori ricerche in questo ambito, alle quali vogliamo contribuire con questo lavoro.

6. Materiali e metodi

6.1. Revisione della letteratura

All'inizio del lavoro è stata effettuata una revisione della letteratura, per la quale è stata presa in considerazione la letteratura scientifica in lingua inglese, italiana e tedesca. Le fonti erano principalmente studi scientifici, ma anche articoli di riviste, pubblicazioni e linee guida di società europee.

Per la ricerca bibliografica sono stati presi in considerazione anche i libri, sebbene questi siano stati valutati come adatti solo parzialmente, a causa dei risultati in costante cambiamento della ricerca.

Negli ultimi cinque anni sono stati pubblicati molti libri, sia per i professionisti che per i non-professionisti, il che dimostra il crescente interesse in questo campo.

Le banche dati utilizzate sono "Medline" (PubMed) e "Google Scholar".

Le parole chiave adoperate nella ricerca sono le seguenti:

„autism“, „ASD“, „microbiota“, „microbiome“, „diet“, „nutrition“, „brain“, „gut“, „axis“.

Tali parole chiave sono state combinate con le due parole ausiliarie "AND" e "OR" per ottenere un numero maggiore di risultati.

Alcuni studi, per i quali il testo completo non era disponibile per il pubblico, sono stati ottenuti attraverso la piattaforma "Researchgate".

6.2. Ricerca

6.2.1. Tipo di studio

Lo studio effettuato è uno studio caso-controllo, cioè un'indagine retrospettiva, che rientra tra gli studi epidemiologici.

I casi considerati nello studio erano bambini con DSA, i controlli erano bambini senza DSA, inoltre sono stati inclusi anche le madri dei bambini.

Si tratta inoltre di uno studio monocentrico, effettuato in un solo centro clinico, in questo caso l'ospedale di Bolzano.

6.2.2. Campione

Il campione preso in considerazione nello studio è stato composto da pazienti ambulatoriali con DSA del Dipartimento di Psichiatria dell'ospedale di Bolzano e controlli volontari senza DSA, sempre provenienti dalla provincia di Bolzano. Inoltre, sono state incluse anche le madri dei bambini di entrambi i gruppi per indagare le possibili correlazioni tra il microbiota della madre e il microbiota del bambino, includendo in ogni caso la potenziale influenza della dieta.

I criteri di inclusione per la partecipazione allo studio sono stati un'età compresa tra i 5 e i 10 anni e una residenza continuativa in Alto Adige per almeno gli ultimi 12 mesi.

Il criterio di esclusione è stato la somministrazione di antibiotici negli ultimi sei mesi.

I soggetti sono stati reclutati dal Dipartimento di Psichiatria sotto la direzione della Dott.ssa Felicita Scolati.

All'inizio dello studio, è stato pianificato un campione di 30 bambini di età compresa tra i 5 e i 10 anni, tra cui 10 bambini con DSA con disturbi comportamentali gravi, 10 bambini con DSA con disturbi comportamentali lievi/assenti e 10 bambini senza un DSA, sempre insieme alle loro madri.

A causa della situazione attuale riguardante il coronavirus purtroppo non è stato possibile vedere tutti i partecipanti e in totale questo ha portato ad un campione di studio di 7 bambini senza DSA, 3 bambini con DSA con disturbi comportamentali lievi/assenti e 2 bambini con un DSA con disturbi comportamentali gravi.

Per ognuno dei 12 bambini, è stata inclusa nello studio anche la rispettiva madre.

Per compilare il questionario è stato organizzato un incontro personale con i bambini e le loro madri.

6.2.3. Anamnesi

L'anamnesi applicata nello svolgimento dello studio è composta da due parti. La prima parte è stata effettuata a partire da novembre 2019 dal Dipartimento di Psichiatria dell'Ospedale di Bolzano sotto la direzione della Dott.ssa Felicità Scolati e contiene domande riguardanti la gravidanza, la modalità del parto, le complicazioni durante la gravidanza / il parto, l'allattamento e l'utilizzo di eventuali farmaci.

La seconda parte dell'anamnesi è stata realizzata a partire da gennaio 2020 presso la Scuola Provinciale Superiore di Sanità "Claudiana", ed ha previsto l'incontro per l'anamnesi alimentare con l'autrice di questa tesi e la consegna del campione delle feci.

Il metodo di anamnesi alimentare utilizzato, l'FFQ (= Food Frequency Questionnaire = questionario di frequenza di assunzione degli alimenti), è un metodo retrospettivo di indagine nutrizionale.

Il questionario utilizzato nel presente studio si basa sul DHQ III (Diet History Questionnaire III), che è stato modificato secondo i requisiti dello studio e tradotto in italiano.

Durante il processo di modificazione, gli alimenti sono stati raggruppati in gruppi alimentari, visto che nel questionario originale, per ogni singolo alimento c'era una domanda separata: p.e. i singoli tipi di frutta sono stati riassunti utilizzando il termine "frutta".

Questo processo è stato eseguito per ogni gruppo alimentare, cioè per: bevande; verdure e insalate; frutta; cereali, prodotti a base di cereali e patate; latte e latticini; carne, affettati, pesce e uova; grassi e oli.

Per quanto riguarda le bevande, i prodotti a base di cereali, i grassi e gli oli, oltre alla quantità è stata esaminata anche la qualità degli alimenti assunti, visto che p.e. i cereali integrali contengono una quantità maggiore di fibre alimentari rispetto ai cereali raffinati, che, come descritto nei capitoli 3.5.1. e 3.7.1., possono influenzare il microbiota intestinale.

Inoltre, al questionario originale sono stati aggiunti alcuni aspetti.

Questi includono tra l'altro la frequenza di defecazione, in quanto la motilità del tratto gastrointestinale è influenzata tra l'altro anche dal microbiota, come descritto nel capitolo 4.2.

Inoltre, sono stati esaminati anche i disturbi gastrointestinali, poiché è stata osservata una correlazione tra i disturbi gastrointestinali e i sintomi dei DSA, come descritto nel capitolo 5.1.

Anche l'uso dei lassativi è stato messo in discussione, poiché l'uso di lassativi può influenzare il microbiota (Rusch, 2017).

Inoltre, al questionario sono state aggiunte alcune domande relative alla durata dell'allattamento e l'eventuale uso di latte artificiale, visto che anche esso influenza il microbiota, come descritto nel capitolo 3.3.

È stata analizzata anche l'introduzione di alimenti solidi, in quanto l'età infantile, come descritto nel capitolo 4, è considerata una finestra temporale critica per lo sviluppo del microbiota.

È stato esaminato anche il tipo di cibo acquistato, cioè se si trattava di cibo fresco o precotto, il che fornisce un'idea della qualità della dieta, poiché i cibi confezionati sono spesso caratterizzati da un elevato contenuto di acidi grassi saturi e sale.

Anche la frequenza dell'attività fisica è stata interrogata, in quanto svolge un ruolo importante in uno stile di vita salutare e può influenzare anch'essa la composizione del microbiota (Rinninella et al., 2019).

Per la definizione delle dimensioni delle porzioni sono state utilizzate i "LARN" e le "Linee guida per una sana alimentazione" del Crea (Crea - Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria, 2017; Società Italiana di Nutrizione Umana, 2014b).

Di seguito si riporta un esempio di una domanda nell'FFQ.

Con quale frequenza ha consumato una porzione di frutta nell'ultimo mese? (una porzione = 150g)
☐ Mai
☐ 1-3 volte nell'ultimo mese
☐ Una porzione alla settimana
☐ 2-4 porzioni a settimana
☐ 5-6 porzioni a settimana
☐ Una porzione al giorno
☐ 2 porzioni al giorno
☐ 3 porzioni al giorno
☐ 4 porzioni al giorno
☐ 5 e più porzioni al giorno

Figura 18: Esempio di una domanda nell'FFQ.

La compilazione del questionario è stata effettuata sotto forma di intervista.

È stata scelta questa forma di indagine per i seguenti motivi:

- per permettere all'intervistato di esporre in modo completo tutte le sue motivazioni.
- per evitare fraintendimenti da parte dell'intervistato sulla terminologia usata.

Sulla base delle risposte dell'FFQ, è stato effettuato un calcolo della distribuzione dei macronutrienti in percentuale e dell'apporto di fibre alimentari in grammi.

Il calcolo delle diete è stato effettuato con il software per la ristorazione collettiva "SANALOGIC".

6.2.4. Raccolta dei campioni delle feci

Ai partecipanti dello studio in occasione della prima anamnesi sono state fornite le seguenti indicazioni per la raccolta dei campioni:

RACCOGLIAMENTO E CONSERVAZIONE DELLE FECI

Caro/a partecipante, in questo documento viene descritta la modalità di raccolta e conservazione delle feci, al fine di ottenere dei risultati validi durante l'analisi.

La preghiamo di seguire accuratamente ogni passo.

- Verranno raccolti in totale 4 campioni (2 della madre e 2 del bambino) della grandezza di un cucchiaino da caffè.
 - I campioni delle feci verranno raccolti in un piatto di plastica. È importante assicurarsi che non vengano contaminati da urina, acqua o altre sostanze e verranno conservati nel contenitore consegnato.
 - I campioni che verranno raccolti in giornata, potranno essere consegnati direttamente, attraverso l'utilizzo di una borsa termica con siberini, in modo da mantenere una temperatura di 4°C.
 - In alternativa, se il campione non potrà essere consegnato in giornata, si raccomanda di mantenere il campione incartato con della carta stagnola a -20 gradi. Successivamente al momento della consegna il campione potrà essere mantenuto a 4°C (borsa termica).
 - È permesso l'uso di lassativi o composte di glicerina.
-

I campioni delle feci consegnati sono stati congelati in un congelatore a -20°C nel laboratorio della "Claudiana".

A giugno del 2020 i campioni delle feci sono stati trasferiti a Roma presso il Dipartimento di Microbiologia della "Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS", dove sono stati sottoposti ad un'analisi metagenomica.

6.2.5. Analisi metagenomica

Nel presente studio, l'estrazione del DNA è stata effettuata utilizzando il kit "MICROBIOME FECAL DNA".

Il DNA è stato quantizzato mediante lo spettrofotometro "Thermo Fisher Scientific NanoDrop ND-1000". Un controllo negativo (acqua ultra-pura per la biologia molecolare) è stato estratto e poi processato insieme agli altri campioni.

Le regioni V3-V4 del gene 16S rRNA sono state amplificate con i *primers forward* (Pro341F: 5'-CCTACGGGNBGCASCAG-3') e *reverse* (Pro805R: 5'-GACTACNVGGGTATCTAATCC-3') (Takahashi, Tomita, Nishioka, Hisada, & Nishijima, 2014).

La DNA *library* è stata ottenuta come descritto mediante il protocollo “MiSeq rRNA Amplicon Sequencing” e la reazione di sequenziamento è stata effettuata sulla piattaforma “Illumina MiSeq” (San Diego, CA) utilizzando il “MiSeq reagent kit version 3” (2 x 300 bp) (Caporaso et al., 2012).

Per l'analisi dei dati ottenuti con il sequenziamento è stata utilizzata una combinazione dei *software packages* “QIIME” e “VSEARCH” (Caporaso et al., 2010; Rognes, Flouris, Nichols, Quince, & Mahé, 2016).

In breve, le sequenze sono state clusterizzate dopo la rimozione delle sequenze chimeriche in *operational taxonomic units* (OTUs) con una similitudine del 97%. Al fine di determinare la tassonomia delle sequenze rappresentative in ogni OTU è stato utilizzato “UCLUST consensus taxonomy classifier” che è stato confrontato con “Greengenes taxonomy reference database” (Edgar, 2010).

La *Biological observation matrix* (BIOM) è stata generata a differenti livelli di tassonomia (dal phylum al genere) (McDonald et al., 2012).

I dati ottenuti da BIOM sono stati valutati utilizzando “Microbiome Analyst”, una piattaforma web per l'analisi statistica dei dati microbiomici (Dhariwal et al., 2017).

Gli indici di diversità alfa (ad es. Shannon complexity H, Shannon Evenness H/Ho) sono stati calcolati utilizzando “Explicet” (Robertson et al., 2013).

La diversità beta è stata calcolata confrontando i gruppi non-DSA e DSA utilizzando l'analisi multivariata della varianza (perMANOVA) (Anderson, 2001).

6.2.6. Analisi statistica

Con riferimento a ciascuna variabile analizzata nell'ambito dello studio attraverso il "Food Frequency Questionnaire" sono state calcolate le distribuzioni assolute e percentuali dei bambini, nel complesso e distintamente per i due gruppi posti a confronto (bambini con un DSA e bambini senza un DSA).

Per le variabili di tipo quantitativo sono stati ottenuti i principali indicatori di centralità e di variabilità (media, mediana, minimo, massimo, deviazione standard).

L'associazione tra variabili categoriali è stata indagata attraverso il test X^2 di Pearson ed il Test esatto di Fisher, anche nella versione estesa di Fisher-Freeman-Halton. Nel caso di variabili quantitative, la valutazione delle differenze tra i due gruppi di bambini è stata fatta mediante l'applicazione del test non parametrico U di Mann-Whitney, in quanto le distribuzioni delle variabili analizzate sono risultate non normali.

È stato considerato statisticamente significativo un $p < 0,05$ (test a due code). Tutte le analisi sono state effettuate utilizzando Excel per Microsoft 365 e il software statistico IBM SPSS (Vers. 18.0).

6.2.7. Etica, privacy e consenso informato

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico del Distretto Sanitario di Bolzano.

I partecipanti, ovvero i loro genitori o i loro rappresentanti legali, hanno ricevuto tutte le informazioni relative allo studio e ai suoi obiettivi.

Ai soggetti è stata garantita l'anonimizzazione dei loro dati.

7. Risultati

7.1. Caratteristiche del campione

In totale, cioè considerando i due gruppi di bambini con e senza DSA, sono stati esaminati 12 bambini e le loro madri.

Nel gruppo dei bambini hanno partecipato in totale sette ragazze e cinque ragazzi.

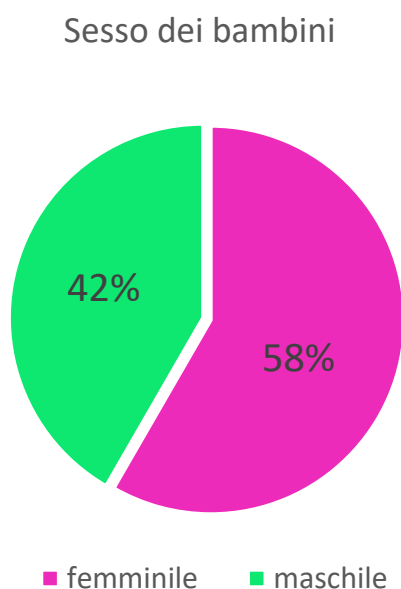


Figura 19: Distribuzione di genere nel gruppo dei bambini.

I bambini dei due gruppi “bambini con DSA” e “bambini senza DSA”, al momento dell’intervista, avevano un’età media di 7,67 anni.

Nell’analisi separata dei due gruppi, i bambini senza DSA avevano un’età media di 9 anni e i bambini con DSA avevano un’età media di 5,8 anni.

Nella tabella sottostante, oltre al valore della media, sono indicate la mediana, il valore minimo, massimo e la deviazione standard.

Tabella III: Età dei partecipanti nel gruppo dei bambini al momento dell'anamnesi.

Età	Tutti	Bambini senza DSA	Bambini con DSA
Media	7,67	9	5,80
Mediana	8	9	6
Minimo	5	8	5
Massimo	10	10	7
Dev. Stand	1,75	0,76	0,75

Nel raccogliere i dati relativi al peso e all'altezza, e nel calcolare il BMI da questi due valori, si è visto che le madri dei bambini senza DSA avevano un BMI medio di 21,9 kg/m², mentre le madri dei bambini con DSA avevano un BMI medio di 27,1 kg/m².

Per quanto riguarda il gruppo dei bambini, i bambini senza DSA al momento della raccolta dei dati avevano un BMI medio di 17,6 kg/m², mentre i bambini con DSA avevano un BMI medio di 19,9 kg/m².

Tabella IV: Peso, altezza e BMI dei partecipanti.

Gruppo		Peso madre (kg)	Altezza madre (m)	BMI madre (kg/m ²)	Peso bambino/a (kg)	Altezza bambino/a (m)	BMI bambino/a (kg/m ²)
Bambini	N	7	7	7	7	7	7
senza	Media	61,700	1,6800	21,871	33,343	1,3657	17,6429
DSA e le	Mediana	59,000	1,7100	22,300	31,000	1,4000	16,7000
loro	Minimo	53,5	1,55	18,7	22,4	1,24	14,30
madri	Massimo	78,0	1,78	26,1	48,0	1,47	22,80
	Deviazione std.	8,9740	,08327	2,7873	9,1518	,08810	3,36891
Bambini	N	5	5	5	5	5	5
con DSA	Media	68,000	1,5900	27,080	27,200	1,1680	19,9400
e le loro	Mediana	69,000	1,6000	29,200	25,000	1,1600	18,6000
madri	Minimo	55,0	1,53	20,0	17,0	1,12	13,60
	Massimo	80,0	1,66	31,3	36,0	1,27	28,70
	Deviazione std.	9,1104	,04899	4,5030	7,4967	,06140	5,51661
Totale	N	12	12	12	12	12	12
	Media	64,325	1,6425	24,042	30,783	1,2833	18,6000
	Mediana	64,500	1,6300	23,550	29,000	1,2700	18,3500
	Minimo	53,5	1,53	18,7	17,0	1,12	13,60
	Massimo	80,0	1,78	31,3	48,0	1,47	28,70
	Deviazione std.	9,1996	,08248	4,3364	8,7251	,12637	4,31930
	<i>P-value</i>	,149	,106	,073	,268	,005	,639

Se valutiamo le madri individualmente e le classifichiamo secondo le categorie del BMI dell'OMS, si vede che nel gruppo delle madri dei bambini senza DSA, l'86% ha un peso normale, il 14% è in sovrappeso e nessuna delle donne è obesa.

Al contrario, nel gruppo delle madri dei bambini con DSA il 20% ha un peso normale, il 60% è in sovrappeso e il 20% è obeso.

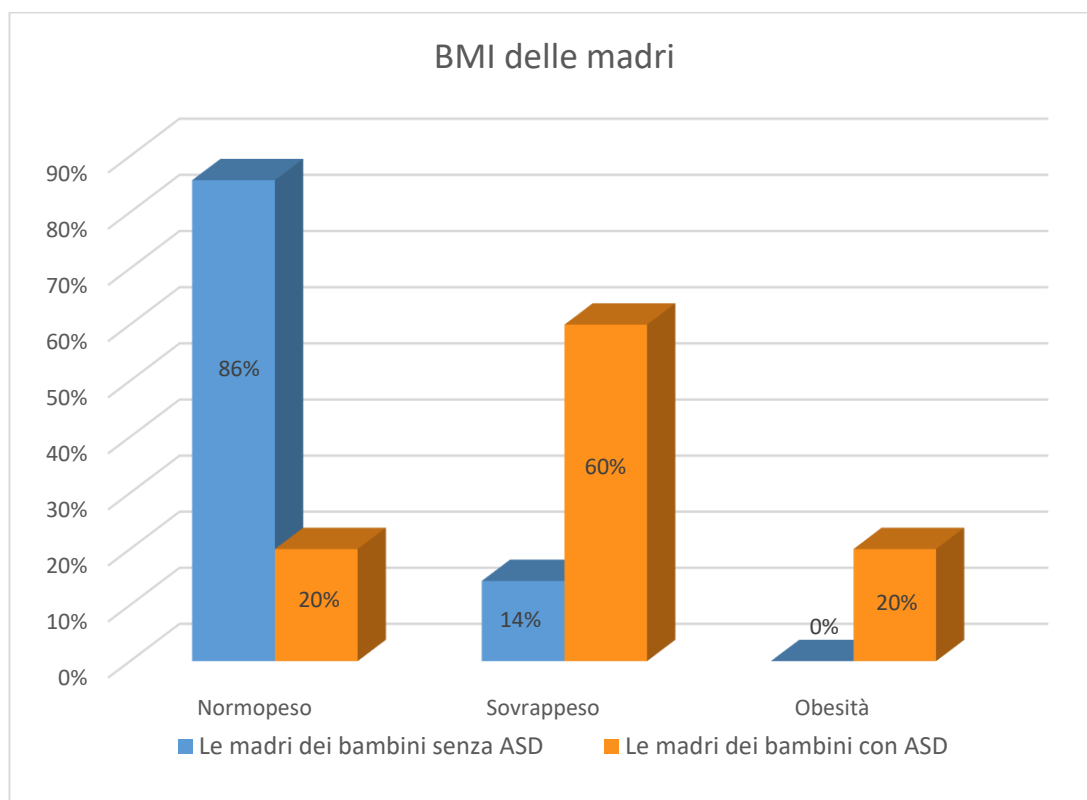


Figura 20: Classificazione del BMI delle madri.

Tuttavia, è necessario prestare attenzione nella valutazione del BMI nei bambini, poiché i valori di riferimento variano a seconda dell'età e del sesso. Di conseguenza, il BMI di ogni singolo bambino deve essere confrontato con la rispettiva curva percentile del BMI.

I percentili sono classificati secondo la classificazione della linea guida tedesca "Therapie und Prävention der Adipositas im Kindes- und Jugendalter", che può essere tradotta come terapia e prevenzione dell'obesità nell'infanzia e nell'adolescenza:

Tabella V: Classificazione dei percentili del BMI secondo le linee guida della "Arbeitsgemeinschaft Adipositas im Kindes- und Jugendalter (AGA), Deutsche Adipositas-Gesellschaft (DAG), & Deutsche Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin (DGKJ)" (2019).

Sovvrappeso	>90° Percentili
Obesita	>97° - 99,5° Percentuali
Obesità grave	>99,5° Percentili

Nella valutazione dei percentili, il BMI dei bambini senza DSA corrisponde in media al 56° percentile.

I bambini con un DSA, invece, si trovano nel 77° percentile per il BMI.

Insieme, i due gruppi nel 65° percentile.

Tabella VI: Percentili del BMI nel gruppo dei bambini (P = 0,291).

I percentili del BMI						
Gruppo	N	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione std.
Bambini senza DSA	7	55,6571	67,4000	10,00	95,60	35,31864
Bambini con DSA	5	77,0400	94,2000	2,20	99,80	42,05720
Totale	12	64,5667	80,5000	2,20	99,80	38,01106

Poiché dall'analisi dei percentili, come si può vedere dalla tabella sopra riportata, risulta un range molto ampio in entrambi i gruppi (massimo - minimo), è interessante osservare i valori dei partecipanti singolarmente.

Guardando i singoli valori dei percentili, si nota che nel gruppo dei bambini con DSA solo uno dei 5 pazienti si trova nel range del normopeso, e anche questo valore si trova al limite superiore (89,4. percentili).

Anche l'unico bambino dell'intero campione che è sottopeso (2,2 percentile) appartiene al gruppo dei bambini con DSA.

Tabella VII: Percentili del BMI dei bambini.

* (Arbeitsgemeinschaft Adipositas im Kindes- und Jugendalter (AGA), Deutsche Adipositas-Gesellschaft (DAG), & Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin (DGKJ, 2019).

Bambini senza DSA		
Numero del partecipante	Percentili del BMI	Classificazione secondo le Linee guida S3 "Therapie und Prävention der Adipositas im Kindes- und Jugendalter"*.
1	71,6	Normopeso
2	67,4	Normopeso
3	21,5	Normopeso
4	94,7	Sovrappeso
5	28,8	Normopeso
6	10,0	Normopeso
7	95,6	Sovrappeso
Bambini con DSA		
Numero del partecipante	Percentili del BMI	Classificazione secondo le Linee guida S3 "Therapie und Prävention der Adipositas im Kindes- und Jugendalter"*.
8	94,2	Sovrappeso
9	2,2	Sottopeso
10	89,4	Normopeso
11	99,8	Obesità grave
12	99,6	Obesità grave

Nel contesto dell'anamnesi alimentare, sono stati esaminati diversi aspetti. Una selezione di questi è mostrata nelle tabelle e nei diagrammi seguenti.

Alla fine di questo capitolo viene descritta una valutazione globale dell'assunzione orale calcolando le ripartizioni dei vari macronutrienti in percentuali e l'assunzione di fibre alimentari in grammi.

7.2. Nutrizione della madre

7.2.1. Gravidanza

Per quanto riguarda l'assunzione di acqua delle madri durante la gravidanza, l'analisi statistica mostra che nel gruppo delle madri dei bambini senza DSA, tutte le partecipanti hanno bevuto acqua del rubinetto durante la gravidanza. Nel gruppo delle madri dei bambini con DSA, il 40% delle donne non beveva acqua del rubinetto durante la gravidanza.

Tabella VIII: Consumo di acqua del rubinetto durante la gravidanza (P = 0,152).

			Gruppo		
			bambini	Bambini	
			senza DSA	con DSA	Totale
Ha bevuto acqua del rubinetto durante la gravidanza?	No	Conteggio	0	2	2
		% entro Gruppo	,0%	40,0%	16,7%
	Si	Conteggio	7	3	10
		% entro Gruppo	100,0%	60,0%	83,3%
	Totale	Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Confrontando ora il consumo di acqua in bottiglia tra i due gruppi, il 14,3% delle madri dei bambini senza DSA beveva acqua in bottiglia durante la gravidanza, il restante 85,7% non beveva acqua in bottiglia.

Nel gruppo delle madri dei bambini con DSA, il 60% ha bevuto acqua in bottiglia, il restante 40% no.

Tabella IX: Consumo di acqua in bottiglia durante la gravidanza (P = 0,222).

			Gruppo		Totale
			bambini senza DSA	bambini con DSA	
Ha bevuto acqua in bottiglia durante la gravidanza?	No	Conteggio	6	2	8
		% entro Gruppo	85,7%	40,0%	66,7%
	Si	Conteggio	1	3	4
		% entro Gruppo	14,3%	60,0%	33,3%
	Totale	Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Per quanto riguarda il tipo di dieta in gravidanza, la tabella X mostra che nessuna delle madri ha seguito una dieta specifica.

Tabella X: L'adesione ad una dieta in particolare durante la gravidanza.

			Gruppo		Totale
			bambini senza DSA	bambini con DSA	
Ha seguito una dieta specifica durante la gravidanza?	No	Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Analizzando i dati relativi all'uso di pro-, pre- o simbiotici, è emerso che una delle sette madri dei bambini senza DSA li ha assunti durante la gravidanza, come indicato nella tabella seguente.

Nel gruppo dei bambini con DSA, invece, nessuna delle madri ha assunto pro-, pre- o simbiotici durante la gravidanza.

Tabella XI: Utilizzo di pro- pre- u simbiotici durante la gravidanza (P > 0,999).

			Gruppo			
			bambini	bambini	Totale	
			senza DSA	con DSA		
Ha usato integratori pro-, pre- o simbiotici durante la gravidanza?	Si	Conteggio	1	0	1	
		% entro Gruppo	14,3%	,0%	8,3%	
	No	Conteggio	6	5	11	
		% entro Gruppo	85,7%	100,0%	91,7%	
	Totale		Conteggio	7	5	12
			% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Per quanto riguarda i disturbi gastrointestinali durante la gravidanza, l'85,7% delle madri dei bambini senza DSA soffriva di almeno un disturbo gastrointestinale.

Nel gruppo delle madri dei bambini con DSA, il 60% ha avuto sintomi gastrointestinali durante la gravidanza.

Tabella XII: Disturbi gastrointestinali durante la gravidanza (P = 0,523).

			Gruppo		
			bambini	bambini	Totale
			senza DSA	con DSA	
Ha sofferto di sintomi gastrointestinali durante la gravidanza?	Si	Conteggio	6	3	9
		% entro Gruppo	85,7%	60,0%	75,0%
	No	Conteggio	1	2	3
		% entro Gruppo	14,3%	40,0%	25,0%
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Tutte le madri, sia quelle con un bambino con DSA che quelle con un bambino senza DSA, hanno assunto integratori durante la gravidanza, come si può vedere dalla tabella XIII.

La vitamina assunta da tutte le madri è la vitamina B9, cioè l'acido folico (vedi tabella XIV).

Tabella XIII: Assunzione di integratori alimentari durante la gravidanza.

			Gruppo		
			bambini	bambini	
			senza DSA	con DSA	Totale
Ha assunto	Si	Conteggio	7	5	12
integratori		% entro			
durante la		Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%
gravidanza?					
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Tabella XIV: Supplementazione di acido folico durante la gravidanza.

			Gruppo		Totale
			bambini senza DSA	bambini con DSA	
Ha preso la B9 (acido folico) durante la gravidanza?	Si	Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%
Totale			Conteggio	7	5
			% entro Gruppo	100,0%	100,0%

7.2.2. L'alimentazione attuale delle madri

Per quanto riguarda il consumo di acqua nell'ultimo mese, a differenza dei risultati dell'analisi relativa all'alimentazione durante la gravidanza, tutte le madri hanno bevuto acqua del rubinetto nell'ultimo mese, come si può vedere nella tabella sottostante.

Tabella XV: Consumo di acqua del rubinetto nell'ultimo mese nel gruppo delle madri.

			Gruppo		Totale
			bambini senza DSA	bambini con DSA	
Ha bevuto acqua del rubinetto nell'ultimo mese?	Si	Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%
Totale			Conteggio	7	5
			% entro Gruppo	100,0%	100,0%

Per quanto riguarda l'acqua in bottiglia, nessuna delle madri dei bambini senza DSA l'ha consumata nell'ultimo mese.

Nel gruppo delle madri dei bambini con DSA, il 20% delle donne ha bevuto acqua imbottigliata nell'ultimo mese.

Tabella XVI: Consumo di acqua in bottiglia nell'ultimo mese nel gruppo delle madri (P = 0,417).

			Gruppo		
			bambini	bambini	Totale
			senza DSA	con DSA	
Ha bevuto acqua del rubinetto nell'ultimo mese?	No	Conteggio	7	4	11
		% entro Gruppo	100,0%	80,0%	91,7%
	Si	Conteggio	0	1	1
		% entro Gruppo	,0%	20,0%	8,3%
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Così come durante la gravidanza, anche nell'ultimo mese, nessuna delle madri ha seguito una dieta specifica, come mostra la seguente tabella.

Tabella XVII: L'adesione ad una dieta specifica nell'ultimo mese nel gruppo delle madri.

			Gruppo		
			bambini	bambini	Totale
			senza DSA	con DSA	
Ha seguito una dieta specifica nell'ultimo mese?	No	Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Analizzando i dati relativi al consumo di alcol nell'ultimo mese, emerge che nessuna delle madri dei bambini con DSA l'ha bevuto più di una volta.

Nel gruppo delle madri dei bambini senza DSA, più della metà delle donne ha bevuto alcolici da 1-3 volte a settimana nell'ultimo mese.

Tabella XVIII: Consumo di alcolici del mese scorso nel gruppo delle madri (P = 0,008).

			Gruppo		Totale
			bambini senza DSA	bambini con DSA	
Con quale frequenza ha bevuto alcolici nell'ultimo mese?	Mai o meno di 1 volta al mese	Conteggio	1	5	6
		% entro Gruppo	14,3%	100,0%	50,0%
	1 volta al mese	Conteggio	1	0	1
		% entro Gruppo	14,3%	,0%	8,3%
	2-3 volte al mese	Conteggio	1	0	1
		% entro Gruppo	14,3%	,0%	8,3%
	1-3 volte a settimana	Conteggio	4	0	4
		% entro Gruppo	57,1%	,0%	33,3%
	Totale	Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Per quanto riguarda l'uso di pro-, pre- o simbiotici negli ultimi 6 mesi, quasi la metà delle madri dei bambini senza DSA (42,9%) ha assunto almeno uno di tali preparati.

Nel gruppo delle madri dei bambini con DSA, nessuna delle donne ha assunto pro-, pre- o simbiotici negli ultimi sei mesi, come si può vedere dalla seguente tabella.

Tabella XIX: Utilizzo di pro- pre- o simbiotici nel gruppo delle madri negli ultimi sei mesi (P = 0,205).

			Gruppo		
			bambini senza DSA	bambini con DSA	Totale
Ha usato integratori pro-, pre- o simbiotici negli ultimi sei mesi?	Si	Conteggio	3	0	3
		% entro Gruppo	42,9%	,0%	25,0%
	No	Conteggio	4	5	9
		% entro Gruppo	57,1%	100,0%	75,0%
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

L'analisi statistica della presenza di disturbi gastrointestinali mostra che il 57,1% delle donne con un bambino senza DSA ne ha sofferti nell'ultimo mese. Nel gruppo delle donne con un bambino con DSA, il 60% delle madri ha avuto disturbi gastrointestinali nell'ultimo mese.

Tabella XX: Disturbi gastrointestinali nell'ultimo mese nel gruppo delle madri (P > 0,999).

			Gruppo			
			bambini	bambini	Totale	
			senza DSA	con DSA		
Ha sofferto di sintomi gastrointestinali nell'ultimo mese?	Si	Conteggio	4	3	7	
		% entro Gruppo	57,1%	60,0%	58,3%	
	No	Conteggio	3	2	5	
		% entro Gruppo	42,9%	40,0%	41,7%	
	Totale		Conteggio	7	5	12

Nell'analisi statistica della frequenza della defecazione nel gruppo delle madri, sono state combinate alcune opzioni di risposta per ottenere risultati più chiari. Le madri dei bambini senza DSA hanno avuto movimenti intestinali tra tre volte a settimana fino ad una volta al giorno nell'ultimo mese.

Nel gruppo delle madri dei bambini con DSA, le donne hanno avuto movimenti intestinali tra 1-2 volte a settimana fino ad una volta al giorno.

Tabella XXI: Frequenza dei movimenti intestinali delle madri nell'ultimo mese (P = 0,498).

			Gruppo		Totale
			bambini senza DSA	bambini con DSA	
Con quale frequenza è andata in bagno nell'ultimo mese?	1-2 volta/e a settimana	Conteggio	0	1	1
		% entro Gruppo	,0%	20,0%	8,3%
	3-4 volt a settimana	Conteggio	1	1	2
		% entro Gruppo	14,3%	20,0%	16,7%
	5-6 volt a settimana	Conteggio	1	0	1
		% entro Gruppo	14,3%	,0%	8,3%
	1 volta al giorno	Conteggio	5	3	8
		% entro Gruppo	71,4%	60,0%	66,7%
	Totale	Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Guardando alcuni gruppi di alimenti selezionati, i risultati dell'analisi statistica mostrano che il 40% delle madri dei bambini con DSA mangia tra 2-4 porzioni di frutta a settimana.

Il restante 60% consuma tra 5-7 porzioni a settimana.

Nel gruppo delle madri dei bambini senza DSA, più della metà delle donne (57,1%) consuma 2 porzioni di frutta al giorno, il restante 42,9% consuma tra 5-7 porzioni a settimana.

Tabella XXII: Consumo di frutta nel gruppo delle madri nell'ultimo mese (P = 0,021).

			Gruppo		
			bambini	bambini	Totale
			senza DSA	con DSA	
Con quale frequenza ha consumato una porzione di frutta nell'ultimo mese?	2-4 porzioni a settimana	Conteggio	0	2	2
		% entro Gruppo	,0%	40,0%	16,7%
	5-6 porzioni a settimana /	Conteggio	3	3	6
		% entro Gruppo	42,9%	60,0%	50,0%
	Una porzione al giorno	Conteggio	4	0	4
		% entro Gruppo	57,1%	,0%	33,3%
	Totale	Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Analizzando i dati relativi al consumo di verdure cotte, emerge che nel gruppo delle madri dei bambini senza DSA, il 57,1% consumava tra 5-7 porzioni di verdura a settimana, il restante 42,9% consumava meno di queste 5 porzioni a settimana.

Nel gruppo delle madri dei bambini con DSA, il 20% consumava tra 5-7 porzioni di verdura cotta a settimana e il restante 80% mangiava meno di 5 porzioni a settimana.

Una porzione è stata definita sulla base delle porzioni standard secondo i LARN, e corrisponde quindi a 200g di verdura o 80g di lattuga (Società Italiana di Nutrizione Umana, 2014b).

Tabella XXIII: Consumo di verdure cotte nell'ultimo mese nel gruppo delle madri (P = 0,280).

			Gruppo		
			bambini	bambini	Totale
			senza DSA	con DSA	
Con quale frequenza ha consumato una porzione di verdura cotta nell'ultimo mese?	Mai / 1-3 volte nell'ultimo mese	Conteggio	2	1	3
		% entro Gruppo	28,6%	20,0%	25,0%
	2-4 porzioni a settimana	Conteggio	1	3	4
		% entro Gruppo	14,3%	60,0%	33,3%
	5-6 porzioni a settimana / una porzione al giorno	Conteggio	4	1	5
		% entro Gruppo	57,1%	20,0%	41,7%
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Per quanto riguarda il consumo di verdure crude, nel gruppo delle madri dei bambini senza DSA, il 14,3% nell'ultimo mese ha consumato da una a quattro porzioni a settimana, il 71,4% ha consumato 5-7 porzioni a settimana e il 14,3% ha consumato 2 porzioni al giorno.

Nel gruppo delle madri dei bambini con DSA, il 20% non ha mangiato verdure crude il mese scorso, il 60% ha mangiato da una a quattro porzioni a settimana e il restante 20% ha consumato tra 5-7 porzioni a settimana.

Tabella XXIV: Consumo di verdure crude nell'ultimo mese nel gruppo delle madri (P = **0,027**).

		Gruppo			
			bambini senza DSA	bambini con DSA	Totale
Con quale frequenza ha consumato una porzione di verdura cruda nell'ultimo mese?	Mai	Conteggio	0	1	1
		% entro Gruppo	,0%	20,0%	8,3%
	1 porzione alla settimana /	Conteggio	1	3	4
		% entro Gruppo	14,3%	60,0%	33,3%
	2-4 porzioni a settimana	Conteggio	5	1	6
		% entro Gruppo	71,4%	20,0%	50,0%
	5-6 porzioni a settimana / una porzione al giorno	Conteggio	1	0	1
		% entro Gruppo	14,3%	,0%	8,3%
	2 porzioni al giorno	Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

L'analisi del consumo di alimenti amidacei mostra che nel gruppo delle madri dei bambini senza DSA, il 14,3% nell'ultimo mese ha consumato una porzione al giorno, il 57,1% ha consumato due porzioni e il 28,6% ne ha consumati 3 porzioni al giorno.

Nel gruppo delle madri dei bambini con DSA, il 20% ha consumato una porzione al giorno, il 60% ha consumato due porzioni e il restante 20% ne ha consumati tre.

Le porzioni sono state definite come segue: per la pasta una porzione corrisponde a 80g, per il pane 50g e per le patate 200g.

Tabella XXV: Consumo di alimenti amidacei nel gruppo delle madri nell'ultimo mese (P = 0,714).

			Gruppo			
			bambini	bambini		
			senza DSA	con DSA	Totale	
Con quale frequenza ha consumato alimenti amidacei nell'ultimo mese?	Una porzione al giorno	Conteggio	1	1	2	
		% entro Gruppo	14,3%	20,0%	16,7%	
	2 porzioni al giorno	Conteggio	4	3	7	
		% entro Gruppo	57,1%	60,0%	58,3%	
	3 porzioni al giorno	Conteggio	2	1	3	
		% entro Gruppo	28,6%	20,0%	25,0%	
	Totale		Conteggio	7	5	12
			% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Per quanto riguarda il consumo di prodotti integrali, il 42,9% delle madri dei bambini senza DSA, nell'ultimo mese ha consumato tra lo 0 e il 25% della quantità totale di prodotti cerealicoli nella variante integrale.

Il restante 57,1% delle madri dei bambini senza DSA ha consumato più del 25% dei prodotti a base di cereali come prodotti integrali.

Nelle madri dei bambini con DSA, invece, nessuna delle donne ha consumato più del 25% dei prodotti cerealicoli come prodotti integrali.

Tabella XXVI: Assunzione di prodotti integrali nel gruppo delle madri (P = 0,081).

			Gruppo		
			Bambini	bambini	Totale
			senza DSA	con DSA	
Quanti dei cereali e dei prodotti a base di cereali che ha consumato nell'ultimo mese erano prodotti integrali?	0-25%	Conteggio	3	5	8
		% entro Gruppo	42,9%	100,0%	66,7%
	26-90%	Conteggio	4	0	4
		% entro Gruppo	57,1%	,0%	33,3%
	Totale	Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

7.3. Nutrizione del bambino

7.3.1. Allattamento e introduzione di alimenti solidi

Per quanto riguarda la durata dell'allattamento al seno, come indicato nella seguente tabella, il 71,4% dei bambini senza DSA è stato allattato al seno per 33 o più settimane, compresa l'introduzione di alimenti complementari.

Nel gruppo dei bambini con DSA, il 40% è stato allattato al seno per ≥ 33 settimane, compresa l'introduzione di alimenti complementari.

Tabella XXVII: Tempo di allattamento al seno, compresa l'introduzione di alimenti complementari (P = 0,522).

			Gruppo		
			bambini	bambini	
			senza DSA	con DSA	Totale
Per quanto	Fino alla	Conteggio	2	1	3
tempo ha	settimana	% entro			
allattato il suo	12	Gruppo	28,6%	20,0%	25,0%
bambino	Fino alla	Conteggio	0	2	2
(compreso	settimana	% entro			
durante	13 - 32	Gruppo	,0%	40,0%	16,7%
l'introduzione	Fino alla	Conteggio	5	2	7
di alimenti	settimana	% entro			
solidi)?	33 e oltre	Gruppo	71,4%	40,0%	58,3%
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro			
		Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Se invece si analizza solo il periodo in cui i bambini sono stati allattati esclusivamente al seno, il 28,6% dei bambini senza DSA è stato allattato esclusivamente al seno per 4 - 12 settimane, il restante 71,4% per 13 - 24 settimane.

Nel gruppo dei bambini con DSA, il 40% dei bambini è stato allattato esclusivamente al seno per 4-12 settimane e il 60% per 13-24 settimane.

Tabella XXVIII: Tempo di allattamento esclusivo (P > 0,999).

			Gruppo		
			bambini	bambini	
			senza DSA	con DSA	Totale
Per quanto tempo il bambino ha ricevuto esclusivamente latte materno?	Per 4 - 12 settimane	Conteggio	2	2	4
		% entro Gruppo	28,6%	40,0%	33,3%
	Per 13 - 24 settimane	Conteggio	5	3	8
		% entro Gruppo	71,4%	60,0%	66,7%
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Un confronto tra i due gruppi a riguardo dell'uso dei lattini in formula, ha mostrato che il 28,6% dei bambini senza DSA è stato alimentato con latte in formula. Tra i bambini con DSA, il 60% è stato nutrito con il latte artificiale.

Tabella XXIX: Alimentazione con latte artificiale (P = 0,558).

			Gruppo			
			bambini	bambini	Totale	
			senza DSA	con DSA		
Il suo bambino è stato alimentato con il latte artificiale?	Si	Conteggio	2	3	5	
		% entro Gruppo	28,6%	60,0%	41,7%	
	No	Conteggio	5	2	7	
		% entro Gruppo	71,4%	40,0%	58,3%	
	Totale		Conteggio	7	5	12
			% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Per quanto riguarda l'introduzione di alimenti solidi, alle madri è stato chiesto per vari alimenti o gruppi di alimenti, in quale settimana di vita li hanno offerti per la prima volta ai loro figli.

Gli alimenti e i gruppi di alimenti analizzati sono i seguenti: verdure, patate, carne, pesce, cereali senza glutine, cereali contenenti glutine, latte vaccino e frutta.

Analizzando i risultati relativi all'introduzione delle verdure, è emerso che nel gruppo dei bambini senza DSA, il 14,3% ha assunto verdure per la prima volta tra l'8° e la 12° settimana, il 28,6% tra la 17° e la 20° settimana e il restante 57,1% tra la 21° e la 24° settimana.

Nel gruppo dei bambini con DSA, al 60% dei bambini la verdura è stata offerta per la prima volta tra la 17° e la 20° settimana, al restante 40% tra la 21° e la 24° settimana.

Tabella XXX: Svezamento: introduzione di verdure (P = 0,786).

			Gruppo		
			bambini senza DSA	bambini con DSA	Totale
In quale settimana ha introdotto le verdure?	Tra la settimana	Conteggio	1	0	1
	8 - 12	% entro Gruppo	14,3%	,0%	8,3%
	Tra la settimana	Conteggio	2	3	5
	17 - 20	% entro Gruppo	28,6%	60,0%	41,7%
	Tra la settimana	Conteggio	4	2	6
	21 - 24	% entro Gruppo	57,1%	40,0%	50,0%
	Totale		7	5	12
			% entro Gruppo	100,0%	100,0%

Per quanto riguarda le patate, nel gruppo dei bambini senza DSA, il 14,3% dei bambini ha assunto patate per la prima volta tra l'8° e la 12° settimana, il 14,3% tra la 17° e la 20° settimana, il 57,1% tra la 21° e la 24° settimana e il restante 14,3% tra la 25° e la 28° settimana.

Dei bambini con DSA, il 60% ha consumato patate per la prima volta tra la 17° e la 20° settimana, il 20% tra la 21° e la 24° settimana e il restante 20% tra la 25° e la 28° settimana.

Tabella XXXI: Svezamento: introduzione di patate (P = 0,667).

			Gruppo		Totale
			bambini senza DSA	bambini con DSA	
In quale settimana ha introdotto le patate?	Tra la settimana	Conteggio	1	0	1
	8 - 12	% entro Gruppo	14,3%	,0%	8,3%
	Tra la settimana	Conteggio	1	3	4
	17 - 20	% entro Gruppo	14,3%	60,0%	33,3%
	Tra la settimana	Conteggio	4	1	5
	21 - 24	% entro Gruppo	57,1%	20,0%	41,7%
	Tra la settimana	Conteggio	1	1	2
	25 - 28	% entro Gruppo	14,3%	20,0%	16,7%
	Totale		Conteggio	7	5
			% entro Gruppo	100,0%	100,0%

Per quanto riguarda l'introduzione della frutta, l'analisi statistica evidenzia che nel gruppo dei bambini senza DSA, il 14,3% ha assunto frutta per la prima volta tra la 13° e la 16° settimana, il 28,6% tra la 17° e la 20° settimana, un altro 28,6% tra la 21° e la 24° settimana e il restante 28,6% tra la 25° e la 28° settimana.

Dei bambini con DSA, il 20% ha consumato la frutta per la prima volta tra la 13° e la 16° settimana, il 40% tra la 17° e la 20° settimana, il 20% tra la 21° e la 24° settimana e il restante 20% tra la 33° e la 36° settimana.

Tabella XXXII: Svezamento: Introduzione di frutta (P = 0,738).

			Gruppo		
			bambini senza DSA	bambini con DSA	Totale
In quale settimana ha introdotto la frutta?	Tra la settimana	Conteggio	1	1	2
	13 - 16	% entro Gruppo	14,3%	20,0%	16,7%
	Tra la settimana	Conteggio	2	2	4
	17 - 20	% entro Gruppo	28,6%	40,0%	33,3%
	Tra la settimana	Conteggio	2	1	3
	21 - 24	% entro Gruppo	28,6%	20,0%	25,0%
	Tra la settimana	Conteggio	2	0	2
	25 - 28	% entro Gruppo	28,6%	,0%	16,7%
	Tra la settimana	Conteggio	0	1	1
	33 - 36	% entro Gruppo	,0%	20,0%	8,3%
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Analizzando i dati relativi all'introduzione della carne, è emerso che nel gruppo dei bambini senza DSA, il 14,3% ha ricevuto carne per la prima volta tra l'8° e la 12° settimana, il 14,3% tra la 17° e la 20° settimana, il 28,6% tra la 21° e la 24° settimana, il 28,6% tra la 25° e la 28° settimana e il restante 14,3% tra la 33° e la 36° settimana.

Nel gruppo dei bambini con DSA, il 20% ha assunto carne per la prima volta tra la 17° e la 20° settimana, il 40% tra la 21° e la 24° settimana, il 20% tra la 25° e la 28° settimana e il restante 20% tra la 29° e la 32° settimana.

Tabella XXXIII: Svezamento: introduzione della carne (P = 0,868).

			Gruppo		
			bambini	bambini	
			senza DSA	con DSA	Totale
In quale settimana ha introdotto la carne?	Tra la settimana	Conteggio	1	0	1
	8 - 12	% entro Gruppo	14,3%	,0%	8,3%
	Tra la settimana	Conteggio	1	1	2
	17 - 20	% entro Gruppo	14,3%	20,0%	16,7%
	Tra la settimana	Conteggio	2	2	4
	21 - 24	% entro Gruppo	28,6%	40,0%	33,3%
	Tra la settimana	Conteggio	2	1	3
	25 - 28	% entro Gruppo	28,6%	20,0%	25,0%
	Tra la settimana	Conteggio	0	1	1
	29 - 32	% entro Gruppo	,0%	20,0%	8,3%
	Tra la settimana	Conteggio	1	0	1
	33 - 36	% entro Gruppo	14,3%	,0%	8,3%
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

L'introduzione del pesce è stata effettuata nel 14,3% dei bambini senza DSA tra l'8° e la 12° settimana, in un altro 14,3% tra la 17° e la 20° settimana, nel 14,3% tra la 25° e la 28° settimana, in un altro 14,3% tra la 29° e la 32° settimana, nel 28,6% tra la 33° e la 36° settimana e nel restante 14,3% dopo la 45° settimana di vita.

Nel gruppo dei bambini con DSA, il 20% ha assunto pesce per la prima volta tra la 17° e la 20° settimana, il 40% tra la 21° e la 24° settimana, il 20% tra la 25° e la 28° settimana e il restante 20% ha assunto pesce dopo la 45° settimana.

Tabella XXXIV: Svezamento: Introduzione del pesce (P = 0,623).

			Gruppo		
			bambini senza DSA	bambini con DSA	Totale
In quale settimana ha introdotto il pesce?	Tra la settimana	Conteggio	1	0	1
	8 - 12	% entro Gruppo	14,3%	,0%	8,3%
	Tra la settimana	Conteggio	1	1	2
	17 - 20	% entro Gruppo	14,3%	20,0%	16,7%
	Tra la settimana	Conteggio	0	2	2
	21 - 24	% entro Gruppo	,0%	40,0%	16,7%
	Tra la settimana	Conteggio	1	1	2
	25 - 28	% entro Gruppo	14,3%	20,0%	16,7%
	Tra la settimana	Conteggio	1	0	1
	29 - 32	% entro Gruppo	14,3%	,0%	8,3%
	Tra la settimana	Conteggio	2	0	2
	33 - 36	% entro Gruppo	28,6%	,0%	16,7%
	Dopo la	Conteggio	1	1	2
	settimana 45	% entro Gruppo	14,3%	20,0%	16,7%
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

L'analisi statistica relativa all'introduzione dei cereali senza glutine ha mostrato che il 14,3% dei bambini senza DSA ha assunto cereali senza glutine per la prima volta tra l'8° e la 12° settimana, il 28,6% tra la 17° e la 20° settimana, un altro 28,6% tra la 21° e la 24° settimana e il restante 28,6% tra la 25° e la 28° settimana.

Nel gruppo dei bambini con DSA, il 40% ha consumato cereali senza glutine per la prima volta tra la 17° e la 20° settimana, un altro 40% tra la 21° e la 24° settimana e il restante 20% tra la 33° e la 36° settimana.

Tabella XXXV: Svezamento: introduzione di cereali senza glutine (0,800).

			Gruppo		
			bambini senza DSA	bambini con DSA	Totale
In quale settimana ha introdotto i cereali senza glutine?	Tra la settimana 8 - 12	Conteggio	1	0	1
		% entro Gruppo	14,3%	,0%	8,3%
	Tra la settimana 17 - 20	Conteggio	2	2	4
		% entro Gruppo	28,6%	40,0%	33,3%
	Tra la settimana 21 - 24	Conteggio	2	2	4
		% entro Gruppo	28,6%	40,0%	33,3%
	Tra la settimana 25 - 28	Conteggio	2	0	2
		% entro Gruppo	28,6%	,0%	16,7%
	Tra la settimana 33 - 36	Conteggio	0	1	1
		% entro Gruppo	,0%	20,0%	8,3%
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Per quanto riguarda l'introduzione dei cereali contenenti glutine, ovvero di frumento, segale, farro, orzo, farro verde, *Triticum monococcum* ("piccolo farro"), *Triticum dicoccum* ("farro medio", "emmer"), kamut e tritcale, l'analisi statistica ha portato alle seguenti conclusioni:

nel gruppo dei bambini senza DSA, il 14,3% ha assunto cereali contenenti glutine per la prima volta tra l'8° e la 12° settimana, il 28,6% tra la 21° e la 24° settimana, il 42,9% tra la 25° e la 28° settimana e il restante 14,3% dopo la 45° settimana.

Tra i bambini con DSA, il 20% ha consumato per la prima volta cereali contenenti glutine tra la 17° e la 20° settimana, il 40% tra la 21° e la 24° settimana, il 20% tra la 29° e la 32° settimana e il restante 20% tra la 37° e la 40° settimana.

Tabella XXXVI: Svezamento: introduzione di cereali contenenti glutine (0,934).

			Gruppo		
			bambini	bambini	
			senza DSA	con DSA	Totale
In quale settimana ha introdotto i cereali che contengono glutine?	Tra la settimana	Conteggio	1	0	1
	8 - 12	% entro Gruppo	14,3%	,0%	8,3%
	Tra la settimana	Conteggio	0	1	1
	17 - 20	% entro Gruppo	,0%	20,0%	8,3%
	Tra la settimana	Conteggio	2	2	4
	21 - 24	% entro Gruppo	28,6%	40,0%	33,3%
	Tra la settimana	Conteggio	3	0	3
	25 - 28	% entro Gruppo	42,9%	,0%	25,0%
	Tra la settimana	Conteggio	0	1	1
	29 - 32	% entro Gruppo	,0%	20,0%	8,3%
	Tra la settimana	Conteggio	0	1	1
	37 - 40	% entro Gruppo	,0%	20,0%	8,3%
	Dopo la settimana 45	Conteggio	1	0	1
		% entro Gruppo	14,3%	,0%	8,3%
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Analizzando i dati relativi all'introduzione del latte vaccino, è emerso che tutti i bambini senza DSA lo hanno ricevuto solo dopo la 45° settimana.

Nel gruppo dei bambini con DSA, al 20% dei bambini il latte vaccino è già stato offerto per la prima volta tra la 25° e la 28° settimana, ad un altro 20% tra la 29° e la 32° settimana e al restante 60% dopo la 45° settimana.

Tabella XXXVII: Svezamento: introduzione del latte vaccino (P = 0,081).

			Gruppo		
			bambini	bambini	Totale
			senza DSA	con DSA	
In quale settimana ha introdotto il latte?	Tra la settimana	Conteggio	0	1	1
	25 - 28	% entro Gruppo	0,0%	20,0%	8,3%
	Tra la settimana	Conteggio	0	1	1
	29 - 32	% entro Gruppo	0,0%	20,0%	8,3%
	Dopo la	Conteggio	7	3	10
	settimana 45	% entro Gruppo	100,0%	60,0%	83,3%
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

7.3.2. L'alimentazione attuale dei bambini

Analizzando l'assunzione di acqua dei bambini nell'ultimo mese, è emerso che in entrambi i gruppi, tutti i partecipanti hanno bevuto acqua del rubinetto.

Tabella XXXVIII: Consumo di acqua del rubinetto nel gruppo dei bambini nell'ultimo mese.

			Gruppo		
			bambini	bambini	Totale
			senza DSA	con DSA	
Il bambino ha bevuto acqua del rubinetto nell'ultimo mese?	Si	Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Confrontando ora il consumo di acqua in bottiglia tra i due gruppi, nessuno dei bambini senza DSA l'ha bevuto nell'ultimo mese.

Nel gruppo dei bambini con DSA, il 20% ha bevuto acqua in bottiglia, come si può vedere dalla tabella sottostante.

Tabella XXXIX: Consumo di acqua in bottiglia nel gruppo dei bambini nell'ultimo mese (P = 0,417).

			Gruppo		Totale
			bambini senza DSA	bambini con DSA	
Il bambino ha bevuto acqua in bottiglia nell'ultimo mese?	No	Conteggio	7	4	11
		% entro Gruppo	100,0%	80,0%	91,7%
	Si	Conteggio	0	1	1
		% entro Gruppo	,0%	20,0%	8,3%
	Totale	Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Analizzando i dati relativi all'uso di pro-, pre- o simbiotici negli ultimi 6 mesi, è emerso che il 28,6% dei bambini senza DSA ha assunto almeno uno di tali preparati.

Nel gruppo dei bambini con DSA, il 20% ha assunto pro-, pre- o simbiotici negli ultimi 6 mesi, come si può vedere dalla seguente tabella.

Tabella XL: Utilizzo di pro-, pre- e simbiotici nel gruppo dei bambini negli ultimi 6 mesi (P > 0,999).

			Gruppo		Totale
			bambini senza DSA	bambini con DSA	
Il bambino ha usato integratori pro-, pre- o simbiotici negli ultimi 6 mesi?	Si	Conteggio	2	1	3
		% entro Gruppo	28,6%	20,0%	25,0%
	No	Conteggio	5	4	9
		% entro Gruppo	71,4%	80,0%	75,0%
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Nell'analisi statistica della frequenza della defecazione nel gruppo dei bambini, sono state combinate alcune opzioni di risposta per ottenere risultati più chiari. Tutte i bambini senza DSA hanno avuto movimenti intestinali regolari nell'ultimo mese (tre volte al giorno - ogni tre giorni).

Uno dei bambini con DSA è andato in bagno minimo quattro volte al giorno nell'ultimo mese.

Tabella XLI: Frequenza dei movimenti intestinali nel gruppo dei bambini nell'ultimo mese (P = 0,524).

			Gruppo			
			bambini	bambini	Totale	
			senza DSA	con DSA		
Con quale frequenza il bambino è andato in bagno nell'ultimo mese?	3-4 volte a settimana	Conteggio	2	0	2	
		% entro Gruppo	28,6%	,0%	16,7%	
	5-6 volte a settimana / 1 volta al giorno	Conteggio	3	4	7	
		% entro Gruppo	42,9%	80,0%	58,3%	
	2 volte al giorno	Conteggio	2	0	2	
		% entro Gruppo	28,6%	,0%	16,7%	
	4 e più volte al giorno	Conteggio	0	1	1	
		% entro Gruppo	,0%	20,0%	8,3%	
	Totale		Conteggio	7	5	12
			% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Per quanto riguarda l'assunzione dei diversi alimenti da parte dei bambini nell'ultimo mese, le seguenti tabelle descrivono alcuni gruppi di alimenti selezionati.

Al riguardo del consumo di frutta, una porzione per i bambini dai 4 ai 6 anni è stata definita con 80g, per i bambini dai 7 ai 10 anni con 100g.

Nell'analisi statistica di questa domanda, alcune possibili risposte sono state combinate per ottenere risultati più chiari.

I risultati ottenuti mostrano, tra l'altro, che nel gruppo dei bambini con un DSA il 20% ha consumato 2 porzioni di frutta al giorno nell'ultimo mese.

Nel gruppo dei bambini senza DSA, invece, più della metà dei bambini (57,1%) ha consumato 2 porzioni di frutta al giorno, raggiungendo così le raccomandazioni di Crea (2017) di 2-3 porzioni giornaliere.

Tabella XLII: Consumo di frutta nel gruppo dei bambini dell'ultimo mese (P = 0,119).

			Gruppo		
			bambini senza DSA	bambini con DSA	Totale
Con quale frequenza il bambino ha consumato una porzione di frutta nell'ultimo mese?	Mai /una porzione a settimana / 2-4 porzioni a settimana	Conteggio	1	3	4
		% entro Gruppo	14,3%	60,0%	33,3%
	5-6 porzioni a settimana / una porzione al giorno	Conteggio	2	1	3
		% entro Gruppo	28,6%	20,0%	25,0%
	2 porzioni al giorno	Conteggio	4	1	5
		% entro Gruppo	57,1%	20,0%	41,7%
	Totale	Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Per quanto riguarda l'assunzione di verdure, una porzione, sempre adottato dai valori di riferimento della Crea (2017), corrisponde a 120g / 150g di verdura o 40g / 50g di verdura a foglia (per bambini da 4-6 anni / bambini da 7-10 anni).

I risultati dell'analisi statistica mostrano, che nel gruppo dei bambini con DSA il 40% consumava tra 5-7 porzioni di verdura cotta a settimana, mentre nel gruppo dei bambini senza DSA il 28,6%.

Tabella XLIII: Consumo di verdure cotte nel gruppo dei bambini nell'ultimo mese (P = 0,517).

		Gruppo			
			bambini	bambini	
			senza DSA	con DSA	Totale
Con quale frequenza il bambino ha consumato una porzione di verdura cotta nell'ultimo mese?	Mai /	Conteggio	1	1	2
	1-3 volte	% entro			
	nell'ultimo	Gruppo	14,3%	20%	16,7%
	mese				
	Una porzione	Conteggio	4	2	6
	a settimana /	% entro			
	2-4 porzioni	Gruppo	57,1%	40,0%	50%
	a settimana				
	5-6 porzioni	Conteggio	2	2	4
	a settimana /	% entro			
	una porzione	Gruppo	28,6%	40,0%	33,3%
	al giorno				
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro			
		Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Per quanto riguarda il consumo di verdure crude nel gruppo dei bambini con DSA, il 60% dei bambini ha mangiato verdure crude al massimo tre volte al mese, il restante 40% ha consumato tra due e quattro porzioni di verdure crude a settimana.

Nel gruppo dei bambini senza DSA, il 14,3% ha mangiato verdure crude al massimo tre volte al mese, un altro 14,3% ha mangiato verdure crude tra due e quattro volte a settimana e il restante 71,4% ha mangiato tra cinque porzioni a settimana e due porzioni al giorno di verdura cruda nell'ultimo mese.

Nel grafico a barre sottostante, i risultati relativi al consumo di verdure crude sono presentati in modo illustrativo.

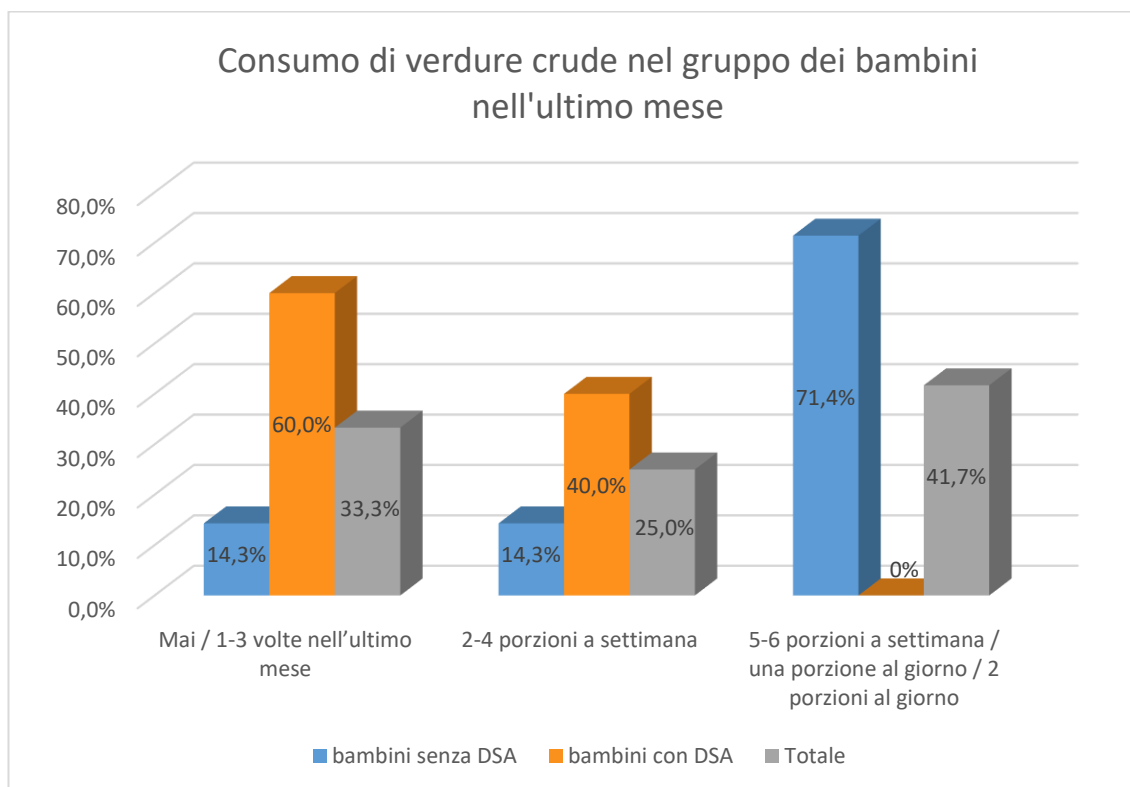


Figura 21: Consumo di verdure crude nel gruppo dei bambini nell'ultimo mese (P = 0,025).

Per quanto riguarda l'assunzione di alimenti amidacei, cioè pasta, riso, mais, grano saraceno, farina d'avena, orzo, farro, ecc., così come pane e patate, il 57,1% dei bambini senza DSA ha consumato quattro porzioni al giorno nell'ultimo mese.

Nel gruppo dei bambini con DSA, invece, la maggioranza (80%) ha consumato tre porzioni al giorno nell'ultimo mese.

Le porzioni sono state definite come segue: per la pasta 50g / 70g, per il pane 40g / 50g e per le patate 100g / 150g.

Tabella XLIV: Assunzione di alimenti amidacei nel gruppo dei bambini (P = 0,189).

			Gruppo			
			bambini	bambini	Totale	
			senza DSA	con DSA		
Con quale frequenza il bambino ha consumato alimenti amidacei nell'ultimo mese?	2 porzioni al giorno	Conteggio	1	0	1	
		% entro Gruppo	14,3%	,0%	8,3%	
	3 porzioni al giorno	Conteggio	1	4	5	
		% entro Gruppo	14,3%	80,0%	41,7%	
	4 porzioni al giorno	Conteggio	4	1	5	
		% entro Gruppo	57,1%	20,0%	41,7%	
	5 e più porzioni al giorno	Conteggio	1	0	1	
		% entro Gruppo	14,3%	,0%	8,3%	
	Totale		Conteggio	7	5	12
			% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

Per quanto riguarda il consumo di prodotti integrali, il 57,1% nel gruppo dei bambini senza DSA ha consumato tra lo 0% e il 25% della quantità totale di prodotti cerealicoli assunti nell'ultimo mese nella variante integrale.

Il restante 42,9% dei bambini senza DSA ha consumato più della metà dei prodotti a base di cereali come prodotti integrali.

Nel gruppo dei bambini con DSA, invece, nessun bambino ha consumato più del 25% dei prodotti a base di cereali come prodotto integrale.

Tabella XLV: Assunzione di prodotti integrali nel gruppo dei bambini (P = 0,205).

			Gruppo		
			bambini	bambini	
			senza DSA	con DSA	Totale
Quanti dei cereali e dei prodotti a base di cereali che il bambino ha consumato nell'ultimo mese erano prodotti integrali?	0-25%	Conteggio	4	5	9
		% entro Gruppo	57,1%	100,0%	75,0%
	51-75%	Conteggio	3	0	3
		% entro Gruppo			
			42,9%	,0%	25,0%
Totale		Conteggio	7	5	12
		% entro Gruppo	100,0%	100,0%	100,0%

7.4. Calcolo della distribuzione dei macronutrienti e dell'assunzione di fibre alimentari

A partire dai risultati del FFQ, per ogni singolo partecipante è stato calcolato l'apporto di macronutrienti in percentuale, così come l'apporto di fibra alimentare in grammi nell'ultimo mese.

I risultati mostrano che le madri dei bambini senza DSA hanno assunto in media 1734 Kcal al giorno.

In termini di apporto energetico totale, hanno consumato in media il 33,7% sotto forma di grassi, il 15,5% sotto forma di proteine e il 50,7% sotto forma di carboidrati.

L'assunzione media giornaliera di fibre alimentari delle madri dei bambini senza DSA era di 20,6 g.

Nel gruppo delle madri dei bambini con DSA, le donne hanno consumato in media 1714 Kcal al giorno nell'ultimo mese.

In termini di apporto energetico totale, hanno consumato in media il 36,8% sotto forma di grassi, il 16,8% sotto forma di proteine e il 46,4% sotto forma di carboidrati.

L'assunzione media giornaliera di fibre alimentari delle madri dei bambini con DSA nell'ultimo mese era di 15,6 g.

Tabella XLVI: Assunzione di macronutrienti in percentuale e di fibre alimentari in grammi nel gruppo delle madri nell'ultimo mese.

Gruppo		Energia totale in Kcal	Grassi in %	Proteine in %	CHO in %	Fibra in grammi
Madri dei bambini senza DSA	N	7	7	7	7	7
	Media	1733,57	33,743	15,529	50,729	20,57
	Mediana	1696,00	33,600	15,600	50,600	22,00
	Minimo	1603	31,5	14,1	48,6	14
	Massimo	1878	35,4	17,2	52,3	24
	Dev. std.	109,020	1,3464	1,0468	1,4545	3,552
Madri dei bambini con DSA	N	5	5	5	5	5
	Media	1714,00	36,800	16,800	46,400	15,60
	Mediana	1713,00	36,400	16,300	46,000	13,00
	Minimo	1630	32,0	13,3	40,3	12
	Massimo	1791	41,6	20,4	54,7	22
	Dev. std	58,159	3,4387	2,6439	5,4420	4,278
Totale	N	12	12	12	12	12
	Media	1725,42	35,017	16,058	48,925	18,50
	Mediana	1707,50	34,650	15,950	49,800	19,00
	Minimo	1603	31,5	13,3	40,3	12
	Massimo	1878	41,6	20,4	54,7	24
	Dev. std.	88,399	2,7869	1,8889	4,1099	4,482
<i>P-value</i>		,935	,061	,290	,088	,041

Il seguente diagramma mostra ancora una volta l'apporto di fibre in grammi per i due gruppi "Madri dei bambini senza DSA" e "Madri dei bambini con DSA", così come per l'intero gruppo delle madri.

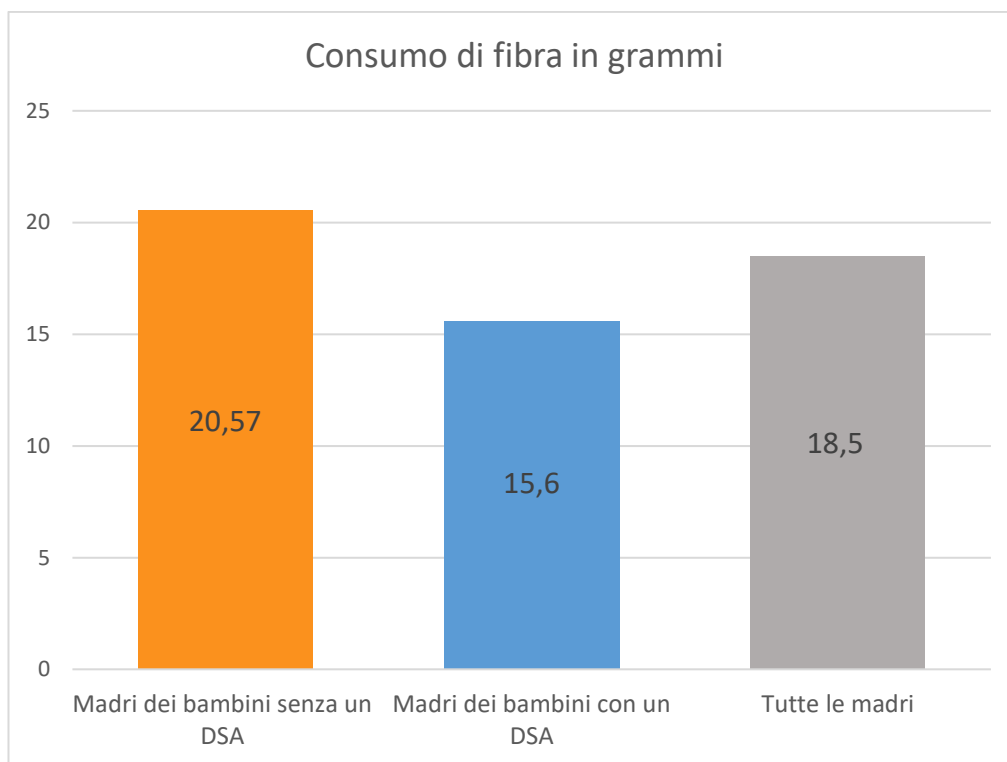


Figura 22: Assunzione di fibre alimentari in grammi nel gruppo delle madri nell'ultimo mese ($P = 0,041$)

Eseguendo la stessa analisi nel gruppo dei bambini, sono stati ottenuti i seguenti risultati:

in termini di apporto energetico totale, i bambini senza DSA hanno assunto in media 1722 Kcal / giorno e i bambini con DSA 1633 Kcal / giorno. È necessario prestare attenzione nella valutazione dell'apporto calorico, poiché il fabbisogno varia a seconda dell'età e i bambini con DSA hanno anche un'età media inferiore.

Per quanto riguarda la distribuzione dei macronutrienti, i bambini senza DSA nell'ultimo mese hanno consumato in media il 32,5% dell'energia totale sotto forma di grassi, il 14,5% sotto forma di proteine e il 52,9% sotto forma di carboidrati.

I bambini con DSA, invece, hanno consumato il 33,8% dell'energia totale sotto forma di grassi, il 13,9% sotto forma di proteine e il 52,3% sotto forma di carboidrati.

L'assunzione media di fibre alimentari è stata di 17,7g nel gruppo dei bambini senza DSA e di 13,2g nel gruppo dei bambini con DSA.

Tabella XLVII: Assunzione di macronutrienti in percentuale e di fibre alimentari in grammi nel gruppo dei bambini.

Gruppo		Energia totale in Kcal	Grassi in %	Proteine in %	CHO in %	Fibra in grammi
bambini senza DSA	N	7	7	7	7	7
	Media	1721,71	32,514	14,543	52,943	17,71
	Mediana	1719,00	32,600	15,000	52,900	18,00
	Minimo	1618	28,8	12,6	48,2	15
	Massimo	1900	37,9	15,8	57,2	22
	Dev. std.	95,170	3,3073	1,2232	3,0210	2,628
Bambini con DSA	N	5	5	5	5	5
	Media	1632,60	33,780	13,900	52,320	13,20
	Mediana	1642,00	33,500	14,700	53,400	12,00
	Minimo	1551	29,7	11,0	47,7	9
	Massimo	1706	39,0	15,7	55,5	17
	Dev. std	65,071	3,4838	1,8344	3,1011	3,633
Totale	N	12	12	12	12	12
	Media	1684,58	33,042	14,275	52,683	15,83
	Mediana	1686,00	33,050	14,750	53,150	16,50
	Minimo	1551	28,8	11,0	47,7	9
	Massimo	1900	39,0	15,8	57,2	22
	Dev. std.	92,659	3,2870	1,4661	2,9288	3,738
<i>P-value</i>		,088	,465	,416	,935	,060

7.5. Risultati del sequenziamento

I campioni fecali ottenuti dalle madri e dai bambini sono stati confrontati tra loro mediante il sequenziamento del gene batterico 16S rRNA, tenendo conto di alcuni parametri.

Per le madri: autismo del bambino, nata a termine, obesità in gravidanza, sottopeso alla nascita, ipertensione, diabete, assunzione di farmaci, assunzione di antibiotici; gravidanza del bambino: allattamento, obesità, sottopeso, ipertensione, diabete, assunzione di farmaci e assunzione di antibiotici.

Per i bambini: autismo del bambino, nato a termine, parto naturale, allattamento, sottopeso alla nascita, ipertensione, diabete, assunzione di farmaci alla nascita, assunzione di antibiotici alla nascita, assunzione di antibiotici dopo la nascita.

A livello di Phylum sono state evidenziate le seguenti abbondanze relative per le madri dei bambini senza DSA: Firmicutes 59%, Bacteroidetes 28%, Proteobacteria 4%, Actinobacteria 1%, Verrucomicrobia 1.7%, Tenericutes 5% e Cyanobacteria 0%. Di contro, nelle madri dei bambini con DSA, sono state evidenziate le seguenti percentuali: Firmicutes 58%, Bacteroidetes 24%, Proteobacteria 6%, Actinobacteria 2.75%, Verrucomicrobia 4%, Tenericutes 2.8% e Cyanobacteria 2% (vedi figura 23).

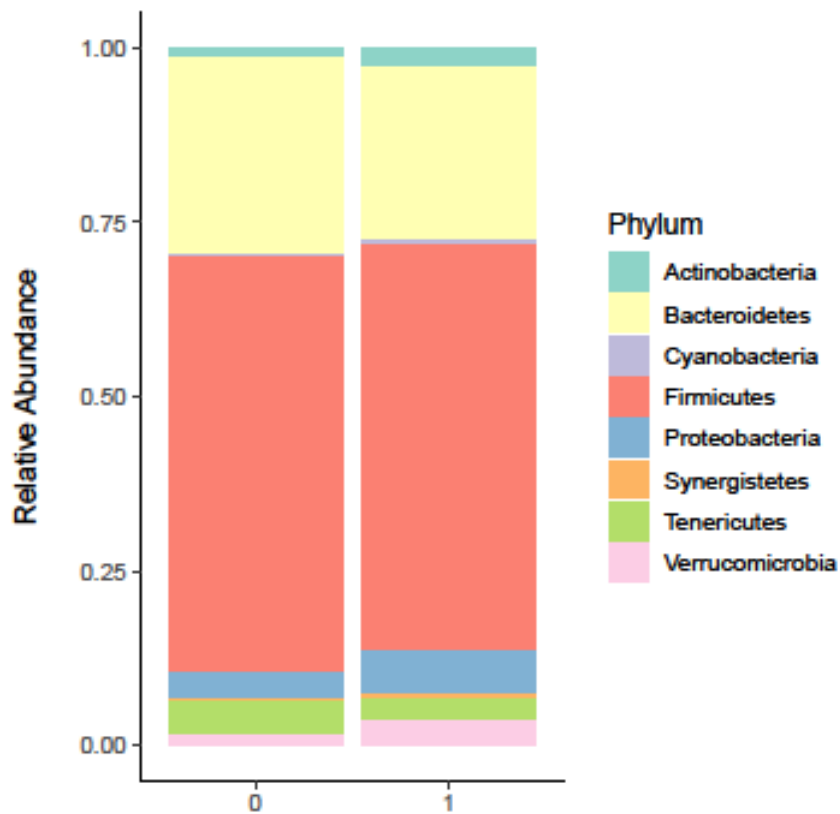


Figura 23: abbondanze relative a livello di Phylum relative alle sequenze ottenute da campioni fecali delle madri; Legenda: 0=NON-DNA; 1=DNA.

A livello di Phylum sono state evidenziate le seguenti percentuali per i bambini non affetti da DNA: Firmicutes 40%, Bacteroidetes 36%, Proteobacteria 17%, Actinobacteria 0.5%, Verrucomicrobia 2%, Tenericutes 2,5% e Cyanobacteria 0%. Di contro, per i bambini con DNA, sono state evidenziate le seguenti percentuali: Firmicutes 44%, Bacteroidetes 45%, Proteobacteria 1.5%, Actinobacteria 1%, Verrucomicrobia 5% e Cyanobacteria 2% (vedi figura 24).

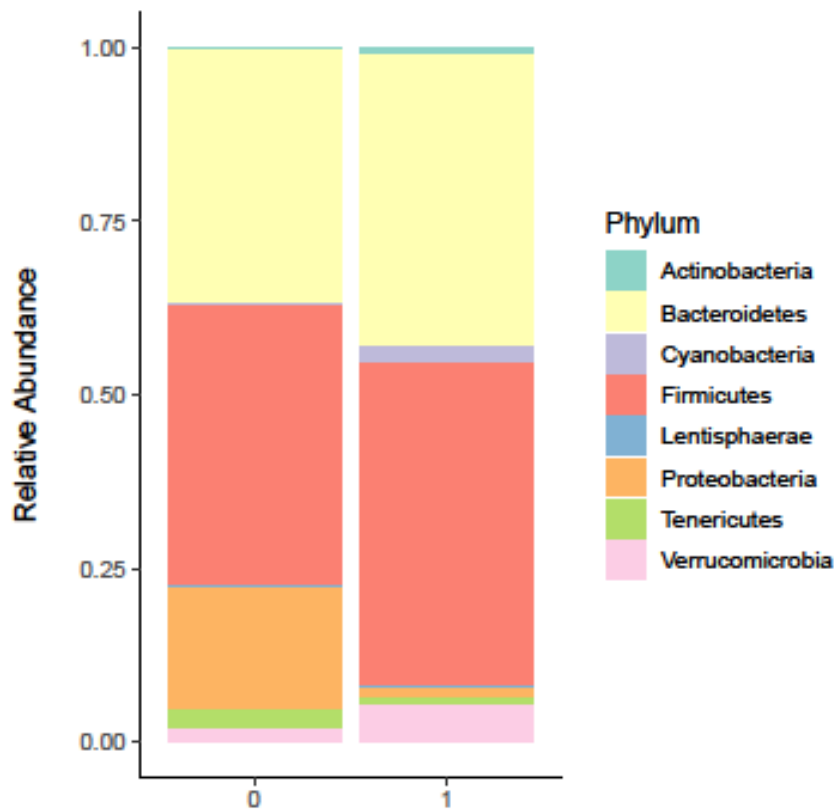


Figura 24: abbondanze relative a livello di Phylum relative alle sequenze ottenute da campioni fecali dei bambini; Legenda: 0=NON-DSA; 1=DSA.

La diversità alfa, relativa alle madri, ha avuto un indice di 3.9 per il gruppo di controllo vs 3.833 nelle madri dei bambini affetti da DSA, mediante la “Shannon complexity H analysis”. Mentre mediante “Shannon Evenness H/Ho”, ha avuto un indice di 0.7 vs 0.69 (vedi figura 25).

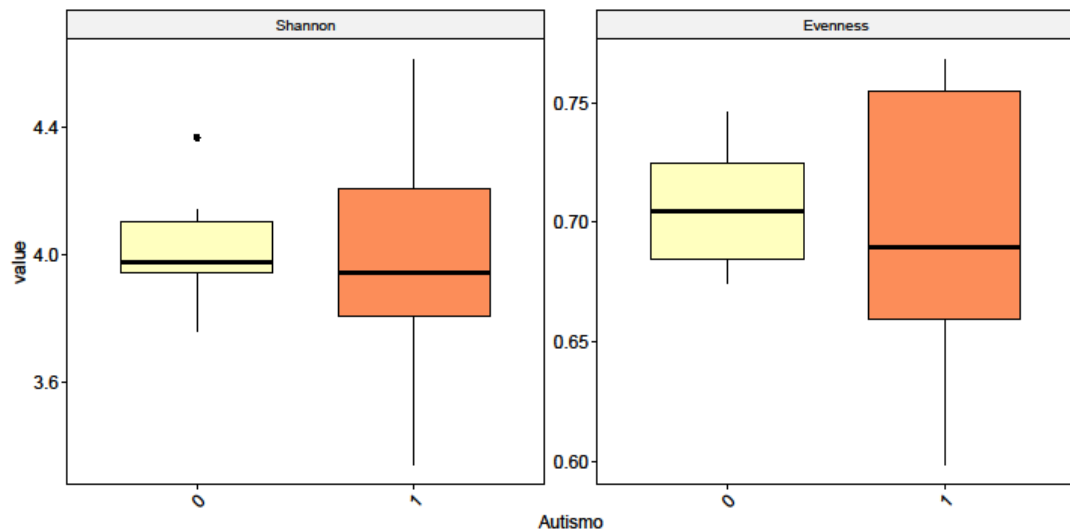


Figura 25: α -diversità media relativa ai campioni fecali delle madri. Misura della ricchezza di specie basata sulle OTUs per i campioni fecali; Legenda: 0=NON-DSA; 1=DSA ($P > 0,05$).

La diversità alfa, relativa ai bambini, ha avuto un indice di 4.1 per il gruppo di controllo vs 4.3 nei bambini affetti da DSA, mediante “Shannon complexity H analysis”. Mentre mediante “Shannon Evenness H/Ho”, ha avuto un indice di 0.74 vs 0.73 (vedi figura 26).

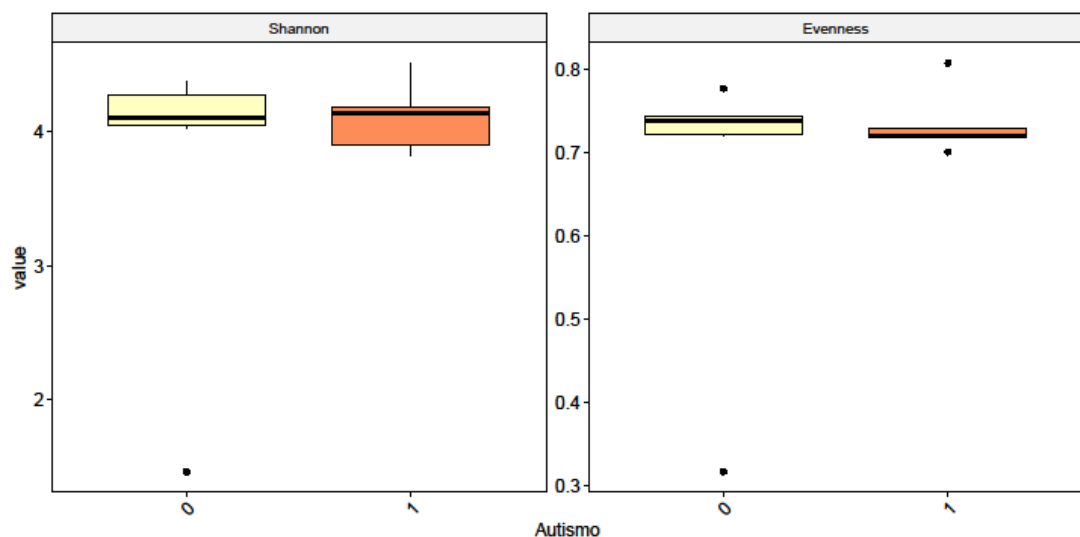


Figura 26: α -diversità media relativa ai campioni fecali dei bambini. Misura della ricchezza di specie basata sulle OTUs per i campioni fecali; Legenda: 0=NON-DSA; 1=DSA ($P > 0,05$)

La diversità beta mediante Weighted UniFrac (Wunifrac) è stata rappresentata all' Analisi delle Coordinate Principali (**PCoA**) e valutato statisticamente mediante Permutational Multivariate Analysis of Variance (perMANOVA) (vedi figura 27 e 28).

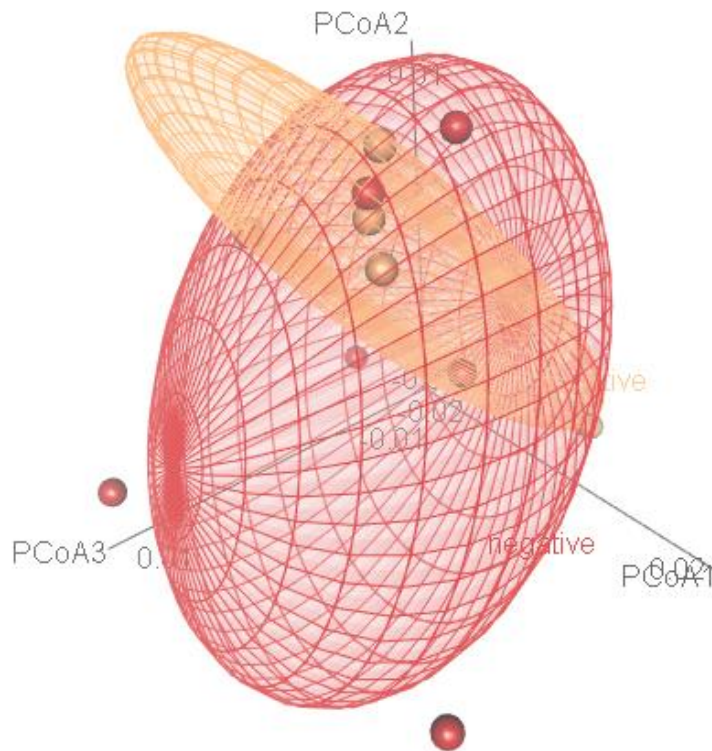


Figura 27: β -diversità dei campioni fecali delle madri. Dissimilarità batterica dei campioni tra i due gruppi (in arancione madri dei NON-DNA, in rosso madri dei bambini DNA); (Wunifrac: $P = 0,810$)

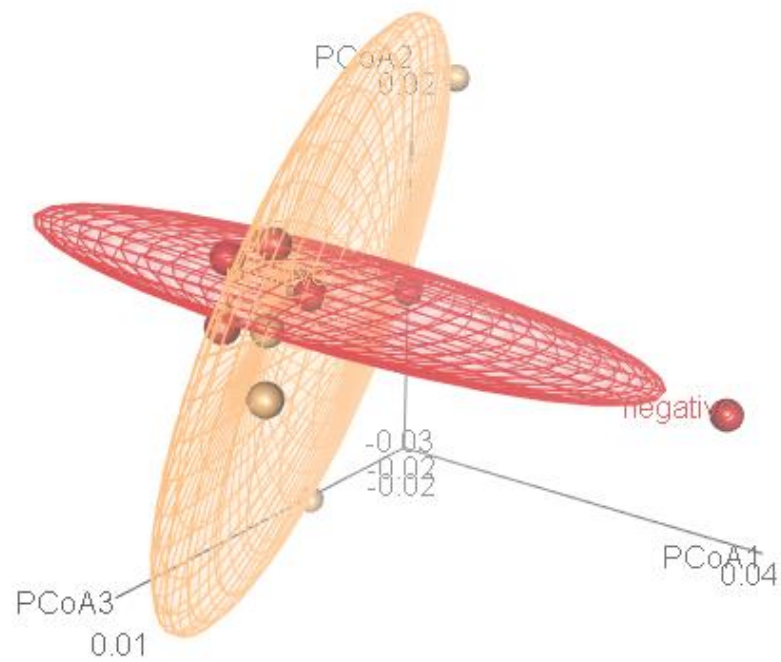


Figura 28: β -diversità dei campioni fecali dei bambini. Dissimilarità batterica dei campioni tra i due gruppi (in arancione bambini NON-DSA, in rosso bambini con DSA); (Wunifrac: $P = 0,173$).

8. Discussione e conclusione

8.1. Discussione dei risultati

La prevalenza di DSA è in aumento, soprattutto dall'ultimo decennio. Dato l'impatto significativo dei DSA sui servizi educativi e sulla famiglia delle persone colpite, nuove considerazioni relative alla prevenzione e alle opzioni terapeutiche stanno acquistando sempre più importanza.

Un possibile approccio è rappresentato dall'intervento nutrizionale e dalla modificazione specifica del microbiota intestinale.

Il presente studio è uno studio pilota che si auspica che possa essere una fase iniziale per approfondire nuove opzioni di sostegno terapeutico.

In questo capitolo i risultati più rilevanti saranno discussi individualmente e confrontati con le linee guida internazionali e nazionali e con i risultati di studi comparabili.

Per quanto riguarda il periodo della gravidanza, tutte le madri hanno assunto l'acido folico. Tale fatto corrisponde alle raccomandazioni delle "Diet and Lifestyle Before and During Pregnancy – Practical Recommendations of the Germany-wide Healthy Start – Young Family Network" (Koletzko et al., 2018). Nell'analisi statistica della nutrizione materna nell'ultimo mese, è stata osservata una differenza statisticamente significativa in relazione all'assunzione di bevande alcoliche nell'ultimo mese ($P = 0,008$), in quanto le madri di bambini senza DSA li ha consumati più frequentemente rispetto alle madri di bambini con DSA: la maggior parte delle madri di bambini senza DSA (57,1%) ha bevuto in media da una a tre bevande alcoliche a settimana, nel gruppo delle madri di bambini DSA, invece, nessuna delle donne ha bevuto alcolici più di una volta nell'ultimo mese.

Entrambi i gruppi rientrano quindi nella quantità massima di consumo di alcool raccomandata dalla "Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen", cioè la Sede centrale tedesca per i problemi di dipendenza, di un massimo di 12g di alcool al giorno (una piccola birra, un bicchiere di vino), mantenendo sempre almeno due giorni alla settimana senza alcool (Seitz & Bühringer, 2010).

Per quanto riguarda l'uso di pro-, pre- o simbiotici, quasi la metà madri di bambini senza DSA ha assunto almeno uno di questi preparati nell'ultimo mese, mentre nel tra le donne di bambini con DSA, nessuna li ha assunti nell'ultimo mese.

Tuttavia, la differenza tra i due gruppi non è statisticamente significativa ($P = 0,205$).

Per quanto riguarda l'assunzione di cibo, le madri di un bambino senza DSA hanno consumato significativamente più frutta nell'ultimo mese rispetto alle donne con un bambino con DSA ($P = 0,021$).

Se confrontiamo il consumo di frutta dei due gruppi con le raccomandazioni della DGE (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2012), cioè la Società tedesca di nutrizione, nessuna delle donne con un bambino con DSA raggiunge la quantità raccomandata di due porzioni di frutta al giorno.

Nel gruppo delle madri di un bambino senza DSA, più della metà delle donne (57,1%) ha raggiunto questa raccomandazione.

Anche per quanto riguarda l'assunzione di verdure crude, vi è una differenza statisticamente significativa ($P = 0,027$) tra i due gruppi, in quanto la maggioranza (71,4%) delle madri di bambini senza DSA nell'ultimo mese ha consumato in media tra cinque e sette porzioni a settimana, mentre la maggior parte delle madri di bambini con DSA (60%) ha consumato tra una e quattro porzioni a settimana.

Il calcolo dei macronutrienti ha mostrato che le madri di bambini senza DSA rientrano nei valori di riferimento dei LARN (Società Italiana di Nutrizione Umana, 2014a).

Nel gruppo delle madri di bambini con DSA, l'assunzione di grassi in percentuale (36,8%) risulta leggermente al di sopra del limite superiore dei valori di riferimento dei LARN (35%), per quanto riguarda l'assunzione di proteine e carboidrati, rientrano nei valori di riferimento (Società Italiana di Nutrizione Umana, 2014a).

Il calcolo dell'assunzione di fibre alimentari ha mostrato che nel gruppo delle madri di bambini senza DSA, l'assunzione media è stata di 20,6 g/giorno, nel gruppo delle madri di bambini con DSA è stata di 15,6 g.

La differenza nell'assunzione di fibre alimentari tra i due gruppi può essere considerata statisticamente significativa ($P = 0,041$), pertanto, si può affermare che nel presente studio, le madri con un bambino senza DSA hanno assunto in media 5g di fibre alimentari in più rispetto alle madri con un figlio con DSA. Confrontando i due valori con i valori di riferimento dei LARN, è possibile determinare quanto segue: i LARN raccomandano un'assunzione di fibre alimentari per adulti tra i 12,6 - 16,7g / 1000 Kcal (Società Italiana di Nutrizione Umana, 2014a).

Se calcoliamo il rispettivo valore in grammi per i due gruppi sulla base di questa raccomandazione, l'apporto di fibre raccomandato per il gruppo delle madri di bambini senza DSA è di 21,8 - 29g al giorno, mentre per le madri di bambini con DSA è di 21,6 - 28,6g.

Ciò indica che le madri con un figlio senza DSA nell'ultimo mese erano in media 1,2g sotto il limite inferiore, le madri di bambini con DSA invece erano in media 6g sotto il limite inferiore della raccomandazione dei LARN.

Grazie alla loro capacità di favorire la crescita di specifici ceppi batterici, l'assunzione di alcune fibre alimentari, note come prebiotici, può alterare la composizione del microbiota intestinale, come descritto nei capitoli 3.5.1. e 3.7.1. e hanno inoltre effetti positivi sulla salute in generale, i quali vengono anche citati nei suddetti capitoli.

Per quanto riguarda il BMI nel gruppo delle madri, le madri di bambini senza DSA (BMI medio = 21,9 kg/m²), rispetto ai valori di riferimento dell'OMS (2000), si trovano in media nell'intervallo di normopeso (tra 18,5 e 24,9 kg/m²). Le madri di bambini con DSA, invece, si trovano nella fascia di sovrappeso (tra 25 e 29,9 kg/m²), con un BMI medio di 27,1 kg/m².

Tuttavia, la differenza tra i due gruppi non è statisticamente significativa ($P = 0,073$).

Se valutiamo i madri individualmente e le classifichiamo secondo le categorie del BMI dell'OMS (2000), si vede che nel gruppo delle madri con un figlio senza DSA, la maggior parte delle donne ha un peso normale, nel gruppo delle madri con un bambino con DSA invece, la maggior parte delle donne è in sovrappeso (vedi figura 20).

Per quanto riguarda la nutrizione infantile, è stato studiato tra l'altro il periodo di allattamento, poiché in letteratura si possono osservare dei collegamenti tra il tipo di nutrizione infantile e la composizione del microbiota intestinale (vedi capitolo 3.3.).

Nel campione esaminato, tutti i bambini sono stati allattati al seno, alcuni per un periodo di tempo più lungo, altri per un periodo meno lungo.

La durata totale dell'allattamento al seno, cioè compreso il periodo dell'introduzione di alimenti complementari, è stata in media più lunga nel gruppo dei bambini senza DSA che nel gruppo dei bambini con DSA, anche se questi risultati non possono essere valutati come significativi dal punto di vista statistico ($P = 0,522$).

Relativamente allo svezzamento, non sono stati riscontrati risultati statisticamente significativi per quanto riguarda i tempi di introduzione dei diversi alimenti e gruppi di alimenti.

È notevole che in uno dei bambini senza DSA si sia iniziato con lo svezzamento relativamente presto: tra l'ottava e la dodicesima settimana ha ricevuto verdure, patate, carne, pesce, cereali senza glutine e contenenti glutine.

Secondo la raccomandazione austriaca della "Società Austriaca per la Pediatria e la Medicina dell'Adolescenza" per lo svezzamento, "l'introduzione di alimenti solidi viene raccomandata intorno al 6° mese di vita, a seconda dello stadio di sviluppo del bambino, ma non prima dell'inizio del 5° mese (17° settimana di vita) o dopo la fine del 6° mese (26° settimana di vita)" (Bruckmüller, Hitthaller, Kiefer & Zwiauer, 2010, p. 12).

Si raccomanda inoltre di continuare ad allattare durante e dopo l'introduzione di alimenti solidi, poiché il latte materno o il latte artificiale rimane un'importante fonte di nutrimento nel primo anno di vita anche dopo l'introduzione degli alimenti solidi (Bruckmüller et al., 2010).

Si può quindi affermare che nel caso di questo bambino senza DSA, lo svezzamento è stato avviato prima di quanto suggerito dalle raccomandazioni. Gli altri bambini senza DSA rientrano nelle raccomandazioni.

Anche uno dei bambini con DSA ha ricevuto frutta per la prima volta prima della 17^a settimana. Per quanto riguarda gli altri alimenti, tutti i bambini con DSA rientrano nelle raccomandazioni.

Secondo i dati disponibili in letteratura, i problemi digestivi sono più comuni nei bambini con DSA che nei bambini senza DSA (vedi capitolo 5.1.).

Nel presente studio, uno dei bambini con DSA ha avuto movimenti intestinali più di quattro volte al giorno durante l'ultimo mese, che può essere valutato come una frequenza aumentata. Tuttavia, la differenza tra i due gruppi per quanto riguarda la frequenza dei movimenti intestinali non può essere valutata come statisticamente significativa.

Per quanto riguarda l'alimentazione, i bambini con DSA hanno una maggiore probabilità di essere selettivi nelle loro abitudini alimentari e in media accettano meno alimenti rispetto ai bambini senza DSA.

Sono in generale particolarmente selettivi per quanto riguarda la frutta e la verdura, ma anche l'assunzione di alimenti proteici e prodotti lattiero-caseari è spesso limitata (vedi capitolo 5.2.1.).

Anche in questo studio i bambini con DSA nell'ultimo mese hanno consumato frutta ($P = 0,119$) e verdura cotta ($P = 0,517$) meno frequentemente rispetto ai bambini con DSA, sebbene le differenze non siano statisticamente significative. Un risultato statisticamente significativo è stato osservato in relazione al consumo di verdura cruda, in quanto i bambini con DSA nell'ultimo mese hanno consumato meno verdura cruda rispetto ai bambini senza DSA ($P = 0,025$).

L'assunzione limitata di cibo influenza anche l'assunzione di alcuni componenti alimentari. Questi includono tra l'altro le fibre alimentari (vedi capitolo 5.2.3.).

L'assunzione di fibre alimentari sembra svolgere un ruolo importante nella sintomatologia della DSA, poiché studi sulla concentrazione di SCFA nelle feci hanno dimostrato che una riduzione di acetato, propionato e butirato ha un'influenza sulla gravità dei sintomi (vedi capitolo 5.3.).

La ridotta assunzione di fibre alimentari osservata in altri studi è stata osservata solo parzialmente nel presente studio, in quanto i bambini esaminati senza DSA hanno assunto in media 17,7g (calorie giornaliere totali = 1722) di fibra alimentare al giorno, i bambini con DSA 13,2g (calorie giornaliere totali = 1633).

Confrontando l'apporto di fibre alimentari dei due gruppi con i valori di riferimento dei LARN, si può affermare quanto segue: i LARN raccomandano un apporto di fibre di 8,4g / 1000 Kcal nel periodo d'infanzia (Società Italiana di Nutrizione Umana, 2014a).

Ciò comporta un'assunzione di fibre consigliata di 14,5g per i bambini senza DSA e di 13,7g per i bambini con DSA.

Dal confronto tra la quantità raccomandata con la quantità effettivamente assunta, risulta che i bambini senza DSA hanno raggiunto in media le raccomandazioni dei LARN.

I bambini con DSA erano in media 0,5 g al di sotto dell'assunzione raccomandata secondo i LARN (Società Italiana di Nutrizione Umana, 2014a). Visto che l'assunzione effettiva era solo poco al di sotto della quantità raccomandata, dal punto di vista clinico non può essere affermato che i bambini con DSA esaminati in questo studio hanno avuto un apporto di fibra alimentare significativamente diminuito nell'ultimo mese.

La revisione della letteratura ha inoltre mostrato che i bambini con DSA hanno un rischio maggiore di obesità rispetto ai bambini senza DSA (vedi capitolo 5.2.2.).

Questo rischio aumentato è stato osservato anche nel presente studio: i bambini senza DSA hanno un BMI medio nel 56° percentile, i bambini con DSA nel 77° percentile.

Anche se i bambini di entrambi i gruppi si trovano in media nella fascia di peso normale, nel gruppo dei bambini con DSA, solo uno dei cinque bambini si trova nella fascia di peso normale. Dei restanti bambini con DSA, un bambino è in sovrappeso, due sono obesi e uno è sottopeso.

Il fatto che l'obesità rappresenta un fattore di rischio per varie malattie, tra i quali malattie cardiovascolari, il diabete e la steatosi epatica, sottolinea l'importanza della terapia dietetica in soggetti affetti da DSA.

Il presente studio ha preso in considerazione anche la valutazione del microbiota intestinale, al fine di evidenziare se ci possa essere una differenza tra i bambini non affetti da DSA e i bambini affetti da DSA a livello di comunità batteriche che possano essere modulate da interventi dietetici.

Gli studi di metanalisi, relativi all'associazione tra le alterazioni del microbiota intestinale e l'autismo, riportano centinaia di pubblicazioni scientifiche in merito.

Tuttavia, solo poche decine di esse possono essere considerate valide in quanto la maggior parte sono studi su animali e non trial clinici umani, e non valutano statisticamente l'associazione tra i DSA e il microbiota intestinale (Xu, Xu, Li, & Li, 2019).

Sono state rilevate delle criticità in questi studi tra cui la disomogeneità di metodiche di laboratorio utilizzate per l'analisi, con una conseguente notevole varietà di specificità e sensibilità nei risultati ottenuti.

Infatti, sono state variamente utilizzate metodiche colturali, molecolari e di pirosequenziamento.

Altre limitazioni rilevate in questi studi sono la mancanza di omogeneità degli individui selezionati e la difficoltà di reclutamento di tali pazienti che porta ad una bassa attendibilità dello studio del campione (Iglesias-Vázquez, Van Ginkel Riba, Arija, & Canals, 2020).

In particolare, risulta difficile selezionare pazienti che non abbiano usufruito di antibiotici negli ultimi sei mesi e che siano residenti in un'area geografica comune, proprio per capire se ci sia una correlazione con il microbiota.

Infatti, l'utilizzo di antibiotici e l'ambiente in cui si vive influenzano notevolmente il microbiota intestinale (vedi capitolo 3.). Questi due punti di selezione sono stati fondamentali per il nostro studio.

I risultati da noi ottenuti con NGS sui campioni analizzati, a livello di Phylum, evidenziano per le madri una similitudine tra Firmicutes e Bacteroidetes delle abbondanze relative.

Tuttavia, c'è il dato di presenza di Cyanobacteria nelle madri dei bambini con DSA che invece sono assenti nel gruppo delle madri dei bambini senza DSA. Inoltre, anche l' α -diversità, rappresentazione della diversità di specie all'interno dei singoli campioni, è mediamente identica pur presentandosi più varia all'interno del gruppo delle madri di bambini con DSA.

Mediante l'analisi della β -diversità, i campioni fecali delle madri non risultano significativamente differenti ($P = 0,810$).

Le abbondanze relative ottenute a livello di Phylum dai campioni fecali dei bambini hanno evidenziato nei bambini con DSA un aumento di Bacteroidetes e Verrucomicrobia. Come è avvenuto per i campioni delle madri, è stata rilevata la presenza di Cyanobacteria nel gruppo dei bambini con DSA.

Va notato che Cyanobacteria sono stati associati a pazienti affetti da altre malattie neurologiche come, ad esempio, in Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) (Mandrioli et al., 2019).

L' α -diversità non ha evidenziato differenze significative tra i due gruppi di bambini, mentre con la β -diversità, i campioni fecali dei bambini, pur non risultando significativamente differenti ($p = 0.173$), mostrano un *trend* che evidenzia una similitudine dei campioni all'interno dei due singoli gruppi.

8.2. Limiti dello studio

Per quanto riguarda i limiti del presente studio, va citato il campione piccolo, che ha un'influenza negativa sulla significatività statistica dei risultati.

Purtroppo, a causa della situazione attuale del coronavirus sono stati esaminati nello studio 12 partecipanti e non i 30 partecipanti previsti.

Inoltre, i controlli sono rappresentati da volontari e non sono stati scelti casualmente.

In più, le risposte nel presente studio sono state date sulla base dei ricordi dei soggetti. Per evitare errori di memoria, si potrebbe eventualmente utilizzare un diario alimentare.

8.3. Suggerimenti per ulteriori ricerche

Sarebbe interessante condurre uno studio simile con un campione sufficientemente grande per ottenere risultati generalmente validi, e quindi per poter mostrare delle correlazioni tra le tre variabili DSA, microbiota intestinale e nutrizione.

Di particolare interesse sarebbe l'attuazione di un intervento nutrizionale per un periodo di tempo più lungo, insieme ad un'integrazione di pro- e prebiotici. In un tale studio sarebbe necessario includere uno specialista nel campo della nutrizione, così come nei campi della microbiologia e della psichiatria.

Questo permetterebbe di monitorare e valutare i cambiamenti della situazione clinica durante l'intervento da diversi punti di vista in un'equipe interdisciplinare.

Questo tipo di studio potrebbe fornire nuovi spunti su possibili strategie terapeutiche dei DSA.

8.4. Raccomandazioni per la pratica

Per quanto riguarda le raccomandazioni per la pratica, in questo momento non sono disponibili dati sufficienti per poter stabilire consigli dietetici specifici per i DSA.

Tuttavia, il dietista svolge un ruolo importante in relazione al DSA, in quanto la terapia nutrizionale può alleviare i disturbi gastrointestinali individuali dei soggetti affetti da DSA.

Considerando che gli studi hanno osservato una correlazione diretta tra i disturbi gastrointestinali e la gravità ed eventualmente anche lo sviluppo dei sintomi del DSA, questo potrebbe rappresentare un'opzione terapeutica complementare perfino per i sintomi del DSA (vedi capitolo 5.1.).

Migliorando i sintomi gastrointestinali, si può in ogni caso presumere un'influenza positiva sulla qualità di vita delle persone colpite.

Un altro aspetto importante in relazione alla nutrizione nei soggetti affetti da DSA è la compensazione delle carenze nutrizionali.

A causa della selettività che spesso troviamo nei soggetti con DSA, non si può escludere che possa verificarsi una carenza di certi nutrienti.

Per questo motivo, si raccomanda di effettuare un'anamnesi alimentare e di determinare gli eventuali nutrienti considerati come critici nel sangue, per poi poter compensare eventuali carenze.

Sono già stati condotti studi su alcune diete particolari per il trattamento dei DSA, tra cui la dieta senza glutine, la dieta chetogenica e la dieta dei carboidrati specifici.

Tuttavia, per nessuna di queste tre diete è presente una quantità di studi sufficiente per poterle raccomandare nella pratica clinica (Ristori et al., 2019). Va inoltre tenuto presente che le persone affette da DSA spesso presentano già un comportamento alimentare limitato e che il rischio di carenze nutrizionali può aumentare ulteriormente in seguito ad ulteriori restrizioni alimentari.

Pertanto, tali diete, in cui l'assunzione di alimenti è limitata, non dovrebbero essere raccomandate, visto anche il numero di studi attualmente non sufficiente.

Riassumendo, sulla base dello studio si può consigliare, per quanto riguarda la terapia dietetica, una terapia personalizzata, orientata ai sintomi individuali e adeguata ad eventuali carenze nutrizionali.

Inoltre, può essere opportuno un'integrazione di fibre solubili, poiché l'assunzione di fibre alimentari è spesso ridotta.

Per quanto riguarda quest'integrazione di fibre, è necessario monitorare la tolleranza individuale.

Riguardo all'integrazione con probiotici, non vi sono ancora sufficienti dati in letteratura per poter elaborare delle raccomandazioni terapeutiche specifiche e standardizzate (Ng et al., 2019).

Glossario

2°BA	Acidi biliari secondari
5-HT	5-idrossitriptamina
AMP	Anti-microbial-proteins
BCFA	Branched chain fatty acids = Acidi grassi a catena ramificata
BF	Burkina Faso
BMI / IMC	Body-Mass-Index / Indice di massa corporea
DSA / ASD	Disturbi dello spettro autistico / Autism Spectrum Disorder
DSM	Manuale Diagnostico e Statistico dei Disturbi mentali
ECC	Cellule enterocromaffini
EEC	Cellule enteroendocrine
FFQ	Food Frequency Questionnaire = Questionario di frequenza di assunzione degli alimenti
FOS	Fruttoligosaccaride
GF	Germ-free
GI	Gastro-intestinale
GOS	Galattooligosaccaride
IBD	Inflammatory bowel disease = Malattia infiammatoria intestinale
IgA	Immunoglobuline A
LARN	Livelli di assunzione di riferimento per la popolazione italiana
LPS	Lipopolisaccaridi
NGS	Next Generation Sequencing
NT	Neurologically typical = Neurotypical
OTU	Operational Taxonomic Unit

PCR	Polymerase Chain Reaction
PUFA	Polyunsaturated fatty acids = Acidi grassi insaturi
QI	Quoziente d'intelligenza
SCFA	Short chain fatty acids = Acidi grassi a catena corta
SNA	Sistema nervoso autonomo
SNC	Sistema nervoso centrale
SNE	Sistema nervoso enterico
SPF	Specific-pathogen-free
spp.	Species pluralis = Più specie del genere che precede
TMA	Trimetilammina
TMAO	Trimetilammina N-ossido

Indice delle figure

Figura 1: Microbiota e microbioma (Berg et al., 2020, p. 6, modificato).	5
Figura 2: Distribuzione della flora batterica (Katsnelson, 2017).	6
Figura 3: Distribuzione e abbondanza di batteri nel tratto gastrointestinale umano (Sartor, 2008, p. 578).	8
Figura 4: Composizione tassonomica del microbiota intestinale (Rinninella et al., 2019, p. 3, modificato).	10
Figura 5: Uno schema illustrativo delle metodiche di sequenziamento (Sánchez, 2011).	13
Figura 6: Sequenziamento per terminazione reversibile basato su acquisizione a 4 colori (A) o ad un colore (B) (Metzker 2010, p. 6, tradotto dall'inglese).	14
Figura 7: Schema del gene 16S rRNA (Renvoisé, Brossier, Sougakoff, Jarlier, & Aubry, 2013, tradotto dall'inglese).	15
Figura 8: L'ambiente uterino come un ambiente sterile (A) e la colonizzazione del microbiota in utero (B) (Perez-Muñoz, Arrieta, Ramer-Tait, & Walter, 2017, p. 3).	22
Figura 9: Cambiamenti nell'assunzione di nutrienti (David et al., 2014, p. 18, solo una parte dell'immagine originale).	33
Figura 10: Prodotti derivanti dalla fermentazione dei carboidrati e degli aminoacidi (David et al., 2014, p. 21, solo una parte dell'immagine originale).	35
Figura 11: Differenze nella composizione del microbiota nei bambini del Burkina Faso e dell'UE (De Filippo e al., 2010, p. 14693).	36
Figura 12: Conversione di L-Carnitina in TMAO (Vallance et al., 2018, p. 131).	37
Figura 13: Trasmissione del segnale da parte del microbiota intestinale tramite SCFA e LPS (Kristensen & Pedersen, 2015, p. 2).	47
Figura 14: - Comunicazione tramite le cellule enterocromaffini (Martin et al., 2018, p. 136).	49
Figura 15: DSA (DGKJP & DGPPN, 2016, tradotto dal tedesco).	53

Figura 16: Fattori di rischio per i DSA (figura elaborata)	55
Figura 17: Abbondanze relative medie (%) di Firmicutes e Bacteroidetes in soggetti autistici (AD) e neurotipici (NT) (Strati et al., 2017, p. 3, viene mostrata solo una parte dell'immagine originale).....	62
Figura 18: Esempio di una domanda nell'FFQ.....	68
Figura 19: Distribuzione di genere nel gruppo dei bambini.	72
Figura 20: Classificazione del BMI delle madri.	75
Figura 21: Consumo di verdure crude nel gruppo dei bambini nell'ultimo mese ($P = 0,025$).	108
Figura 22: Assunzione di fibre alimentari in grammi nel gruppo delle madri nell'ultimo mese ($P = 0,041$)	113
Figura 23: abbondanze relative a livello di Phylum relative alle sequenze ottenute da campioni fecali delle madri; Legenda: 0=NON-DNA; 1=DNA. .	116
Figura 24: abbondanze relative a livello di Phylum relative alle sequenze ottenute da campioni fecali dei bambini; Legenda: 0=NON-DNA; 1=DNA. .	117
Figura 25: α -diversità media relativa ai campioni fecali delle madri. Misura della ricchezza di specie basata sulle OTUs per i campioni fecali; Legenda: 0=NON-DNA; 1=DNA ($P > 0,05$).	118
Figura 26: α -diversità media relativa ai campioni fecali dei bambini. Misura della ricchezza di specie basata sulle OTUs per i campioni fecali; Legenda: 0=NON-DNA; 1=DNA ($P > 0,05$)	118
Figura 27: β -diversità dei campioni fecali delle madri. Dissimilarità batterica dei campioni tra i due gruppi (in arancione madri dei NON-DNA, in rosso madri dei bambini DNA); (Wunifrac: $P = 0,810$)	119
Figura 28: β -diversità dei campioni fecali dei bambini. Dissimilarità batterica dei campioni tra i due gruppi (in arancione bambini NON-DNA, in rosso bambini con DNA); (Wunifrac: $P = 0,173$).	120

Indice delle tabelle

Tabella I: Numero di alimenti accettati all'interno dei gruppi alimentari (Schreck et al., 2004, p. 437)	58
Tabella II: Concentrazione di Bifidobacterium e Lactobacillus in soggetti affetti da DSA e controlli (Adams et al, 2011, p. 6, viene mostrata solo una parte della tabella originale)	62
Tabella III: Età dei partecipanti nel gruppo dei bambini al momento dell'anamnesi.	73
Tabella IV: Peso, altezza e BMI dei partecipanti.....	74
Tabella V: Classificazione dei percentili del BMI secondo le linee guida della "Arbeitsgemeinschaft Adipositas im Kindes- und Jugendalter (AGA), Deutsche Adipositas-Gesellschaft (DAG), & Deutsche Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin (DGKJ)" (2019).....	76
Tabella VI: Percentili del BMI nel gruppo dei bambini ($P = 0,291$).	76
Tabella VII: Percentili del BMI dei bambini. * (Arbeitsgemeinschaft Adipositas im Kindes- und Jugendalter (AGA), Deutsche Adipositas-Gesellschaft (DAG), & Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin (DGKJ, 2019).	77
Tabella VIII: Consumo di acqua del rubinetto durante la gravidanza ($P = 0,152$).....	78
Tabella IX: Consumo di acqua in bottiglia durante la gravidanza ($P = 0,222$).	79
Tabella X: L'adesione ad una dieta in particolare durante la gravidanza.	79
Tabella XI: Utilizzo di pro- pre- u simbiotici durante la gravidanza ($P > 0,999$).	80
Tabella XII: Disturbi gastrointestinali durante la gravidanza ($P = 0,523$).....	81
Tabella XIII: Assunzione di integratori alimentari durante la gravidanza.	81
Tabella XIV: Supplementazione di acido folico durante la gravidanza.....	82
Tabella XV: Consumo di acqua del rubinetto nell'ultimo mese nel gruppo delle madri.	82
Tabella XVI: Consumo di acqua in bottiglia nell'ultimo mese nel gruppo delle madri ($P = 0,417$).	83

Tabella XVII: L'adesione ad una dieta specifica nell'ultimo mese nel gruppo delle madri.	83
Tabella XVIII: Consumo di alcolici del mese scorso nel gruppo delle madri (P = 0,008).	84
Tabella XIX: Utilizzo di pro- pre- o simbiotici nel gruppo delle madri negli ultimi sei mesi (P = 0,205).	85
Tabella XX: Disturbi gastrointestinali nell'ultimo mese nel gruppo delle madri (P > 0,999).	86
Tabella XXI: Frequenza dei movimenti intestinali delle madri nell'ultimo mese (P = 0,498).	87
Tabella XXII: Consumo di frutta nel gruppo delle madri nell'ultimo mese (P = 0,021).	88
Tabella XXIII: Consumo di verdure cotte nell'ultimo mese nel gruppo delle madri (P = 0,280).	89
Tabella XXIV: Consumo di verdure crude nell'ultimo mese nel gruppo delle madri (P = 0,027).	90
Tabella XXV: Consumo di alimenti amidacei nel gruppo delle madri nell'ultimo mese (P = 0,714).	91
Tabella XXVI: Assunzione di prodotti integrali nel gruppo delle madri (P = 0,081).	92
Tabella XXVII: Tempo di allattamento al seno, compresa l'introduzione di alimenti complementari (P = 0,522).	93
Tabella XXVIII: Tempo di allattamento esclusivo (P > 0,999).	94
Tabella XXIX: Alimentazione con latte artificiale (P = 0,558).	94
Tabella XXX: Svezamento: introduzione di verdure (P = 0,786).	95
Tabella XXXI: Svezamento: introduzione di patate (P = 0,667).	96
Tabella XXXII: Svezamento: Introduzione di frutta (P = 0,738).	97
Tabella XXXIII: Svezamento: introduzione della carne (P = 0,868).	98
Tabella XXXIV: Svezamento: Introduzione del pesce (P = 0,623).	99
Tabella XXXV: Svezamento: introduzione di cereali senza glutine (0,800).	100

Tabella XXXVI: Svezamento: introduzione di cereali contenenti glutine (0,934).	101
Tabella XXXVII: Svezamento: introduzione del latte vaccino (P = 0,081).	102
Tabella XXXVIII: Consumo di acqua del rubinetto nel gruppo dei bambini nell'ultimo mese.	102
Tabella XXXIX: Consumo di acqua in bottiglia nel gruppo dei bambini nell'ultimo mese (P = 0,417).	103
Tabella XL: Utilizzo di pro-, pre- e simbiotici nel gruppo dei bambini negli ultimi 6 mesi (P > 0,999).	104
Tabella XLI: Frequenza dei movimenti intestinali nel gruppo dei bambini nell'ultimo mese (P = 0,524).	105
Tabella XLII: Consumo di frutta nel gruppo dei bambini dell'ultimo mese (P = 0,119).....	106
Tabella XLIII: Consumo di verdure cotte nel gruppo dei bambini nell'ultimo mese (P = 0,517).	107
Tabella XLIV: Assunzione di alimenti amidacei nel gruppo dei bambini (P = 0,189).....	109
Tabella XLV: Assunzione di prodotti integrali nel gruppo dei bambini (P = 0,205).....	110
Tabella XLVI: Assunzione di macronutrienti in percentuale e di fibre alimentari in grammi nel gruppo delle madri nell'ultimo mese.....	112
Tabella XLVII: Assunzione di macronutrienti in percentuale e di fibre alimentari in grammi nel gruppo dei bambini.	114

Bibliografia

Adams, J. B., Johansen, L. J., Powell, L. D., Quig, D., & Rubin, R. A. (2011). Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism – comparisons to typical children and correlation with autism severity. *BMC Gastroenterol*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/1471-230X-11-22>

Anderson, M. J. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26(1), 32–46. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x>

Arbeitsgemeinschaft Adipositas im Kindes- und Jugendalter (AGA), Deutsche Adipositas-Gesellschaft (DAG), & Deutsche Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin (DGKJ). (2019). S3-Leitlinie - *Therapie und Prävention der Adipositas im Kindes- und Jugendalter* (Nr. 050-002). AWMF. Retrieved September 29, 2020, from https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/050-002l_S3_Therapie-Prävention-Adipositas-Kinder-Jugendliche_2019-11.pdf

Arbolea, S., Binetti, A., Salazar, N., Fernández, N., Solís, G., Hernández-Barranco, A., ... Gueimonde, M. (2012). Establishment and development of intestinal microbiota in preterm neonates. *FEMS microbiology ecology*, 79(3), 763–772. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01261.x>

Atladóttir, H. Ó., Henriksen, T. B., Schendel, D. E., & Parner, E. T. (2012). Autism after infection, febrile episodes, and antibiotic use during pregnancy: an exploratory study. *Pediatrics*, 130(6), e1447–e1454. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-1107>

DGKJP & DGPPN. (2016). *Interdisziplinäre S3-Leitlinie - Autismus-Spektrum-Störungen im Kindes-, Jugend- und Erwachsenenalter* (028–018). AWMF. Retrieved August 15, 2020, from https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/028-018l_S3_Autismus-Spektrum-Stoerungen_ASS-Diagnostik_2016-05.pdf

Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M. C., Charles, T., ... Schlöter, M. (2020). Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*, 8(1), 103. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>

Biasucci, G., Benenati, B., Morelli, L., Bessi, E., & Boehm, G. (2008). Cesarean delivery may affect the early biodiversity of intestinal bacteria. *The Journal of nutrition*, 138(9), 1796S–1800S. <https://doi.org/10.1093/jn/138.9.1796S>

Boldrini, R., Di Cesare, M., Basili, F., Messina, I. & Gianetti, A. (2016, Agosto). *Certificato di assistenza al parto (CeDAP) Analisi dell'evento nascita - Anno 2016*. Retrieved September 15, 2020, from http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2881_allegato.pdf

Bravo, J. A., Forsythe, P., Chew, M. V., Escaravage, E., Savignac, H. M., Dinan, T. G., ... Cryan, J. F. (2011). Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(38), 16050–16055. <https://doi.org/10.1073/pnas.1102999108>

Bruckmüller, M. U., Hitthaller, A., Kiefer, I., & Zwiauer. (2010, December). *Richtig essen von Anfang an -Österreichische Beikostempfehlungen*. Retrieved October 22, 2020, from: https://www.richtigessenvonanfangen.at/fileadmin/Redakteure_REVAN/user_upload/Beikostempfehlungen_Expertenversion_24-04-2013.pdf

Buie, T., Campbell, D. B., Fuchs, G. J., Furuta, G. T., Levy, J., VandeWater, J., ... Beaudet, A. L. (2010). Evaluation, Diagnosis, and Treatment of Gastrointestinal Disorders in Individuals with ASDs: A Consensus Report. *Pediatrics*, 125(Supplement 1), S1–S18. <https://doi.org/10.1542/peds.2009-1878C>

Campion, D., Ponzo, P., Alessandria, C., Saracco, G. M., & Balzola, F. (2018). The role of microbiota in autism spectrum disorders. *Minerva gastroenterologica e dietologica*, 64(4), 333–350. <https://doi.org/10.23736/S1121-421X.18.02493-5>

Cani, P. D., Lecourt, E., Dewulf, E. M., Sohet, F. M., Pachikian, B. D., Naslain, D., ... Delzenne, N. M. (2009). Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. *The American journal of clinical nutrition*, 90(5), 1236–1243. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.28095>

Caporaso, J. G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K., ... Knight, R. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature methods*, 7(5), 335–336. <https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>

Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Huntley, J., Fierer, N., ... Knight, R. (2012). Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME Journal*, 6(8), 1621–1624. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.8>

Carl Linnaeus. (n.d.). Retrieved Retrieved September 28, 2020, from: <https://www.newscientist.com/people/carl-linnaeus/>

CDC - Centers For Disease Control And Prevention (2020). *Diagnostic Criteria - Autism Spectrum Disorder (ASD)*. Retrieved October 2, 2020, from: <https://www.cdc.gov/ncbddd/autism/hcp-dsm.html>

Chao, A., Thun, M. J., Connell, C. J., McCullough, M. L., Jacobs, E. J., Flanders, W. D., ... Calle, E. E. (2005). Meat consumption and risk of colorectal cancer. *JAMA*, 293(2), 172–182. <https://doi.org/10.1001/jama.293.2.172>

Conlon, M., & Bird, A. (2014). The Impact of Diet and Lifestyle on Gut Microbiota and Human Health. *Nutrients*, 7(1), 17–44. <https://doi.org/10.3390/nu7010017>

Crea - Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria. (2017). *Linee Guida per una sana alimentazione - Dossier Scientifico*. Retrieved September 21, 2020, from https://www.crea.gov.it/documents/59764/0/DossierLG2017_CAP10.pdf/627cb4d-4f80-cc82-bd3a-7156c27ddd4a?t=1575530729812

David, L. A., Maurice, C. F., Carmody, R. N., Gootenberg, D. B., Button, J. E., Wolfe, B. E., ... Turnbaugh, P. J. (2014). Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 505(7484), 559–563. <https://doi.org/10.1038/nature12820>

De Angelis, M., Francavilla, R., Piccolo, M., De Giacomo, A. & Gobbetti, M. (2015). Autism spectrum disorders and intestinal microbiota. *Gut microbes*, 6(3), 207–213. <https://doi.org/10.1080/19490976.2015.1035855>

De Filippis, F., Pellegrini, N., Vannini, L., Jeffery, I. B., La Stora, A., Laghi, L., ... Ercolini, D. (2016). High-level adherence to a Mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome. *Gut*, 65(11), 1812–1821. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-309957>

De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J. B., Massart, S., ... Lionetti, P. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(33), 14691–14696. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005963107>

De Silva, A., & Bloom, S. R. (2012). Gut Hormones and Appetite Control: A Focus on PYY and GLP-1 as Therapeutic Targets in Obesity. *Gut and liver*, 6(1), 10–20. <https://doi.org/10.5009/gnl.2012.6.1.10>

Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (2012, May 22). *Jetzt mit 5 am Tag in die Saison starten* [Press release]. Retrieved October 13, 2020, from [https://www.dge.de/presse/pm/jetzt-mit-5-am-tag-in-die-saison-starten/#:%7E:text=Die%20aktuelle%20Empfehlung%20der%20DGE,\(rund%20250%20Gramm\)%20sein.](https://www.dge.de/presse/pm/jetzt-mit-5-am-tag-in-die-saison-starten/#:%7E:text=Die%20aktuelle%20Empfehlung%20der%20DGE,(rund%20250%20Gramm)%20sein.)

Dhariwal, A., Chong, J., Habib, S., King, I. L., Agellon, L. B., & Xia, J. (2017). MicrobiomeAnalyst: a web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analysis of microbiome data. *Nucleic acids research*, 45(W1), W180–W188. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx295>

Diaz Heijtz, R., Wang, S., Anuar, F., Qian, Y., Björkholm, B., Samuelsson, A., ... Pettersson, S. (2011). Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(7), 3047–3052. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010529108>

Edgar R. C. (2010). Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 26(19), 2460–2461. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461>

Erny, D., Hrabě de Angelis, A. L., Jaitin, D., Wieghofer, P., Staszewski, O., David, E., ... Prinz, M. (2015). Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nature neuroscience*, 18(7), 965–977. <https://doi.org/10.1038/nn.4030>

Fagocitosi: il cervello ha bisogno di fare pulizia per rimanere in buona salute. (2016, July 4). Retrieved October 3, 2020, from: <https://www.stateofmind.it/2016/07/fagocitosi-cervello/>

Frahm, C., & Witte, O. W. (2019). Mikrobiom und neurodegenerative Erkrankungen. *Gastroenterologe*, 14(3), 166–171. <https://doi.org/10.1007/s11377-019-0345-2>

Fung, K. Y. C., Cosgrove, L., Lockett, T., Head, R., & Topping, D. L. (2012). A review of the potential mechanisms for the lowering of colorectal oncogenesis by butyrate. *Br J Nutr*, 108(5), 820–831. <https://doi.org/10.1017/s0007114512001948>

Garrett, W. S., Gordon, J. I., & Glimcher, L. H. (2010). Homeostasis and Inflammation in the Intestine. *Cell*, 140(6), 859–870. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.023>

Gupta, N., & Verma, V. K. (2019). Next-Generation Sequencing and Its Application: Empowering in Public Health Beyond Reality. *Microbial Technology for the Welfare of Society*, 17, 313–341. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8844-6_15

Hahn, S., Melanie, F., & Maiké, G. (2019). Der Verdauungstrakt. *Ernährungsumschau*, 7, M425–M431. <https://doi.org/10.4455/eu.2019.027>

Hamad, A. F., Alessi-Severini, S., Mahmud, S. M., Brownell, M., & Kuo, I. F. (2018). Early childhood antibiotics use and autism spectrum disorders: a population-based cohort study. *International journal of epidemiology*, 47(5), 1497–1506. <https://doi.org/10.1093/ije/dyy162>

Hamad, A. F., Alessi-Severini, S., Mahmud, S. M., Brownell, M., & Kuo, I. F. (2019). Prenatal antibiotics exposure and the risk of autism spectrum disorders: A population-based cohort study. *PloS one*, 14(8), e0221921. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221921>

Herndon, A. C., DiGuseppi, C., Johnson, S. L., Leiferman, J., & Reynolds, A. (2009). Does nutritional intake differ between children with autism spectrum disorders and children with typical development?. *Journal of autism and developmental disorders*, 39(2), 212–222. <https://doi.org/10.1007/s10803-008-0606-2>

Herter, C. A. & Kendall, A. I. (1910). The influence of dietary alternations on the types of intestinal flora. *Journal of Biological Chemistry*, 7(3), 203-236.

Hill, A. P., Zuckerman, K. E., & Fombonne, E. (2015). Obesity and Autism. *Pediatrics*, 136(6), 1051–1061. <https://doi.org/10.1542/peds.2015-1437>

Hörmannspenger, G., Blesl, A. & Haller, D. (2016). Intestinales Mikrobiom. *Aktuelle Ernährungsmedizin*, 41(03), 207–217. <https://doi.org/10.1055/s-0042-104429>

Hugenholtz, P., Goebel, B. M., & Pace, N. R. (1998). Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *Journal of bacteriology*, 180(18), 4765–4774. <https://doi.org/10.1128/JB.180.18.4765-4774.1998>

Hughes, H. K., Rose, D., & Ashwood, P. (2018). The Gut Microbiota and Dysbiosis in Autism Spectrum Disorders. *Current neurology and neuroscience reports*, 18(11), 81. <https://doi.org/10.1007/s11910-018-0887-6>

Iglesias-Vázquez, L., Van Ginkel Riba, G., Arija, V., & Canals, J. (2020). Composition of Gut Microbiota in Children with Autism Spectrum Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*, 12(3), 792. <https://doi.org/10.3390/nu12030792>

Jandhyala, S. M., Talukdar, R., Subramanyam, C., Vuyyuru, H., Sasikala, M., & Nageshwar Reddy, D. (2015). Role of the normal gut microbiota. *World journal of gastroenterology*, 21(29), 8787–8803. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i29.8787>

Jernberg, C., Löfmark, S., Edlund, C., & Jansson, J. K. (2007). Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *The ISME journal*, 1(1), 56–66. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.3>

Joint Research Centre (JRC). (2018). *The Human Gut Microbiota: Overview and analysis of the current scientific knowledge and possible impact on healthcare and well-being* (EUR 29240 EN). <https://doi.org/10.2760/17381>

Kang, D.-W., Park, J. G., Ilhan, Z. E., Wallstrom, G., LaBaer, J., Adams, J. B., & Krajmalnik-Brown, R. (2013). Reduced Incidence of Prevotella and Other Fermenters in Intestinal Microflora of Autistic Children. *PLoS ONE*, 8(7), e68322. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068322>

Kasper, H. (2014). *Ernährungsmedizin und Diätetik* (12th edition). München, Deutschland: Urban & Fischer/Elsevier.

Katsnelson, A. (2017, December). *Distribuzione della flora batterica*. Retrieved September 30, 2020, from [10.1146/knowable-010418-160600](https://www.knowable.org/10.1146/knowable-010418-160600)

Kim, S., Covington, A., & Pamer, E. G. (2017). The intestinal microbiota: Antibiotics, colonization resistance, and enteric pathogens. *Immunological reviews*, 279(1), 90–105. <https://doi.org/10.1111/imr.12563>

Koeth, R. A., Wang, Z., Levison, B. S., Buffa, J. A., Org, E., Sheehy, B. T., ... Hazen, S. L. (2013). Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nature medicine*, 19(5), 576–585. <https://doi.org/10.1038/nm.3145>

Koletzko, B., Cremer, M., Flothkötter, M., Graf, C., Hauner, H., Hellmers, C., ... Wöckel, A. (2018). Diet and Lifestyle Before and During Pregnancy – Practical Recommendations of the Germany-wide Healthy Start – Young Family Network. *Geburtshilfe Und Frauenheilkunde*, 78(12), 1262–1282. <https://doi.org/10.1055/a-0713-1058>

Kristensen, N. B., & Pedersen, O. (2015). Targeting Body Weight Regulation with Probiotics: A Review of Randomized Trials in Obese and Overweight People Free of Comorbidities. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 05(06), 1–8. <https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000422>

Lloyd-Price, J., Abu-Ali, G. & Huttenhower, C. (2016). The healthy human microbiome. *Genome medicine*, 8(1), 51. <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0307-y>

Mandrioli, J., Amedei, A., Cammarota, G., Niccolai, E., Zucchi, E., D'Amico, R., ... Masucci, L. (2019). FETR-ALS Study Protocol: A Randomized Clinical Trial of Fecal Microbiota Transplantation in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Frontiers in neurology*, 10, 1021. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.01021>

Marchesi, J. R. & Ravel, J. (2015). The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome*, 3(1), 1–3. <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0094-5>

Marshall, J. K., Thabane, M., Garg, A. X., Clark, W. F., Moayyedi, P., & Collins, S. M. (2010). Eight year prognosis of postinfectious irritable bowel syndrome following waterborne bacterial dysentery. *Gut*, 59(5), 605–611. <https://doi.org/10.1136/gut.2009.202234>

Martin, C. R., Osadchiy, V., Kalani, A., & Mayer, E. A. (2018). The Brain-Gut-Microbiome Axis. *Cellular and molecular gastroenterology and hepatology*, 6(2), 133–148. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2018.04.003>

Mawe, G. M., & Hoffman, J. M. (2013). Serotonin signalling in the gut--functions, dysfunctions and therapeutic targets. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 10(8), 473–486. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.105>

Mayer E. A. (2011). Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication. *Nature reviews. Neuroscience*, 12(8), 453–466. <https://doi.org/10.1038/nrn3071>

McDonald, D., Clemente, J. C., Kuczynski, J., Rideout, J. R., Stombaugh, J., Wendel, D., ... Caporaso, J. G. (2012). The Biological Observation Matrix (BIOM) format or: how I learned to stop worrying and love the ome-ome. *GigaScience*, 1(1), 7. <https://doi.org/10.1186/2047-217X-1-7>

Metzker M. L. (2010). Sequencing technologies - the next generation. *Nature reviews. Genetics*, 11(1), 31–46. <https://doi.org/10.1038/nrg2626>

Ministero della Salute. (2020, October 1). *Autism*. Retrieved October 5, 2020, from http://www.salute.gov.it/portale/salute/p1_5.jsp?id=62&area=Disturbi_psichici

Ministero della Salute. (2016). *Osservatorio nazionale per il monitoraggio dei Disturbi dello Spettro Autistico, partito il progetto*. Retrieved September 15, 2020 from:

http://www.salute.gov.it/portale/news/p3_2_1_1_1.jsp?lingua=italiano&menu=notizie&p=dalministero&id=2502

National Research Council (US) Committee on Metagenomics: Challenges and Functional Applications. (2007). *The New Science of Metagenomics: Revealing the Secrets of Our Microbial Planet*. National Academies Press (US).

Ng, Q., Loke, W., Venkatanarayanan, N., Lim, D., Soh, A., & Yeo, W. (2019). A Systematic Review of the Role of Prebiotics and Probiotics in Autism Spectrum Disorders. *Medicina*, 55(5), 129. <https://doi.org/10.3390/medicina55050129>

Nguyen, N.-P., Warnow, T., Pop, M., & White, B. (2016). A perspective on 16S rRNA operational taxonomic unit clustering using sequence similarity. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 2(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/npjbiofilms.2016.4>

Ogden, C. L., Carroll, M. D., Kit, B. K., & Flegal, K. M. (2014). Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011-2012. *JAMA*, 311(8), 806–814. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.732>

Ou, J., DeLany, J. P., Zhang, M., Sharma, S., & O'Keefe, S. J. D. (2012). Association Between Low Colonic Short-Chain Fatty Acids and High Bile Acids in High Colon Cancer Risk Populations. *Nutrition and Cancer*, 64(1), 34–40. <https://doi.org/10.1080/01635581.2012.630164>

Parracho, H. M., Bingham, M. O., Gibson, G. R., & McCartney, A. L. (2005). Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *Journal of medical microbiology*, 54(10), 987–991. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46101-0>

Perez-Muñoz, M. E., Arrieta, M.-C., Ramer-Tait, A. E., & Walter, J. (2017). A critical assessment of the “sterile womb” and “in utero colonization” hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0268-4>

Quigley E. (2017). Microbiota-Brain-Gut Axis and Neurodegenerative Diseases. *Current neurology and neuroscience reports*, 17(12), 94. <https://doi.org/10.1007/s11910-017-0802-6>

Ramakrishna, B. S. (2013). Role of the gut microbiota in human nutrition and metabolism. *J Gastroenterol Hepatol*, 28, 9–17. <https://doi.org/10.1111/jgh.12294>

Renvoisé, A., Brossier, F., Sougakoff, W., Jarlier, V., & Aubry, A. (2013). Broad-range PCR: Past, present, or future of bacteriology?. *Medecine et maladies infectieuses*, 43(8), 322-330. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2013.06.003>

Rhee, S. H., Pothoulakis, C. & Mayer, E. A. (2009). Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 6(5), 306–314. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2009.35>

Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggiano, G., Gasbarrini, A., & Mele, M. C. (2019). What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. *Microorganisms*, 7(1), 14. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014>

Ristori, M. V., Quagliariello, A., Reddel, S., Ianiro, G., Vicari, S., Gasbarrini, A., & Putignani, L. (2019). Autism, Gastrointestinal Symptoms and Modulation of Gut Microbiota by Nutritional Interventions. *Nutrients*, 11(11), 2812. <https://doi.org/10.3390/nu11112812>

Robertson, C. E., Harris, J. K., Wagner, B. D., Granger, D., Browne, K., Tatem, B., ... Frank, D. N. (2013). Explicet: graphical user interface software for metadata-driven management, analysis and visualization of microbiome data. *Bioinformatics* (Oxford, England), 29(23), 3100–3101. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt526>

Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., & Mahé, F. (2016). VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 4, e2584. <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>

Rusch, K. (2017). *Das Mikrobiom in der Praxis*. Retrieved October 16, 2020, from <https://www.mikrooek.de/seminare/fachtagungen/das-mikrobiom-in-der-praxis/>

Russell, W. R., Gratz, S. W., Duncan, S. H., Holtrop, G., Ince, J., Scobbie, L., ... Wallace, R. J. (2011). High-protein, reduced-carbohydrate weight-loss diets promote metabolite profiles likely to be detrimental to colonic health. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 93(5), 1062–1072. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.002188>

Sánchez, A. (2011, September). *Introduction to Next Generation Sequencing*. Retrieved October 5, 2020, from <https://www.slideshare.net/ueb52/introduction-to-next-generation-sequencing-v2>

Sandler, R. H., Finegold, S. M., Bolte, E. R., Buchanan, C. P., Maxwell, A. P., Väisänen, M.-L., ... Wexler, H. M. (2000). Short-Term Benefit From Oral Vancomycin Treatment of Regressive-Onset Autism. *J Child Neurol*, 15(7), 429–435. <https://doi.org/10.1177/088307380001500701>

Sartor, R. B. (2008). Microbial Influences in Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*, 134(2), 577–594. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.11.059>

Schreck, K. A., Williams, K., & Smith, A. F. (2004). A comparison of eating behaviors between children with and without autism. *Journal of autism and developmental disorders*, 34(4), 433–438. <https://doi.org/10.1023/b:jadd.0000037419.78531.86>

Seitz, H., & Bühringer, G. (2010, July). *Empfehlungen des wissenschaftlichen Kuratoriums der DHS zu Grenzwerten für den Konsum alkoholischer Getränke*. Retrieved October 20, 2020, from: https://www.dhs.de/fileadmin/user_upload/pdf/dhs_stellungnahmen/Grenzwerte_Alkoholkonsum_Jul10.pdf

Sherwin, E., Sandhu, K. V., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2016). May the Force Be With You: The Light and Dark Sides of the Microbiota–Gut–Brain Axis in Neuropsychiatry. *CNS Drugs*, 30(11), 1019–1041. <https://doi.org/10.1007/s40263-016-0370-3>

Società Italiana di Nutrizione Umana. (2014a). *LARN. Livelli di assunzione di riferimento di nutrienti ed energia per la popolazione italiana* (IV ed.). Milano: SICS.

Società Italiana di Nutrizione Umana, LARN. (2014b). *Standard quantitative delle porzioni* (IV ed.). Retrieved from https://sinu.it/wp-content/uploads/2019/07/20141111_LARN_Porzioni.pdf

Strati, F., Cavalieri, D., Albanese, D., De Felice, C., Donati, C., Hayek, J., ... Calabrò, A. (2017). New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders. *Microbiome*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0242-1>

Takahashi, S., Tomita, J., Nishioka, K., Hisada, T., & Nishijima, M. (2014). Development of a prokaryotic universal primer for simultaneous analysis of Bacteria and Archaea using next-generation sequencing. *PloS one*, 9(8), e105592. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105592>

Toden, S., Bird, A. R., Topping, D. L., & Conlon, M. A. (2005). Resistant Starch Attenuates Colonic DNA Damage Induced by Higher Dietary Protein in Rats. *Nutrition and Cancer*, 51(1), 45–51. https://doi.org/10.1207/s15327914nc5101_7

Tomova, A., Husarova, V., Lakatosova, S., Bakos, J., Vlkova, B., Babinska, K., & Ostatnikova, D. (2015). Gastrointestinal microbiota in children with autism in Slovakia. *Physiology & Behavior*, 138, 179–187. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.10.033>

Turnbaugh, P. J., Ridaura, V. K., Faith, J. J., Rey, F. E., Knight, R., & Gordon, J. I. (2009). The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Science translational medicine*, 1(6), 6ra14. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000322>

Vallance, H. D., Koochin, A., Branov, J., Rosen-Heath, A., Bosdet, T., Wang, Z., ... Horvath, G. (2018). Marked elevation in plasma trimethylamine-N-oxide (TMAO) in patients with mitochondrial disorders treated with oral L-carnitine. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, 15, 130–133. <https://doi.org/10.1016/j.ymgmr.2018.04.005>

Vuong, H. E., & Hsiao, E. Y. (2017). Emerging Roles for the Gut Microbiome in Autism Spectrum Disorder. *Biological psychiatry*, 81(5), 411–423. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.08.024>

Wen, L., & Duffy, A. (2017). Factors Influencing the Gut Microbiota, Inflammation, and Type 2 Diabetes. *The Journal of nutrition*, 147(7), 1468S–1475S. <https://doi.org/10.3945/jn.116.240754>

Whipps, J.M., Lewis, K. & Cooke, R.C (1988). Mycoparasitism and plant disease control. In: Burge, NM (editor), *Fungi in Biological Control Systems* (pp. 269). Manchester: Manchester University Press.

WHO (OMS) - World Health Organization. (2000). *Body Mass Index - BMI*. Retrieved October 13, 2020, from: <https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi>

Williams, P. G., Dalrymple, N., & Neal, J. (2000). Eating habits of children with autism. *Pediatric nursing*, 26(3), 259–264

Wimberley, T., Agerbo, E., Pedersen, C. B., Dalsgaard, S., Horsdal, H. T., Mortensen, P. B., ... Yolken, R. H. (2018). Otitis media, antibiotics, and risk of autism spectrum disorder. *Autism research: official journal of the International Society for Autism Research*, 11(10), 1432–1440. <https://doi.org/10.1002/aur.2015>

Xu, M., Xu, X., Li, J., & Li, F. (2019). Association Between Gut Microbiota and Autism Spectrum Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in psychiatry*, 10, 473. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00473>

Yoshii, K., Hosomi, K., Sawane, K., & Kunisawa, J. (2019). Metabolism of Dietary and Microbial Vitamin B Family in the Regulation of Host Immunity. *Front. Nutr.*, 6. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00048>

Zimmer, J., Lange, B., Frick, J.-S., Sauer, H., Zimmermann, K., Schwartz, A., ... Enck, P. (2011). A vegan or vegetarian diet substantially alters the human colonic faecal microbiota. *European Journal of Clinical Nutrition*, 66, 53–60.
<https://doi.org/10.1038/ejcn.2011.141>

Ringraziamenti

Vorrei ringraziare tutte le persone che hanno contribuito con il loro supporto alla realizzazione di questa tesi.

Prima di tutto vorrei ringraziare il mio relatore, il Prof. Luca Masucci e la mia correlatrice, la Dott.ssa Mag. Monica Gasser. Grazie per il vostro sostegno dal punto di vista scientifico e professionale, per la costante ispirazione e per avermi incoraggiata durante lo svolgimento della tesi.

Ringrazio anche tutti coloro che hanno accettato di partecipare allo studio e di essere intervistati contribuendo così alla realizzazione della tesi.

Vorrei inoltre ringraziare il Dipartimento di Psichiatria dell'Ospedale di Bolzano, la Scuola Provinciale Superiore di Sanità "Claudiana" e la "Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS" per aver permesso la realizzazione di questo lavoro di ricerca.

Un ringraziamento va anche al Dott. Fabio Vitadello per l'analisi statistica del questionario e la sua disponibilità.

Desidero ringraziare ancora una volta la Dott.ssa Mag. Monica Gasser, che mi ha accompagnato come coordinatrice non solo durante il percorso di questa tesi, ma durante tutti i tre anni di studio.

Un ringraziamento particolare va anche ai miei compagni di corso, che mi sono stati vicini negli ultimi tre anni e che sono diventati buoni amici. Avete trasformato il tempo degli studi in qualcosa di speciale.

Vorrei infine ringraziare le persone che mi sono sempre state accanto: mia mamma, mio papà, mia sorella e i miei amici. Grazie per avermi dato molto coraggio e forza durante gli ultimi tre anni.

Allegato

Questionario di frequenza di assunzione degli alimenti - FFQ (Food Frequency Questionnaire) – Studio del Microbiota intestinale di bambini affetti da ASD

Madre: 1 ____ kg, 2 ____ m, ____ BMI

Bambino: 3 ____ kg, 4 ____ m, ____ BMI

Gravidanza Madre

5. Quanti liquidi ha bevuto al giorno durante la gravidanza?

- ☐ <0,5L
- ☐ 0,5-1L
- ☐ 1-1,5L
- ☐ 1,5-2L
- ☐ 2-2,5L
- ☐ >2,5L
- ☐ Non me lo ricordo

6. Che tipo di acqua ha bevuto durante la gravidanza?

- ☐ Acqua del rubinetto
- ☐ Acqua in bottiglia
- ☐ Altri: _____
- ☐ Non me lo ricordo

7. Con quale frequenza ha bevuto succhi di frutta (100% frutta) o centrifugati durante la gravidanza?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

8. Con quale frequenza ha consumato una porzione di dolci durante la gravidanza?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese

- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

9. Con quale frequenza si è servito di un cucchiaino di zucchero durante la gravidanza (nel tè, caffè, cacao...)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

10. Con quale frequenza ha bevuto una tazza di caffè durante la gravidanza? (una tazza = 1 espresso/macchiato/cappuccino/latte macchiato/caffè americano)

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

11. Ha seguito una dieta specifica durante la gravidanza?

- ☐ No
- ☐ Dieta vegetariana
- ☐ Dieta pescetariana
- ☐ Dieta vegana
- ☐ Dieta crudista

- ☐ Dieta Paleo
- ☐ Dieta Low carb
- ☐ Dieta Low fat
- ☐ Altri: _____
- ☐ Non me lo ricordo

12. Con quale frequenza ha mangiato una porzione di carne lavorata (salsicce, salame, prosciutto, speck...) durante la gravidanza (una porzione = 50g)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

13. Con quale frequenza ha bevuto alcolici durante la gravidanza?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

14. Che tipo di acqua ha usato per cucinare?

- ☐ Acqua del rubinetto
- ☐ Acqua in bottiglia
- ☐ Altri: _____
- ☐ Non me lo ricordo

15. Ha usato integratori pro-, pre- o simbiotici durante la gravidanza?

- ☐ Sì
- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo
- ☐

16. Dove ha fatto la spesa durante la gravidanza (può scegliere più di una risposta + %)?

- ☐ Sui mercati: _____%.
- ☐ Nei supermercati: _____%.
- ☐ In piccoli negozi: _____%.
- ☐ Nei negozi di prodotti alimentari biologici: _____%.
- ☐ Negozi orientali: _____%.
- ☐ Non me lo ricordo

17. Che tipo di cibi ha preferito acquistare durante la gravidanza (può scegliere più di una risposta)?

- ☐ Alimenti freschi: _____%.
- ☐ Alimenti precotti: _____%.
- ☐ Altri: _____: _____ %
- ☐ Non me lo ricordo

18. Ha sofferto di qualche tipo di allergia/intolleranza durante la gravidanza?

- ☐ No
- ☐ Sì: _____
- ☐ Non me lo ricordo

19. Ha sofferto di sintomi gastrointestinali durante la gravidanza?

- ☐ Sì
- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo

20. Se ha risposto "sì" nella domanda precedente, che tipo di sintomi ha avuto?

- ☐ Reflusso acido / bruciore di stomaco
- ☐ Difficoltà di digestione
- ☐ Nausea/vomito
- ☐ Gonfiore/flatulenza
- ☐ Stipsi
- ☐ Diarrea
- ☐ Altri: _____
- ☐ Non me lo ricordo

21. Ha usato farmaci a base di cortisone?

- ☐ Sì
- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo

22. Ha assunto integratori durante la gravidanza?

- ☐ Sì
- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo

23. Se ha risposto “sì” nella domanda precedente, che tipo di integratori ha preso?

VITAMINE (è possibile scegliere più di una risposta):

- ☐ A
- ☐ B1 - tiamina
- ☐ B2 - riboflavina
- ☐ B3 - niacina
- ☐ B5 - acido pantotenico
- ☐ B6 - pirrossidina
- ☐ B7 - biotina
- ☐ B9 – acido folico
- ☐ B12 - cobalamina
- ☐ C
- ☐ D
- ☐ E
- ☐ Non me lo ricordo

○ MINERALI (è possibile scegliere più di una risposta):

- ☐ Calcio
- ☐ Fosforo
- ☐ Potassio
- ☐ Zolfo
- ☐ Sodio
- ☐ Cloro
- ☐ Magnesio
- ☐ Ferro
- ☐ Zinco
- ☐ Rame
- ☐ Manganese
- ☐ Iodio
- ☐ Selenio
- ☐ Molibdeno
- ☐ Cromo
- ☐ Fluoro
- ☐ Non me lo ricordo

24. Ha usato lassativi durante la gravidanza?

- ☐ Sì
- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo

25. Se ha risposto “sì” nella domanda precedente, con quale frequenza li ha utilizzati?

- ☐ Mai
- ☐ Meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

Allattamento al seno

26. Per quanto tempo ha allattato il suo bambino (compreso durante l'introduzione di alimenti solidi)?

- ☐ Non ho allattato al seno
- ☐ Fino alla 4a settimana
- ☐ Fino alla settimana 5-8
- ☐ Fino alla settimana 9-12
- ☐ Fino alla settimana 13 - 16
- ☐ Fino alla settimana 17 - 20
- ☐ Fino alla settimana 21 - 24
- ☐ Fino alla settimana 25 - 28
- ☐ Fino alla settimana 29 - 32
- ☐ Fino alla settimana 33 e oltre

27. Che tipo di acqua ha bevuto durante l'allattamento?

- ☐ Acqua del rubinetto
- ☐ Acqua in bottiglia
- ☐ Altri: _____
- ☐ Non me lo ricordo

28. Con quale frequenza ha bevuto succhi di frutta (100% frutta) o centrifugati durante l'allattamento?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno

- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

29. Con quale frequenza ha consumato una porzione di dolci durante l'allattamento?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

30. Con quale frequenza si è servito di un cucchiaino di zucchero durante l'allattamento (nel tè, caffè, cacao...)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

31. Con quale frequenza ha bevuto una tazza di caffè? (una tazza = 1 espresso/macchiato/cappuccino/latte macchiato/caffè americano) durante l'allattamento?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

32. Ha seguito una dieta specifica durante l'allattamento?

- ☐ No
- ☐ Dieta vegetariana
- ☐ Dieta pescetariana
- ☐ Dieta vegana
- ☐ Dieta crudista
- ☐ Dieta Paleo
- ☐ Dieta Low carb
- ☐ Dieta Low fat
- ☐ Altri: _____
- ☐ Non me lo ricordo

33. Con quale frequenza ha mangiato una porzione di carne lavorata (salsicce, salame, prosciutto, speck...) durante l'allattamento (una porzione = 50g)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

34. Con quale frequenza ha bevuto alcolici durante l'allattamento?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

35. Ha usato integratori pro-, pre- o simbiotici durante l'allattamento?

- ☐ Sì
- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo

36. Ha utilizzato farmaci a base di cortisone durante l'allattamento?

- ☐ Sì

- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo

37. Ha assunto integratori durante l'allattamento?

- ☐ Sì
- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo

38. Se ha risposto "sì" nella domanda precedente, che tipo di integratori ha preso?

○ VITAMINE (è possibile scegliere più di una risposta):

- ☐ A
- ☐ B1 - tiamina
- ☐ B2 - riboflavina
- ☐ B3 - niacina
- ☐ B5 - acido pantotenico
- ☐ B6 - pirrossidina
- ☐ B7 - biotina
- ☐ B9 - acido folico
- ☐ B12 - cobalamina
- ☐ C
- ☐ D
- ☐ E
- ☐ Non me lo ricordo

○ MINERALI (è possibile scegliere più di una risposta):

- ☐ Calcio
- ☐ Fosforo
- ☐ Potassio
- ☐ Zolfo
- ☐ Sodio
- ☐ Cloro
- ☐ Magnesio
- ☐ Ferro
- ☐ Zinco
- ☐ Rame
- ☐ Manganese
- ☐ Iodio
- ☐ Selenio
- ☐ Molibdeno
- ☐ Cromo
- ☐ Fluoro

- ☐ Non me lo ricordo

Madre - informazioni attuali

39. Quanti liquidi ha bevuto al giorno nell'ultimo mese?

- ☐ <0,5L
- ☐ 0,5-1L
- ☐ 1-1,5L
- ☐ 1,5-2L
- ☐ 2-2,5L
- ☐ >2,5L
- ☐ Non me lo ricordo

40. Che tipo di acqua ha bevuto nell'ultimo mese?

- ☐ Acqua del rubinetto
- ☐ Acqua in bottiglia
- ☐ Altri: _____
- ☐ Non me lo ricordo

41. Con quale frequenza ha bevuto succhi di frutta (100% frutta) o centrifugati nell'ultimo mese?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

42. Con quale frequenza ha consumato una porzione di dolci nell'ultimo mese?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

43. Con quale frequenza si è servito di un cucchiaino di zucchero nell'ultimo mese (nel tè, caffè, cacao...)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

44. Con quale frequenza ha bevuto una tazza di caffè nell'ultimo mese? (una tazza = 1 espresso/macchiato/cappuccino/latte macchiato/caffè americano)

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

45. Ha seguito una dieta specifica nell'ultimo mese?

- ☐ No
- ☐ Dieta vegetariana
- ☐ Dieta pescetariana
- ☐ Dieta vegana
- ☐ Dieta crudista
- ☐ Dieta Paleo
- ☐ Dieta Low carb
- ☐ Dieta Low fat
- ☐ Altri: _____
- ☐ Non me lo ricordo

46. Con quale frequenza ha bevuto alcolici nell'ultimo mese?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese

- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

47. Che tipo di acqua ha usato per cucinare (nell'ultimo mese)?

- ☐ Acqua del rubinetto
- ☐ Acqua in bottiglia
- ☐ Altri: _____
- ☐ Non me lo ricordo

48. Ha usato integratori pro-, pre- o simbiotici negli ultimi 6 mesi?

- ☐ Sì
- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo

49. Dove ha fatto la spesa negli ultimi 3 mesi (può scegliere più di una risposta)?

- ☐ sui mercati: _____%.
- ☐ nei supermercati: _____%.
- ☐ in piccoli negozi: _____%.
- ☐ nei negozi di prodotti alimentari biologici: _____%.
- ☐ nei negozi orientali: _____%.
- ☐ Non me lo ricordo

50. Che tipo di cibi ha preferito acquistare negli ultimi 3 mesi (è possibile scegliere più di una risposta)?

- ☐ alimenti freschi: _____%.
- ☐ alimenti precotti: _____%.
- ☐ alimenti surgelati: _____%.
- ☐ Altri: _____: _____%
- ☐ Non me lo ricordo

51. Soffre di qualche tipo di allergia/intolleranza?

- ☐ No
- ☐ Sì: _____
- ☐ Non me lo ricordo

52. Ha sofferto di sintomi gastrointestinali nell'ultimo mese?

- ☐ Sì
- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo

53. Se ha risposto “sì” nella domanda precedente, che tipo di sintomi aveva?

- ☐ Reflusso acido / bruciore di stomaco
- ☐ Difficoltà di digestione
- ☐ Nausea/vomito
- ☐ Gonfiore/flatulenza
- ☐ Stipsi
- ☐ Diarrea
- ☐ Altri: _____
- ☐ Non me lo ricordo

54. Ha utilizzato farmaci a base di cortisone negli ultimi 3 mesi?

- ☐ Sì
- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo

55. Ha preso qualche integratore nell'ultimo mese?

- ☐ Sì
- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo

56. Se ha risposto „sì” nella domanda precedente, che tipo di integratori ha preso?

- VITAMINE (è possibile scegliere più di una risposta):
 - ☐ A
 - ☐ B1 - tiamina
 - ☐ B2 - riboflavina
 - ☐ B3 - niacina
 - ☐ B5 - acido pantotenico
 - ☐ B6 - pirrossidina
 - ☐ B7 - biotina
 - ☐ B9 - acido folico
 - ☐ B12 - cobalamina
 - ☐ C
 - ☐ D
 - ☐ E
 - ☐ Non me lo ricordo
- MINERALI (è possibile scegliere più di una risposta):
 - ☐ Calcio
 - ☐ Fosforo
 - ☐ Potassio
 - ☐ Zolfo
 - ☐ Sodio

- ☐ Cloro
- ☐ Magnesio
- ☐ Ferro
- ☐ Zinco
- ☐ Rame
- ☐ Manganese
- ☐ Iodio
- ☐ Selenio
- ☐ Molibdeno
- ☐ Cromo
- ☐ Fluoro
- ☐ Non me lo ricordo

57. Con quale frequenza è andata in bagno nell'ultimo mese?

- ☐ Meno di 1 volta alla settimana
- ☐ 1-2 volte a settimana
- ☐ 3-4 volte a settimana
- ☐ 5-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2 volte al giorno
- ☐ 3 volte al giorno
- ☐ 4 e più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

58. Ha usato lassativi nell'ultimo mese?

- ☐ Sì
- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo

59. Se ha risposto „sì” nella domanda precedente, con quale frequenza li ha utilizzati?

- ☐ mai
- ☐ Meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

60. Con quale frequenza ha consumato una porzione di frutta nell'ultimo mese? (una porzione = 150g)

- ☐ Mai
- ☐ 1-3 volte nell'ultimo mese
- ☐ Una porzione alla settimana
- ☐ 2-4 porzioni a settimana
- ☐ 5-6 porzioni a settimana
- ☐ Una porzione al giorno
- ☐ 2 porzioni al giorno
- ☐ 3 porzioni al giorno
- ☐ 4 porzioni al giorno
- ☐ 5 e più porzioni al giorno

61. Con quale frequenza ha consumato una porzione di verdura cotta (compresi i fagiolini) /verdure a foglia nell'ultimo mese? (una porzione = 200g di verdure o 80g di verdure a foglia)

- ☐ Mai
- ☐ 1-3 volte nell'ultimo mese
- ☐ Una porzione alla settimana
- ☐ 2-4 porzioni a settimana
- ☐ 5-6 porzioni a settimana
- ☐ Una porzione al giorno
- ☐ 2 porzioni al giorno
- ☐ 3 porzioni al giorno
- ☐ 4 porzioni al giorno
- ☐ 5 e più porzioni al giorno

62. Con quale frequenza ha consumato una porzione di verdura cruda nell'ultimo mese? (una porzione = 200; verdure a foglia = 80g)

- ☐ Mai
- ☐ 1-3 volte nell'ultimo mese
- ☐ Una porzione alla settimana
- ☐ 2-4 porzioni a settimana
- ☐ 5-6 porzioni a settimana
- ☐ Una porzione al giorno
- ☐ 2 porzioni al giorno
- ☐ 3 porzioni al giorno
- ☐ 4 porzioni al giorno
- ☐ 5 e più porzioni al giorno

63. Con quale frequenza ha consumato una porzione di legumi nell'ultimo mese (una porzione = 150g freschi/50g secchi)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4 o più volte al giorno

64. Con quale frequenza ha consumato alimenti amidacei (una porzione = 80g di pasta, riso, mais, grano saraceno, avena, orzo, farro; 50g di pane, 200g di patate) nell'ultimo mese?

- ☐ Mai
- ☐ 1-3 porzione nell'ultimo mese
- ☐ Una porzione alla settimana
- ☐ 2-4 porzioni a settimana
- ☐ 5-6 porzioni a settimana
- ☐ Una porzione al giorno
- ☐ 2 porzioni al giorno
- ☐ 3 porzioni al giorno
- ☐ 4 porzioni al giorno
- ☐ 5 e più porzioni al giorno

65. Che tipo di cereali ha consumato nell'ultimo mese? (può scegliere più di una risposta)

- ☐ Cereali che contengono glutine
- ☐ Cereali senza glutine

66. Quanti dei cereali e dei prodotti a base di cereali che ha consumato contenevano glutine?

- ☐ 0-5%
- ☐ 6-25%
- ☐ 26-50%
- ☐ 51-75%
- ☐ 75%-90%
- ☐ 91-95%
- ☐ >96%

67. Quanti dei cereali e dei prodotti a base di cereali che ha consumato nell'ultimo mese erano prodotti integrali?

- ☐ 0-5%
- ☐ 6-25%
- ☐ 26-50%

- ☐ 51-75%
- ☐ 75%-90%
- ☐ 91-95%
- ☐ >96%

68. Grassi aggiunti durante la cottura: con quale frequenza ha usato burro o margarina durante e dopo la cottura nell'ultimo mese?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

69. Quanto è grande una porzione di burro/margarina?

- ☐ Meno di 1 cucchiaino
- ☐ 1-2 cucchiaini da tè
- ☐ 3-4 cucchiaini
- ☐ > 4 cucchiaini

70. Grassi aggiunti durante la cottura: Con quale frequenza ha usato oli vegetali durante la cottura nell'ultimo mese?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

71. Quanto è grande una porzione di olio?

- ☐ Meno di 1 cucchiaino
- ☐ 1-2 cucchiaini da tè
- ☐ 3-4 cucchiaini
- ☐ > 4 cucchiaini

72. Che tipo di olio usa di solito durante la cottura (può scegliere più di una risposta)?

- ☐ Olio di semi

- ☐ Olio di semi di girasole
- ☐ Olio di cocco
- ☐ Olio di mais
- ☐ Olio d'oliva
- ☐ Olio di colza
- ☐ Olio di semi di lino
- ☐ Olio di noci
- ☐ Olio di germe di grano
- ☐ Olio di arachidi
- ☐ Altri

73. Grassi aggiunti durante la cottura: Con quale frequenza ha usato oli vegetali dopo la cottura/aggiunta a tavola nell'ultimo mese?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

74. Quanto è grande una porzione di olio?

- ☐ Meno di 1 cucchiaino
- ☐ 1-2 cucchiaini da tè
- ☐ 3-4 cucchiaini
- ☐ > 4 cucchiaini

75. Che tipo di olio usa di solito dopo aver cucinato/aggiunto a tavola (si può scegliere più di una risposta)?

- ☐ Olio di semi
- ☐ Olio di semi di girasole
- ☐ Olio di cocco
- ☐ Olio di mais
- ☐ Olio d'oliva
- ☐ Olio di colza
- ☐ Olio di semi di lino
- ☐ Olio di noci
- ☐ Olio di germe di grano
- ☐ Olio di arachidi
- ☐ Altri

76. Con quale frequenza ha consumato una porzione di frutta secca nell'ultimo mese? (una porzione = 30g)

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

77. Con quale frequenza ha consumato latte/latticini nell'ultimo mese (una porzione = 125 g di yogurt, 200ml di latte, 100 g di formaggio fresco, 50 g di formaggio a pasta dura)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

78. Con quale frequenza ha mangiato carne (bianca e rossa, escluse salsicce, salame, prosciutto, speck...) nell'ultimo mese (una porzione = 120g)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

79. Con quale frequenza ha mangiato una porzione di carne lavorata (salsicce, salame, prosciutto, speck...) nell'ultimo mese (una porzione = 50g)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese

- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

80. Con quale frequenza ha mangiato pesce nell'ultimo mese (una porzione = 150g)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

81. Con quale frequenza ha mangiato le uova nell'ultimo mese (una porzione = 50g)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

82. Con quale frequenza ha praticato sport nell'ultimo mese?

- ☐ 30 minuti o meno a settimana
- ☐ 30-60 minuti a settimana
- ☐ 60-90 minuti a settimana
- ☐ 90-120 minuti a settimana
- ☐ 2-3 ore alla settimana
- ☐ 3-4 ore alla settimana
- ☐ 4-6 ore alla settimana
- ☐ 6-9 ore alla settimana
- ☐ Più di 9 ore alla settimana

Allattamento al seno dei bambini e introduzione di alimenti solidi

83. Per quanto tempo il bambino ha ricevuto esclusivamente latte materno?

- ☐ Nessun allattamento al seno
- ☐ Fino alla 4a settimana
- ☐ Fino alla settimana 4-12
- ☐ Fino alla settimana 13 - 16
- ☐ Fino alla settimana 17 - 20
- ☐ Fino alla settimana 21 - 24
- ☐ Fino alla settimana 25 - 28
- ☐ Fino alla settimana 29 - 32
- ☐ Fino alla settimana 33 e oltre

84. Il suo bambino è stato alimentato con il latte artificiale?

- ☐ Sì
- ☐ No

85. Se ha risposto sì nella domanda precedente: quando avete iniziato con il latte artificiale?

- ☐ Nessun latte in polvere
- ☐ Subito dopo la nascita
- ☐ Tra la settimana 2 - 4
- ☐ Tra la settimana 5-8
- ☐ Tra la settimana 9-12
- ☐ Tra la settimana 13 - 16
- ☐ Tra la settimana 17 - 20
- ☐ Tra la settimana 21 - 24
- ☐ Tra la settimana 25 - 28
- ☐ Tra la settimana 29 - 32
- ☐ Dopo la settimana 33

86. Quando ha iniziato a introdurre i cibi solidi?

- ☐ Prima della 4a settimana
- ☐ Tra la 4a e la 8a settimana
- ☐ Tra la settimana 8 e la settimana 12
- ☐ Tra la settimana 13 e la settimana 16
- ☐ Tra la settimana 17 e la settimana 20
- ☐ Tra la settimana 21 e la settimana 24
- ☐ Tra la settimana 25 e la settimana 28
- ☐ Tra la settimana 29 e la settimana 32
- ☐ Tra la settimana 33 e la settimana 36
- ☐ Tra la settimana 37 e la settimana 40
- ☐ Tra la settimana 41 e la settimana 44

- ☐ Dopo la settimana 45

87. In quale settimana ha introdotto le verdure?

- ☐ Prima della 4a settimana
- ☐ Tra la 4a e la 8a settimana
- ☐ Tra la settimana 8 e la settimana 12
- ☐ Tra la settimana 13 e la settimana 16
- ☐ Tra la settimana 17 e la settimana 20
- ☐ Tra la settimana 21 e la settimana 24
- ☐ Tra la settimana 25 e la settimana 28
- ☐ Tra la settimana 29 e la settimana 32
- ☐ Tra la settimana 33 e la settimana 36
- ☐ Tra la settimana 37 e la settimana 40
- ☐ Tra la settimana 41 e la settimana 44
- ☐ Dopo la settimana 45

88. In quale settimana ha introdotto le patate?

- ☐ Prima della 4a settimana
- ☐ Tra la 4a e la 8a settimana
- ☐ Tra la settimana 8 e la settimana 12
- ☐ Tra la settimana 13 e la settimana 16
- ☐ Tra la settimana 17 e la settimana 20
- ☐ Tra la settimana 21 e la settimana 24
- ☐ Tra la settimana 25 e la settimana 28
- ☐ Tra la settimana 29 e la settimana 32
- ☐ Tra la settimana 33 e la settimana 36
- ☐ Tra la settimana 37 e la settimana 40
- ☐ Tra la settimana 41 e la settimana 44
- ☐ Dopo la settimana 45

89. In quale settimana ha introdotto la carne?

- ☐ Prima della 4a settimana
- ☐ Tra la 4a e la 8a settimana
- ☐ Tra la settimana 8 e la settimana 12
- ☐ Tra la settimana 13 e la settimana 16
- ☐ Tra la settimana 17 e la settimana 20
- ☐ Tra la settimana 21 e la settimana 24
- ☐ Tra la settimana 25 e la settimana 28
- ☐ Tra la settimana 29 e la settimana 32
- ☐ Tra la settimana 33 e la settimana 36
- ☐ Tra la settimana 37 e la settimana 40
- ☐ Tra la settimana 41 e la settimana 44

- ☐ Dopo la settimana 45

90. In quale settimana ha introdotto il pesce?

- ☐ Prima della 4a settimana
- ☐ Tra la 4a e la 8a settimana
- ☐ Tra la settimana 8 e la settimana 12
- ☐ Tra la settimana 13 e la settimana 16
- ☐ Tra la settimana 17 e la settimana 20
- ☐ Tra la settimana 21 e la settimana 24
- ☐ Tra la settimana 25 e la settimana 28
- ☐ Tra la settimana 29 e la settimana 32
- ☐ Tra la settimana 33 e la settimana 36
- ☐ Tra la settimana 37 e la settimana 40
- ☐ Tra la settimana 41 e la settimana 44
- ☐ Dopo la settimana 45

91. In quale settimana ha introdotto i cereali senza glutine?

- ☐ Prima della 4a settimana
- ☐ Tra la 4a e la 8a settimana
- ☐ Tra la settimana 8 e la settimana 12
- ☐ Tra la settimana 13 e la settimana 16
- ☐ Tra la settimana 17 e la settimana 20
- ☐ Tra la settimana 21 e la settimana 24
- ☐ Tra la settimana 25 e la settimana 28
- ☐ Tra la settimana 29 e la settimana 32
- ☐ Tra la settimana 33 e la settimana 36
- ☐ Tra la settimana 37 e la settimana 40
- ☐ Tra la settimana 41 e la settimana 44
- ☐ Dopo la settimana 45

92. In quale settimana ha introdotto i cereali che contengono glutine?

- ☐ Prima della 4a settimana
- ☐ Tra la 4a e la 8a settimana
- ☐ Tra la settimana 8 e la settimana 12
- ☐ Tra la settimana 13 e la settimana 16
- ☐ Tra la settimana 17 e la settimana 20
- ☐ Tra la settimana 21 e la settimana 24
- ☐ Tra la settimana 25 e la settimana 28
- ☐ Tra la settimana 29 e la settimana 32
- ☐ Tra la settimana 33 e la settimana 36
- ☐ Tra la settimana 37 e la settimana 40
- ☐ Tra la settimana 41 e la settimana 44

- ☐ Dopo la settimana 45

93. In quale settimana ha introdotto il latte?

- ☐ Prima della 4a settimana
- ☐ Tra la 4a e la 8a settimana
- ☐ Tra la settimana 8 e la settimana 12
- ☐ Tra la settimana 13 e la settimana 16
- ☐ Tra la settimana 17 e la settimana 20
- ☐ Tra la settimana 21 e la settimana 24
- ☐ Tra la settimana 25 e la settimana 28
- ☐ Tra la settimana 29 e la settimana 32
- ☐ Tra la settimana 33 e la settimana 36
- ☐ Tra la settimana 37 e la settimana 40
- ☐ Tra la settimana 41 e la settimana 44
- ☐ Dopo la settimana 45

94. In quale settimana ha introdotto la frutta?

- ☐ Prima della 4a settimana
- ☐ Tra la 4a e la 8a settimana
- ☐ Tra la settimana 8 e la settimana 12
- ☐ Tra la settimana 13 e la settimana 16
- ☐ Tra la settimana 17 e la settimana 20
- ☐ Tra la settimana 21 e la settimana 24
- ☐ Tra la settimana 25 e la settimana 28
- ☐ Tra la settimana 29 e la settimana 32
- ☐ Tra la settimana 33 e la settimana 36
- ☐ Tra la settimana 37 e la settimana 40
- ☐ Tra la settimana 41 e la settimana 44
- ☐ Dopo la settimana 45

Bambino - informazioni attuali (porzioni= bambini da 4-6 anni / bambini da 7-10 anni)

95. Quanti liquidi il bambino ha bevuto al giorno nell'ultimo mese?

- ☐ <0,5L
- ☐ 0,5-1L
- ☐ 1-1,5L
- ☐ 1,5-2L
- ☐ 2-2,5L
- ☐ >2,5L
- ☐ Non lo so

96. Che tipo di acqua ha bevuto nell'ultimo mese?

- ☐ Acqua del rubinetto

- ☐ Acqua in bottiglia
- ☐ Altri: _____
- ☐ Non lo so

97. Con quale frequenza il bambino ha bevuto succhi di frutta (100% frutta) o centrifugati nell'ultimo mese?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

98. Con quale frequenza il bambino ha consumato una porzione di dolci nell'ultimo mese?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

99. Con quale frequenza il bambino si è servito di un cucchiaino di zucchero nell'ultimo mese (tè, caffè, cacao...)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

100. Con quale frequenza il bambino ha bevuto una tazza di caffè nell'ultimo mese? (una tazza = 1 espresso/macchiato/cappuccino/latte macchiato/caffè americano)

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

101. Il bambino ha seguito una dieta specifica nell'ultimo mese?

- ☐ No
- ☐ Dieta vegetariana
- ☐ Dieta pescetariana
- ☐ Dieta vegana
- ☐ Dieta crudista
- ☐ Dieta Paleo
- ☐ Dieta Low carb
- ☐ Dieta Low fat
- ☐ Altri: _____
- ☐ Non me lo ricordo

102. Che tipo di acqua ha usato per cucinare i pasti del bambino (nell'ultimo mese)?

- ☐ Acqua del rubinetto
- ☐ Acqua in bottiglia
- ☐ Altri: _____
- ☐ Non me lo ricordo

103. Il bambino ha usato integratori pro-, pre- o simbiotici negli ultimi 6 mesi?

- ☐ Sì
- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo

104. Dove sono stati acquistati gli alimenti per il bambino negli ultimi 3 mesi (si può scegliere più di una risposta)?

- ☐ sui mercati: _____%.
- ☐ nei supermercati: _____%.
- ☐ in piccoli negozi: _____%.

- ☐ nei negozi di prodotti alimentari biologici: _____%.
- ☐ In negozi orientali: _____%.
- ☐ Non me lo ricordo

105. Che tipo di cibo ha preferito acquistare per il bambino negli ultimi 3 mesi (potete scegliere più di una risposta)?

- ☐ alimenti freschi: _____%.
- ☐ alimenti precotti: _____%.
- ☐ alimenti surgelati: _____%.
- ☐ Altri: _____: _____%
- ☐ Non me lo ricordo

106. Il bambino soffre di qualche tipo di allergia/intolleranza?

- ☐ No
- ☐ Sì: _____
- ☐ Non me lo ricordo

107. Nell'ultimo mese ha sofferto di sintomi gastrointestinali?

- ☐ Sì
- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo

108. Se ha risposto "sì" nella domanda precedente, che tipo di sintomi aveva?

- ☐ Reflusso acido / bruciore di stomaco
- ☐ Difficoltà di digestione
- ☐ Nausea/vomito
- ☐ Gonfiore/flatulenza
- ☐ Stipsi
- ☐ Diarrea
- ☐ Altri: _____
- ☐ Non me lo ricordo

109. Il bambino ha utilizzato farmaci a base di cortisone negli ultimi 3 mesi?

- ☐ Sì
- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo

110. Il bambino ha preso qualche integratore nell'ultimo mese?

- ☐ Sì
- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo

111. Se ha risposto „sì“ nella domanda precedente, che tipo di integratori ha preso?

- VITAMINE (è possibile scegliere più di una risposta):
 - ☐ A

- ☐ B1 - tiamina
- ☐ B2 - riboflavina
- ☐ B3 - niacina
- ☐ B5 - acido pantotenico
- ☐ B6 - pirossidina
- ☐ B7 - biotina
- ☐ B9 - acido folico
- ☐ B12 - cobalamina
- ☐ C
- ☐ D
- ☐ E
- ☐ Non me lo ricordo

○ MINERALI (è possibile scegliere più di una risposta):

- ☐ Calcio
- ☐ Fosforo
- ☐ Potassio
- ☐ Zolfo
- ☐ Sodio
- ☐ Cloro
- ☐ Magnesio
- ☐ Ferro
- ☐ Zinco
- ☐ Rame
- ☐ Manganese
- ☐ Iodio
- ☐ Selenio
- ☐ Molibdeno
- ☐ Cromo
- ☐ Fluoro
- ☐ Non me lo ricordo

112. Con quale frequenza il bambino è andato in bagno nell'ultimo mese?

- ☐ Meno di 1 volta alla settimana
- ☐ 1-2 volte a settimana
- ☐ 3-4 volte a settimana
- ☐ 5-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2 volte al giorno
- ☐ 3 volte al giorno
- ☐ 4 e più volte al giorno

- ☐ Non me lo ricordo

113. Ha usato lassativi nell'ultimo mese?

- ☐ Sì
- ☐ No
- ☐ Non me lo ricordo

114. Se ha risposto sì nella domanda precedente, con quale frequenza li ha utilizzati?

- ☐ Mai
- ☐ Meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2 o più volte al giorno
- ☐ Non me lo ricordo

115. Con quale frequenza il bambino ha consumato una porzione di frutta nell'ultimo mese? (una porzione = 80g / 100g)

- ☐ Mai
- ☐ 1-3 volte nell'ultimo mese
- ☐ Una porzione alla settimana
- ☐ 2-4 porzioni a settimana
- ☐ 5-6 porzioni a settimana
- ☐ Una porzione al giorno
- ☐ 2 porzioni al giorno
- ☐ 3 porzioni al giorno
- ☐ 4 porzioni al giorno
- ☐ 5 e più porzioni al giorno

116. Con quale frequenza il bambino ha consumato una porzione di verdura cotta (compresi i fagiolini) /verdure a foglia nell'ultimo mese? (una porzione = 120g / 150g)

- ☐ Mai
- ☐ 1-3 volte nell'ultimo mese
- ☐ Una porzione alla settimana
- ☐ 2-4 porzioni a settimana
- ☐ 5-6 porzioni a settimana
- ☐ Una porzione al giorno
- ☐ 2 porzioni al giorno
- ☐ 3 porzioni al giorno

- ☐ 4 porzioni al giorno
- ☐ 5 e più porzioni al giorno

117. Con quale frequenza il bambino ha consumato una porzione di verdura cruda nell'ultimo mese? (una porzione = 120g / 150g di verdura o 40g / 50g di insalata)

- ☐ Mai
- ☐ 1-3 volte nell'ultimo mese
- ☐ Una porzione alla settimana
- ☐ 2-4 porzioni a settimana
- ☐ 5-6 porzioni a settimana
- ☐ Una porzione al giorno
- ☐ 2 porzioni al giorno
- ☐ 3 porzioni al giorno
- ☐ 4 porzioni al giorno
- ☐ 5 e più porzioni al giorno

118. Con quale frequenza il bambino ha consumato una porzione di legumi nell'ultimo mese (una porzione = 60g / 90g freschi o 20g / 30g secchi)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4 o più volte al giorno

119. Con quale frequenza il bambino ha consumato alimenti amidacei (una porzione = 50g / 70g di pasta, riso, mais, grano saraceno, avena, orzo, farro; 40g / 50g di pane, 100 / 150g di patate) nell'ultimo mese?

- ☐ Mai
- ☐ 1-3 porzione nell'ultimo mese
- ☐ Una porzione alla settimana
- ☐ 2-4 porzioni a settimana
- ☐ 5-6 porzioni a settimana
- ☐ Una porzione al giorno
- ☐ 2 porzioni al giorno
- ☐ 3 porzioni al giorno
- ☐ 4 porzioni al giorno
- ☐ 5 e più porzioni al giorno

120. Che tipo di cereali il bambino ha consumato nell'ultimo mese? (può scegliere più di una risposta)

- ☐ Cereali che contengono glutine
- ☐ Cereali senza glutine

121. Quanti dei cereali e dei prodotti a base di cereali che il bambino ha consumato nell'ultimo mese contenevano glutine?

- ☐ 0-5%
- ☐ 6-25%
- ☐ 26-50%
- ☐ 51-75%
- ☐ 75%-90%
- ☐ 91-95%
- ☐ >96%

122. Quanti dei cereali e dei prodotti a base di cereali che il bambino ha consumato nell'ultimo mese erano prodotti integrali?

- ☐ 0-5%
- ☐ 6-25%
- ☐ 26-50%
- ☐ 51-75%
- ☐ 75%-90%
- ☐ 91-95%
- ☐ >96%

123. Grassi aggiunti durante la cottura: con quale frequenza ha usato burro o margarina durante e dopo la cottura per i pasti del bambino?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

124. Quanto è grande una porzione di burro/margarina?

- ☐ Meno di 1 cucchiaino
- ☐ 1-2 cucchiaini da tè
- ☐ 3-4 cucchiaini
- ☐ 4 cucchiaini

125. Grassi aggiunti durante la cottura: Con quale frequenza ha usato oli vegetali durante la cottura per i pasti del bambino?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

126. Quanto è grande una porzione di olio?

- ☐ Meno di 1 cucchiaino
- ☐ 1-2 cucchiaini da tè
- ☐ 3-4 cucchiaini
- ☐ 4 cucchiaini

127. Che tipo di olio ha usata per la preparazione dei pasti del bambino nell'ultimo mese (si può scegliere più di una risposta)? Olio di semi

- ☐ Olio di semi di girasole
- ☐ Olio di cocco
- ☐ Olio di mais
- ☐ Olio d'oliva
- ☐ Olio di colza
- ☐ Olio di semi di lino
- ☐ Olio di noci
- ☐ Olio di germe di grano
- ☐ Olio di arachidi
- ☐ Altri

128. Grassi aggiunti durante la cottura: Con quale frequenza ha usato oli vegetali dopo la cottura/aggiunta a tavola per i pasti del bambino?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

129. Quanto è grande una porzione di olio?

- ☐ Meno di 1 cucchiaino
- ☐ 1-2 cucchiaini da tè
- ☐ 3-4 cucchiaini
- ☐ > 4 cucchiaini

130. Che tipo di olio usa di solito dopo aver cucinato/aggiunto a tavola per i pasti del bambino (si può scegliere più di una risposta)?

- ☐ Olio di semi
- ☐ Olio di semi di girasole
- ☐ Olio di cocco
- ☐ Olio di mais
- ☐ Olio d'oliva
- ☐ Olio di colza
- ☐ Olio di semi di lino
- ☐ Olio di noci
- ☐ Olio di germe di grano
- ☐ Olio diarachidi
- ☐ Altri

131. Con quale frequenza il bambino ha consumato una porzione di frutta secca nell'ultimo mese (una porzione = 20g / 30g)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

132. Con quale frequenza il bambino ha consumato latte/latticini nell'ultimo mese (una porzione = 125 g di yogurt, 200ml di latte, 40g / 70 g di formaggio fresco, 30g / 50 g di formaggio a pasta dura)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno

- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

133. Con quale frequenza il bambino ha mangiato carne (bianca e rossa, escluse salsicce, salame, prosciutto, speck...) nell'ultimo mese (una porzione = 45g / 80g)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

134. Con quale frequenza il bambino ha mangiato una porzione di carne lavorata (salsicce, salame, prosciutto, speck...) nell'ultimo mese (una porzione = 30g / 40g)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

135. Con quale frequenza il bambino ha mangiato pesce nell'ultimo mese (una porzione = 60g / 80g)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

136. Con quale frequenza il bambino ha mangiato le uova nell'ultimo mese (una porzione = 50g)?

- ☐ Mai o meno di 1 volta al mese
- ☐ 1 volta al mese
- ☐ 2-3 volte al mese
- ☐ 1-3 volte a settimana
- ☐ 4-6 volte a settimana
- ☐ 1 volta al giorno
- ☐ 2-3 volte al giorno
- ☐ 4-5 volte al giorno
- ☐ 6 o più volte al giorno

137. Con quale frequenza il bambino ha praticato sport nell'ultimo mese?

- ☐ 30 minuti o meno a settimana
- ☐ 30-60 minuti a settimana
- ☐ 60-90 minuti a settimana
- ☐ 90-120 minuti a settimana
- ☐ 2-3 ore alla settimana
- ☐ 3-4 ore alla settimana
- ☐ 4-6 ore alla settimana
- ☐ 6-9 ore alla settimana
- ☐ Più di 9 ore alla settimana

RIFERIMENTI:

- Porzioni standard: https://sinu.it/wp-content/uploads/2019/07/20141111_LARN_Porzioni.pdf (Larn 2014)
- <https://epi.grants.cancer.gov/dhq3/dhq3-past-month-with-serving-sizes-questionnaire.pdf> DHQ III - past month with serving sizes (US - Istituto nazionale per il cancro)
- <https://www.dge.de/nachrichten/detail/mit-nuessen-und-mandeln-das-herz-schuetzen/>
- https://www.crea.gov.it/documents/59764/0/Dossier+LG+2017_CAP10.pdf/627ccb4d-4f80-cc82-bd3a-7156c27ddd4a?t=1575530729812
(Appendice: Tabella A₃ e A₄)

Come unico autore di questa Tesi di Laurea rispondo del contenuto ai sensi di legge sul diritto d'autore.

Dichiaro di aver elaborato personalmente la suddetta opera nel rispetto delle vigenti disposizioni sul diritto d'autore e del Codice Civile.

Data

Firma

Bolzano, il 09.11.2020
