

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**Le fibre nell'alimentazione umana:
aspetti nutrizionali, tecnologici e sanitari**

Marco Guidotti (a), Carla Fiorentini (b),
Loredana Falzano (b), Paolo Stacchini (a)

*(a) Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare
(b) Dipartimento del Farmaco*

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN

08/27

Istituto Superiore di Sanità

Le fibre nell'alimentazione umana: aspetti nutrizionali, tecnologici e sanitari.

Marco Guidotti, Carla Fiorentini, Loredana Falzano, Paolo Stacchini

2008, 44 p. Rapporti ISTISAN 08/27

Le fibre esercitano effetti di tipo funzionale e metabolico e sono considerate un'importante componente della dieta umana. Sono significativamente presenti in alimenti quali cereali, legumi, ortaggi e frutta, di largo consumo nella dieta dei Paesi mediterranei. Per le loro proprietà addensanti e gelificanti, alcune fibre sono ampiamente utilizzate come additivi nella preparazione e trasformazione degli alimenti. Trovano impiego, come integratori, nell'ambito di diete finalizzate al controllo del peso per le loro capacità sazianti. Qualora assunte in eccesso possono influire negativamente sull'assorbimento di nutrienti e contribuire significativamente all'esposizione a contaminanti chimici ambientali. Alcune fibre alimentari sembrano, poi, svolgere un ruolo attivo nella competizione tra i batteri commensali e quelli patogeni, favorendo lo sviluppo dei primi e inibendo la crescita dei batteri patogeni nel colon. In studi scientifici recenti sono state individuate correlazioni tra assunzione di fibre alimentari e riduzione del rischio per malattie cronico-degenerative quali i tumori al colon-retto, il diabete e le malattie cardiovascolari.

Parole chiave: Fibra alimentare, Additivi alimentari, Oligosaccaridi, Dieta, Prebiotici, Microbiota

Istituto Superiore di Sanità

The fibres in human diet: nutritional, technological and health aspects.

Marco Guidotti, Carla Fiorentini, Loredana Falzano, Paolo Stacchini

2008, 44 p. Rapporti ISTISAN 08/27 (in Italian)

Fibres exert metabolic and functional effects and are considered an important component of human diet. Significant quantities of fibres are present in dietary foods such as cereals, legumes, green vegetables and fruit, of large consumption in Mediterranean countries. Due to their thickening and gelatinizing properties, some fibres are widely used as additives in the preparation and transformation of foods. Fibres are included as supplements in diets directed at controlling weight, for their capacity to induce satiety. If consumed in large quantities, fibres negatively influence the absorption of nutrients and could be a supplementary source of environmental chemical contaminants. Some fibre foods appear to have an active role in the competition between commensal and pathogenic bacteria, favouring the development of the former and inhibiting the growth of the latter in the colon. Recent scientific studies evidenced correlations between the introduction of fibres with foods and the reduction of risk of chronic-degenerative diseases, in particular colon-rectal tumours, diabetes and cardiovascular diseases.

Key words: Dietary fibre, Food additives, Oligosaccharides, Diet, Prebiotics, Microbiota

Si ringrazia il prof. Agostino Macrì per aver consentito la realizzazione del rapporto.

Per informazioni su questo argomento rivolgersi a: marco.guidotti@iss.it, carla.fiorentini@iss.it.

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it.

Citare questo documento come segue:

Guidotti M, Fiorentini C, Falzano L, Stacchini P. *Le fibre nell'alimentazione umana: aspetti nutrizionali, tecnologici e sanitari*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2008. (Rapporti ISTISAN 08/27).

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro, Sara Modigliani e Sandra Salinetti*
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© Istituto Superiore di Sanità 2008

INDICE

L'importanza delle fibre nell'alimentazione umana: aspetti nutrizionali, tecnologici e sanitari	1
Introduzione.....	1
Cosa sono le fibre	3
Biosintesi delle fibre nelle piante	3
La parete cellulare primaria.....	3
La parete cellulare secondaria	4
Le fibre presenti nei vegetali	4
Le fibre insolubili	5
Le fibre solubili	6
Prebiotici e microbiota.....	8
L'intestino umano: una barriera fisica e funzionale	9
La microbiota	11
Batteri e fibre	21
Aspetti nutrizionali	24
Gli alimenti in cui sono presenti le fibre	24
Aspetti tecnologici.....	29
Le fibre utilizzate come additivi alimentari.....	29
Aspetti sanitari.....	34
Bibliografia	35

L'IMPORTANZA DELLE FIBRE NELL'ALIMENTAZIONE UMANA: ASPETTI NUTRIZIONALI, TECNOLOGICI E SANITARI

Introduzione

Il crescente rapporto tra alimentazione e salute richiede una particolare attenzione anche in relazione alle mutate abitudini alimentari che hanno determinato, nel corso degli ultimi anni, una trasformazione significativa nella composizione qualitativa e quantitativa della dieta.

Il consumatore risulta sempre più sensibile a coniugare le esigenze di alimentazione dettate dai ritmi odierni di vita con una scelta alimentare che corrisponda alle esigenze di protezione-promozione dello stato di salute.

La conoscenza dei fabbisogni nutrizionali e della loro ricaduta sulla qualità complessiva della nostra condizione è patrimonio sempre più condiviso, anche se, paradossalmente, l'abbandono progressivo delle tradizioni alimentari consolidate espone a possibili rischi derivanti da una informazione di settore non sempre pertinente e professionale.

In questo contesto risulta indispensabile approfondire gli aspetti nutrizionali ed eventualmente sanitari correlati alla assunzione di un particolare elemento nutrizionale anche in funzione delle sue sinergie positive e/o negative con altri costituenti dei prodotti alimentari.

Inoltre, oltre al consumo di prodotti alimentari, sempre più significativo è il ricorso a prodotti utilizzati per integrare e completare la dieta, atteggiamento che spesso è determinato da scelta individuale priva dell'adeguata conoscenza culturale.

Nella valutazione delle scelte alimentari tutto il mondo scientifico è concorde nell'attribuire alle fibre un ruolo di importanza fondamentale nel determinare positivamente lo stato di salute; questo ha comportato un crescente ricorso a consumi di alimenti naturalmente ricchi in fibre e la contestuale presenza sul mercato di integratori di fibre alimentari.

Il ruolo nutrizionale delle fibre alimentari, la descrizione delle loro caratteristiche chimico-fisiche, le modalità di consumo costituiscono pertanto elementi rilevanti di conoscenza per poter misurare olisticamente il livello di influenza sulla nostra salute.

Le abitudini alimentari del mondo occidentale non sempre garantiscono un equilibrio adeguato nell'apporto dei diversi fattori nutrizionali con frequente ridotto apporto di fibre che si traduce in alterazioni della normale fisiologia dell'apparato digerente. L'intestino ha bisogno delle fibre per la sua normale funzionalità e un loro ridotto apporto può diminuire la peristalsi intestinale e arrecare uno sbilanciamento verso sostanze ricche di energia, aumentando la probabilità di comparsa, sia di malattie di origine metabolica, quali ad esempio il diabete e la gotta, sia di malattie ad eziogenesi multifattoriale, quali ad esempio l'infarto, l'ictus e i tumori, la cui comparsa è correlata anche a fattori di rischio alimentare. Allo stesso tempo un ricorso esagerato ad integrazione di fibre alimentari può determinare problemi di natura funzionale e incidere – talvolta anche in modo significativo – all'esposizione a contaminanti chimici potenzialmente nocivi.

Per fibre alimentari si intende una grande e diversificata quantità di composti – generalmente polimeri formati da monomeri a base glucidica – che le piante o gli animali biosintetizzano.

Le raccomandazioni nutrizionali fino ai 50 anni di età consigliano un'assunzione giornaliera di circa 38g di fibre giorno per gli uomini e 25g per le donne, sopra tale età le assunzioni dovrebbero diminuire rispettivamente a 30 g e 21g di fibre giorno (*Institute of Medicine, IOM*).

Le principali funzioni delle fibre in relazione al ruolo svolto nell'ambito della fisiologia nutrizionale sono le seguenti:

- influenza sull'assorbimento dei nutrienti energetici mediante la meccanica di inglobamento dei costituenti degli alimenti ricchi di energia, con una conseguente riduzione dell'apporto calorico;
- influenza sui movimenti di peristalsi con intervento attivo sui tempi di transito nel lume intestinale;
- modulazione attiva sulla composizione quali-quantitativa della flora intestinale attraverso fattori batterici di adesione chiamati mucine;
- limitatamente ad alcuni tipi di fibre, ruolo attivo nell'aumento della risposta anticorpale.

Le fibre, per un lungo periodo di anni, non sono state considerate "nutrienti" come protidi, glucidi, grassi, vitamine e sali minerali e il loro ruolo fisionutrizionale è stato trascurato anche dagli organismi di normazione internazionali.

In questo ultimo decennio il crescere dell'attenzione scientifica ha trovato l'adeguato trasferimento nella definizione che il *Codex Alimentarius* ha dato di nutriente "ogni sostanza costituente di alimenti che fornisce energia, oppure che è necessaria alla crescita e/o allo sviluppo o per la vita e il cui deficit comporta alterazioni biochimiche o fisiologiche caratteristiche" con conseguente inclusione delle fibre tra i principi nutrizionali. Lo stesso *Codex Alimentarius* (e a livello nazionale il DL.vo 77/1993) puntualizza la definizione di fibra: "ogni materia vegetale o animale che non è idrolizzata dagli enzimi endogeni dell'apparato gastroenterico umano".

Alcune fibre vengono denominate prebiotici, termine usato per definire un alimento che, pur non venendo digerito dagli enzimi del sistema gastroenterico, influenza in modo positivo l'ospite stimolando selettivamente la crescita e/o l'attività di una o di un limitato numero di batteri utili già presenti nella flora intestinale. Infatti i prebiotici favoriscono lo sviluppo dei microorganismi endogeni benefici a detrimento dei batteri patogeni. La notevole quantità di acidi carbossilici prodotta con l'assunzione dei prebiotici, soprattutto acido lattico, abbassa il pH intestinale e inibisce la crescita di batteri patogeni.

Alcuni prodotti alimentari anche in relazione al loro contenuto in fibre possono essere considerati anche alimenti funzionali.

Diplock *et al.* (1) considerano funzionale "un alimento se dimostra in modo soddisfacente giovamenti riguardo a più funzioni target nel corpo, oltre ad avere adeguati effetti nutrizionali, in modo che siano entrambi rilevanti, migliorando lo stato di salute e benessere e/o riducendo i rischi di malattie. Un alimento funzionale dovrebbe rimanere alimento e dovrebbe dimostrare i suoi effetti nelle quantità che normalmente vengono consumate nella dieta: non è una pillola o una capsula, ma una parte del normale modello alimentare".

Di fatto un alimento funzionale può essere considerato un alimento convenzionale che contiene sostanze naturali bioattive come le fibre, o un alimento arricchito con sostanze bioattive quali i probiotici, oppure un ingrediente alimentare introdotto in un alimento tradizionale quale i prebiotici.

In questi ultimi anni gli studi sulle fibre alimentari e le loro possibili ricadute sulla salute umana hanno suscitato in noi un vivo interesse. Pensiamo che la salute di ogni uomo sia un delicato equilibrio dinamico che va mantenuto ed alimentato in modo corretto e che ogni atteggiamento, comportamento e azione influiscano su tale equilibrio. Crediamo anche che la condivisione di alcuni principi fondamentali per una corretta alimentazione vadano il più possibile diffusi affinché tutti ne possano trarre beneficio, la qualità della vita nel corso degli anni rimanga immutata e la spesa sanitaria, dovuta alle patologie che hanno tra le loro cause anche una non corretta alimentazione, diminuisca. Rimandiamo alle fonti bibliografiche citate ogni eventuale curiosità e approfondimento che la lettura del testo potrà suscitare.

Cosa sono le fibre

Biosintesi delle fibre nelle piante

Le piante per sopravvivere hanno bisogno degli zuccheri prodotti nella fotosintesi clorofilliana: il sole fornisce l'energia di cui le piante hanno bisogno per la maggior parte dei cicli cellulari, la clorofilla e i pigmenti fotosintetici – carotenoidi –, fungono da “recettori” dei fotoni del sole, convertendoli prima in elettroni e poi in energia sotto forma di adenosintrifosfato (ATP), prodotta mediante i processi cellulari fotosintetici – tale ATP sarà poi speso dalla pianta per convertire la CO₂ in zuccheri –. L'irraggiamento solare è vitale perché consente alla pianta di produrre energia, che può essere spesa per produrre sostanze utili alla sua sopravvivenza.

In alcuni momenti tale irraggiamento può divenire dannoso, quando si verifica in eccesso alcuni dei pigmenti che partecipano alla fotosintesi sono anche deputati a proteggere le piante dagli insulti dei fotoni in eccesso (2, 3) convertendo l'energia luminosa in termica, che poi viene dissipata. I carotenoidi svolgono egregiamente questa funzione, ad esempio alcuni composti derivanti dall' α -carotene – la luteina – e dal β -carotene – la zeaxantina e la antrasantina – svolgono queste funzioni (4); inoltre, le piante sempreverdi, per proteggersi da tali insulti, possono attuare altre strategie quali l'interruzione della fotosintesi (5, 6).

Le fibre sono parte della struttura della pianta, come tutti gli organismi viventi. Le piante hanno sviluppato dei cicli biosintetici e dei metabolismi che permettono di sintetizzarle: il metabolismo primario è deputato all'accrescimento della pianta, provvedendo sia alla captazione di nutrienti quali acqua, carbonio, idrogeno, ossigeno, azoto, sia alla biosintesi di composti strutturali e di riserva. La pianta compete con i suoi simili per accedere al sole e la necessità di “ergersi” per poter catturare i raggi solari diventa una esigenza fondamentale e per vincere la sfida in altezza deve avere la possibilità di avviare la sintesi dei composti che le sono vitali.

Le piante, nel corso della loro evoluzione, hanno adottato strategie vincenti, per esempio alcune di loro, per proteggere le cariossidi dei semi da aggressioni esterne, le rivestono di fibre coriacee – tramite questo sistema, le gimnosperme e le angiosperme (piante a seme), nel corso dei secoli, hanno saputo meglio rispondere alla selezione naturale rispetto ad altre piante, poiché sono state quelle che hanno saputo adattare meglio i loro sistemi alla riproduzione –. Le angiosperme e le gimnosperme, a differenza delle pteridofite, hanno indirizzato i propri sforzi biosintetici verso la produzione di semi e di frutti. Questi ultimi, in particolare, avendo pericarpî carnosî, ricchi di fibre e zuccheri, diventavano appetibili per l'animale che, quando li mangiava, trasportava i semi, contenuti al loro interno e defecando li rilasciava sul terreno in modo che la pianta poteva riprodursi anche a grandi distanze. Le fibre vengono sintetizzate dalle piante anche per riparare i tessuti danneggiati – come le gomme che fungono da barriera protettiva nelle ulcerazioni del tronco o dei rami in quanto evitano l'ingresso di batteri, funghi e insetti patogeni all'interno di esso –, come riserva della pianta – che al bisogno può essere digerita da enzimi e quindi trasformata in altre sostanze ad azione fisiologica –.

La parete cellulare primaria

La cellula vegetale è l'organo deputato alla biosintesi di sostanze. Infatti, quando viene deposta la parete primaria, la cellula si trova in accrescimento e le forme che la pianta assume sono in funzione dell'accrescimento cellulare, che può essere radiale o longitudinale e da cui prendono forma i vari organi della pianta (7). La cellula poi è protetta dalla parete cellulare che

esercita una protezione fisica ed evita pericolose aggressioni e inoltre la delimita in uno spazio interno ben definito, composto da vari organi immersi nel citoplasma.

Dagli studi ad oggi conosciuti non è ancora stato provato come è formata la parete cellulare vegetale, ma il modello proposto da Vincken *et al.* (8, 9) sembra si avvicini molto alla realtà. Secondo tale modello, la parete cellulare primaria è formata principalmente da fibrille di cellulosa costituite da monomeri di glucosio legati tra loro in β -1,4 e polimerizzati da 500 a 14000 unità. La cellulosa è unita con legami idrogeno all'emicellulosa – costituita da xiloglucani e arabinosilani – e quest'ultima è incastrata in una matrice formata da pectine – costituenti: ramogalatturonani I (RGI), omogalatturonani (HG), ramnogalatturonani II (RGII) e xilogalatturonani (XGA) –. A loro volta gli RGI sono legati sia alla cellulosa sia agli RGII tramite legami boro diestere, mentre il calcio lega gli RGII agli HG. Studi recenti hanno dimostrato che il boro, nelle piante a fiore, è correlato alla concentrazione di pectine presenti nella parete primaria (10) e ciò dimostra come questo elemento sia indispensabile per la struttura della parete cellulare primaria. Studi sull'evoluzione condotti da Matsunaga (11) dimostrano che nella parete primaria delle piante vascolari gli RGII e il boro aumentano nelle piante con l'evoluzione di esse; difatti, gli autori correlano gli aumenti alla crescita eretta e alla lignificazione della parete secondaria che hanno tali piante. Si è anche notato che le pareti cellulari primarie sono tipiche di alcune famiglie di piante, ad esempio le dicotiledoni hanno il 30% di cellulosa, il 30% di emicellulosa, il 35% di pectine e l'1-5% di sostanze proteiche, mentre le piante grasse hanno il 25% di cellulosa, il 55% di emicellulosa e solo il 10% di pectine (12).

La parete cellulare secondaria

La parete cellulare vegetale ha il compito di separare tra loro le cellule, mentre la lamella mediana le unisce. Nella cellula in accrescimento si forma la parete primaria e quando questo processo finisce inizia a formarsi la parete secondaria, che verrà successivamente modificata, portando i tessuti verso la lignificazione, la suberizzazione, la cutinizzazione, la gelificazione, la mineralizzazione e la pigmentazione. A tale proposito è interessante notare come uno studio di Bolwell (13), effettuato sui semi di *Phaseolus vulgaris*, mostra un cambiamento delle concentrazioni di enzimi deputati alla costruzione delle pareti primaria e secondaria. L'autore, tra la fine e l'inizio delle deposizioni, rispettivamente delle pareti primaria e secondaria, riscontra un decremento dell'enzima pectina sintetasi e un incremento dell'enzima xilano sintetasi. Questi processi enzimatici apportano cambiamenti nella composizione di sostanze presenti all'interno delle pareti e, quindi, nella parete secondaria avvengono le deposizioni di lignina, di suberina, di cutina, di mucillagini, di minerali, di pigmenti. processi che seguono un proprio cammino biosintetico nella pianta, difatti, nella formazione di lignina e suberina le piante seguono un percorso biosintetico del ciclo dei fenilpropanoidi (C_6C_3).

Le fibre presenti nei vegetali

Genericamente per fibre intendiamo una grande quantità di composti che le piante biosintetizzano, generalmente polimeri, che chimicamente vengono distinte tra insolubili e solubili in acqua (le prime non possono essere solvate, le seconde sono solvate dall'acqua).

Il polimero maggiormente presente nei vegetali è la cellulosa, seguita dall'emicellulosa e dalle pectine, come precedentemente visto, legate tra loro da complesse strutture.

Le fibre insolubili

La cellulosa

La formazione di cellulosa avviene nel citoplasma dove le molecole di glucosio vengono unite in β -1,4 per formare le microfibrille, che assumono una forma ellittica in sezione incrociata con assi di 50-300 nm. Studi eseguiti su mutanti della pianta *Arabidopsis thaliana* hanno evidenziato che i geni CESA e RSW1 sono responsabili della biosintesi della cellulosa (14, 15) – questa costituisce il 15% del volume della parete e il 20-30% del peso secco della cellula –.

La sintesi della cellulosa avviene nelle rosette del plasmalemma, formate da cellulosa sintetasi (16), e come le molecole di cellulosa sono estruse dalle rosette vengono aggregate con quelle estruse dalle rosette adiacenti per fornire le microfibrille di cellulosa (9, 17). L'orientamento, generalmente trasverso, è determinato dai microtubuli in maniera da occupare il maggior spazio possibile.

La cellulosa viene sintetizzata in due forme, il tipo I_{α} , e il tipo I_{β} : gli organismi primitivi di solito sintetizzano la cellulosa di tipo I_{α} , mentre le piante superiori sintetizzano la cellulosa di tipo I_{β} . Questi due tipi di polimeri hanno la stessa conformazione, ma variano per come sono disposti alcuni legami idrogeno all'interno della cellulosa (18). A riguardo, sono stati effettuati degli studi sul possibile orientamento del gruppo idrossimetile in C_6 del glucosio e sulla sua possibile configurazione nel polimero e si è visto che le configurazioni possibili del gruppo idrossimetile in C_6 possono essere tre *trans-gauche*, *gauche-trans* e *gauche-gauche* (19). Si ipotizza che le conformazioni più probabili del gruppo idrossimetile in C_6 nella cellulosa siano la *trans-gauche* e la *gauche-trans* (20, 21).

L'emicellulosa

Solo una piccola parte di emicellulosa è solubile in acqua e per estrarla dalle varie specie di piante in cui è presente si utilizzano solventi organici come il dimetilsolfossido (DMSO) oppure acidi e basi. La emicellulosa è legata alla cellulosa e alla lignina nella parete cellulare ed è costituita principalmente da arabinoxylani, xylani, xyloglucani, arabinani, β -glucani, glucuronoarabinoxylani. La percentuale di questi polimeri presenti nelle piante varia al variare del genere, dell'organo e dello stadio di sviluppo in cui la pianta si trova. Inoltre nelle dicotiledoni si hanno sia diverse percentuali sia diverse composizioni di polisaccaridi rispetto alle monocotiledoni.

La lignina

La lignina è il polimero che fornisce rigidità alle strutture vegetali e quindi permette alla pianta di svilupparsi verso l'alto; è formata da unità di fenilpropano (C_6C_3) con differenti sostituzioni nell'anello aromatico di guaiacil, siringil e p-idrossifenil. Questi monomeri sono uniti tra loro con legami carbonio-carbonio e carbonio-ossigeno a formare la struttura della lignina e se in questa struttura diventano predominanti le sostituzioni di guaiacil si hanno dei legni morbidi quali quelli delle gimnosperme, mentre se nella lignina diventano predominanti le sostituzioni di guaiacil e di siringil si hanno i legni duri, quali quelli delle angiosperme. Infine, se nella lignina predominano le sostituzioni p-idrossifenil, si hanno i legni quali quelli delle angiosperme monocotiledoni (22). Si capisce il ruolo biochimico giocato nell'evoluzione nella differenziazione delle varie piante poiché la lignina è il principale elemento di supporto delle piante superiori.

La suberina

La suberina è un polimero che ha funzioni protettive ed è il principale costituente del sughero prodotto da alcune piante. È formata da un dominio alifatico e da un dominio aromatico, (23-25). Quest'ultimo è composto dagli acidi p-cumarico e ferulico (26), probabilmente coinvolti nel legare il dominio alifatico ai polisaccardi della parete cellulare, mentre il dominio alifatico della suberina è un polimero poliesteri, formato da catene da C₁₆ a C₃₂ di ω-idrossiacidi e di α,ω-diacidi (27).

La cutina

La cutina è un composto prodotto dalle piante per proteggere l'epidermide foliare per renderla impermeabile all'acqua. Infatti, la cutina è un polimero insolubile costituito da una parte alifatica a C₁₆ o C₁₈ unita tramite gruppi carbossilici e ω-idrossilici da legami estere a derivati degli acidi grassi (24, 28, 29).

Le fibre solubili

Gli oligosaccaridi resistenti

Gli oligosaccaridi sono carboidrati con un basso grado di polimerizzazione e, conseguentemente, con un basso peso molecolare (30). Sono prontamente solubili in acqua, alcuni di loro hanno dolci sapori che diminuiscono proporzionalmente all'aumentare della lunghezza della catena. La lunghezza della catena e la composizione degli oligosaccaridi resistenti possono influire sulle proprietà fisico-chimiche di queste sostanze nella dieta, così come il legame con l'acqua, la gelificazione. Gli oligosaccaridi resistenti sono sostanze che includono dalle 2 alle 20 unità di monosaccaride (31, 32), e non esiste una ragione razionale chimica o fisiologica per la divisione tra oligo e polisaccaridi (33).

Queste sostanze, generalmente, contengono miscele di polimeri di differenti lunghezze di catena, sia lineari che ramificate. Da parte di Englyst and Hudson (34) è stato proposto il nome di "corte catene di carboidrati" per un nuovo gruppo di carboidrati alimentari che include gli oligosaccaridi ed i polisaccaridi. Il concetto di oligosaccaridi resistenti – non digeribili o non disponibili –, ha avuto origine dall'osservazione che gli atomi di carbonio anomeric C₁ o C₂ delle unità monosaccaridiche hanno una configurazione tale da resistere all'attività idrolitica degli enzimi digestivi umani.

Le categorie principali di oligosaccaridi resistenti disponibili come ingredienti alimentari, includono carboidrati in cui l'unità monosaccaride è il fruttosio, il galattosio, il glucosio e/o lo xilosio (35, 36).

I fruttani tipo-inulina sono degli oligosaccaridi naturali presenti nei vegetali, come la cicoria (37). I prodotti con grado di polimerizzazione da 2 a 60 DP sono chiamati inuline e sono polimeri composti dal β-D-fruttosio uniti con legami β-2-1.

Le pectine

Le pectine sono contenute sia nella parete cellulare primaria sia nella lamella mediana della cellula vegetale (38). Sono caratterizzate, come detto precedentemente, dalla presenza di omogalatturonani, ramnogalatturonani I e II e xilogalatturonani. Sembra che le pectine nei tessuti più giovani siano nella forma metilesterificata neutra, mentre quando i tessuti vengono formati definitivamente le stesse vengono trovate idrolizzate ad acidi liberi (39, 40). Ciò sembra avvenire per facilitare il legame con il calcio, che porta alla formazione di ponti tra gli omogalatturonani e i ramnogalatturonani II (41). Le pectine, pare giochino un ruolo

fondamentale nella degradabilità della parete cellulare primaria e della lamella mediana nei frutti e alcuni processi possono portare alla degradazione di questi polimeri alterando così sia l'aspetto sia le caratteristiche organolettiche dei frutti. A tale proposito si è notato che detti processi possono essere iniziati sia da enzimi, sia da radicali liberi (42-45). Dagli studi effettuati sembra che i substrati principalmente degradati nella parete siano le pectine (46, 47). Questi polimeri vengono influenzati nella degradazione anche da variazioni del pH e della forza ionica dei soluti che circondano la parete cellulare (48).

Le pectine sono molto importanti nell'alimentazione umana, perché formano gel e per queste loro proprietà vengono utilizzate come additivi in vari prodotti alimentari e anche negli alimenti per la prima infanzia.

Le fibre prebiotiche

In letteratura molti autori hanno proposto delle definizioni per il termine prebiotico. Collins *et al.*, (49) hanno definito come prebiotico *“un ingrediente alimentare che non viene né digerito, né assorbito nella parte superiore del tratto intestinale ma che influenza positivamente i batteri presenti in esso e quindi la salute dell'ospite in cui essi risiedono”*; Gibson *et al.*, (50, 51) indicano come prebiotico *“un ingrediente alimentare non digeribile che influenza in maniera positiva l'ospite stimolando selettivamente la crescita e/o l'attività di uno o di un limitato numero di batteri presenti nel colon”*. Gli stessi autori hanno precisato quali sono i requisiti che un ingrediente alimentare deve avere per essere chiamato prebiotico:

- resistenza, agli acidi gastrici, agli enzimi digestivi dei mammiferi e all'assorbimento intestinale;
- fermentazione per opera dei batteri residenti nel colon;
- stimolazione selettiva dei batteri del colon che contribuiscono alla salute e al benessere dell'ospite.

In accordo con tali criteri solo poche fibre possono essere considerate prebiotici: gli oligosaccaridi resistenti, – inulina e oligofruzzosi (fruttani tipo-inulina), transgalattooligosaccaridi, lattulosio, oligosaccaridi della soia, lattosaccarosio, isomaltoligosaccaridi (IMO), glucoligosaccaridi, e xyloligosaccaridi –, ma di queste solo le prime quattro sono prodotte in larghe quantità, tali da poter essere utilizzate commercialmente. Prebiotici oligosaccaridi possono essere ottenuti da estrazione di piante; da sintesi o microbiologica o enzimatica; da idrolisi di polisaccaridi (36, 52).

L'inulina è un derivato parzialmente idrolizzato dagli oligofruzzosi ed è costituita da D-fruttosio con legami lineari glicosidici in β -(2→1) con un gruppo glucosio terminale legato in α -(1→2). L'oligofruzzosio è un polimero che può contenere sia catene di fruttosio (tipo Fm), sia catene di fruttosio con un glucosio terminale (tipo GFn). I legami citati sono la chiave di volta della bioattività di questi composti, perché una volta arrivati nell'intestino il legame β -(2→1) previene la digestione dei fruttani nel tratto intestinale superiore, mentre quando raggiungono il colon vengono idrolizzati dalla β -fruttosidasi prodotta dai batteri ivi residenti. (53). I fruttani tipo-inulina sono conosciuti per i loro *effetti bifidogenici*, cioè per la loro abilità nell'incrementare selettivamente il numero di bifidobatteri nel colon umano (54, 55), difatti queste proprietà dei fruttani sono state ampiamente dimostrate da alcuni autori (56, 57, 58) e da trial effettuati (59, 60).

Solo alcuni composti che non vengono digeriti nel piccolo intestino, quali gli amidi resistenti, i carboidrati non digeribili, gli oligosaccaridi passano nel colon dove i batteri presenti possono degradarli perché i prebiotici sono somministrati all'uomo per aumentare la resistenza alle infezioni batteriche in alcune malattie quali la sindrome del colon irritabile, disordini

cronici dell'intestino, cancro del colon, intolleranza al lattosio, malattia coronarica del cuore, ricorrente mugugno vaginale, problemi della pelle, allergie agli alimenti.

Prebiotici e microbiota

Come abbiamo detto nel paragrafo precedente, i prebiotici possono influenzare positivamente la microflora intestinale, in quanto stimolano selettivamente la crescita e/o l'attività dei batteri in grado di esercitare un "effetto benefico sull'ospite". La "microbiota", come viene comunemente chiamata la microflora intestinale, indica tutti i microrganismi presenti all'interno dell'intestino umano. Origina nel neonato, quando quest'ultimo viene a contatto con i microbi provenienti dal tratto genitourinario della madre. I microrganismi cominciano ad apparire nelle feci sin dai primi giorni di vita e sono usualmente lattobacilli e streptococchi (61, 62). Altri batteri, quali l'*Escherichia coli* e gli enterococchi sono spesso isolati nel meconio, specialmente al momento della rottura prematura delle membrane (63). Altri ancora come i batteroidi e i bifidobatteri colonizzano l'intestino sin dai primi giorni di vita (63). Fin dalla nascita, la microflora del tratto gastrointestinale sviluppa un complesso ecosistema costituito da diverse specie di microrganismi aerobi ed anaerobi (64). La concentrazione massima di tali microrganismi viene raggiunta entro i primi quattro anni di vita e, permane nella vita adulta (62, 65, 66).

Da studi effettuati si evince che la stima delle specie batteriche presenti nell'intestino di un individuo adulto varia dalle 500 alle 1000 (67), e il numero è alto a tal punto che i loro genomi superano di 100 volte il genoma umano (68-70). Tra gli aerobi si riscontrano streptococchi, stafilococchi e coliformi. Tra gli anaerobi troviamo lattobacilli, batteroidi, eubatteri, peptostreptococchi, bifidobatteri e clostridi.

La microbiota è considerato un vero e proprio organo che assolve alcune funzioni che il nostro corpo non è in grado di svolgere, come ad esempio la digestione di componenti indigeribili presenti nella nostra dieta quali i polisaccaridi contenuti nelle piante. Inoltre la microbiota riveste una notevole importanza perché influenza diversi processi quali:

- il rilascio e l'assorbimento di numerosi nutrienti e antiossidanti deputati a intervenire nella rigenerazione e nella crescita di cellule mucose umane;
- il controllo e la riduzione di agenti tossici e mutageni e di microrganismi patogeni (batteri, funghi, virus);
- la regolazione delle funzioni immunofisiologiche contro gli agenti infettivi e l'acquisizione della tolleranza immunitaria;
- la regolazione delle funzioni protettive non immunitarie dell'intestino;
- la regolazione delle attività metaboliche e nutritive del sistema gastroenterico (71, 72);
- la funzionalità di base, come l'accumulo del grasso corporeo (73, 70).

Appare quindi evidente che l'alterazione delle funzioni svolte dalla microbiota, necessarie al mantenimento della salute dell'ospite, può determinare condizioni patologiche di varia entità. I principali fattori che possono influenzare la microflora sono l'età, la dieta, le infezioni, l'uso di preparati microbiologici e l'uso di farmaci che possono determinare un rallentato assorbimento di carboidrati e fibre. Per questi motivi, la somministrazione di antibiotici oltre ad un possibile sviluppo di antibiotico resistenza, può arrecare deplezione batterica e quindi diminuire gli effetti benefici della microbiota. È importante sottolineare che ogni specie batterica ha un proprio metabolismo e le diverse specie presenti possono avere tra loro delle interazioni. Per tali ragioni l'intestino può essere considerato l'organo metabolicamente più attivo nel corpo umano (74). Riuscendo a definire i segnali in uscita dalla microbiota, si potrebbe capire quali nuovi target terapeutici promuovere per la salute umana (70).

Prima di parlare in dettaglio dei microorganismi presenti nel tratto intestinale e delle loro caratteristiche principali, riteniamo opportuno soffermarci rapidamente sulla struttura e sulla funzione dell'intestino umano.

L'intestino umano: una barriera fisica e funzionale

L'intestino dell'uomo è un organo complesso, sede di innumerevoli funzioni fisiologiche quali l'assorbimento di nutrienti, la maturazione del sistema immunitario, il riassorbimento di elettroliti e di acidi biliari, la secrezione di enzimi digestivi, la trasformazione di xenobiotici mediante il sistema enzimatico P450, ecc.

L'intestino è suddiviso in varie regioni con specifiche funzionalità: la prima, intestino tenue, è la più lunga porzione del canale digerente ed è compreso dallo sfintere pilorico fino allo sfintere ileo-colico, con una lunghezza di circa 7 metri, rappresentando circa 4/5 della lunghezza totale del tubo digerente. Questo tratto intestinale si distingue in duodeno, digiuno e ileo e nella totalità della mucosa dell'intestino tenue sono presenti i villi intestinali. Il duodeno è un'ansa lunga circa 24-30 cm e rappresenta la porzione fissa dell'intestino tenue poiché è ancorato al legamento epato-duodenale, al peritoneo, alla testa del pancreas, ai condotti pancreatici, all'arteria mesenterica superiore, alla fascia e al muscolo del Treiz. L'intestino tenue mesenteriale è la porzione mobile dell'intestino, sita tra il duodeno e l'intestino crasso, formato dal digiuno e dall'ileo. Queste anse sono mobili e occupano la porzione inferiore dell'addome. L'intestino crasso con un fondo cieco raccoglie lo sbocco del tenue facendo da cornice all'intestino mesenteriale, che viene racchiuso tra le varie porzioni del colon ascendente, trasverso, discendente e ileo-pelvico che termina con il retto (75).

Il colon può essere schematicamente suddiviso in regioni: quello prossimale è principalmente saccarolitico, dove cioè i carboidrati che entrano vengono fermentati e dove vengono prodotti composti quali gli acidi grassi a corta catena (SCFAs), acetato, propionato e butirrato, mentre quello distale è principalmente proteolitico, dove gli amminoacidi e le proteine vengono fermentati e dove vengono prodotti composti azotati, fenolici, amminici e ammoniaci, che diventano la fonte metabolica principale dei batteri ivi residenti (76). Dal totale di polisaccaridi introdotti giornalmente con la dieta è stato stimato che circa 10-60 g raggiungono il colon (77) e quindi vengono esposti all'attacco batterico fermentativo, perché la fermentabilità delle fibre dipende sia dalle loro dimensioni che dalla solubilità. Le fibre solubili in acqua, quali pectine, emicellulose, gomme di guar e inulina, formano con l'acqua dei gel nel tratto gastrointestinale, aumentando così la superficie esposta all'attacco enzimatico da parte dei batteri, mentre le fibre insolubili quali lignina e cellulosa non sono fermentate dai batteri del colon. Questo insieme di eventi ha come conseguenza un aumento della biomassa fecale che contribuisce a ridurre il transito intestinale, prevenendo la costipazione e diminuendo la probabilità, durante la fermentazione batterica, della formazione di sostanze tossiche, quali composti, azotati, idrogeno solforati, cancerogeni e genotossici che possono danneggiare la mucosa intestinale. Inoltre la fermentazione ad opera dei batteri presenti nel colon tende anche ad abbassare il pH intestinale, (vedi introduzione) favorendo così l'escrezione di quei composti cancerogeni che si legano alle fibre.

Le cellule epiteliali intestinali, le cellule dendritiche e i batteri sono in stretto contatto nel colon umano, dove si verifica un mutualismo o tolleranza microbica con i microorganismi presenti, intesi come perdita di risposta ad alcuni batteri presenti nel colon. I microorganismi vengono costantemente campionati dai tessuti linfoidei presenti nell'intestino quali le placche del Peyer e i follicoli linfoidei, che hanno un ruolo di maturazione dell'intestino e del suo sistema immunitario.

La mucosa intestinale è esposta continuamente ad un grande numero di antigeni, quindi deve essere in grado di proteggersi dai microorganismi patogeni e/o dalle sostanze tossiche da questi prodotte. Tre sono i sistemi che proteggono l'intestino dai batteri e sono la barriera fisica, l'immunità innata e l'immunità acquisita.

Barriera fisica

L'intestino è formato principalmente da cellule epiteliali unite tra loro mediante giunzioni aderenti e serrate e caratterizzate dalla presenza, sulla superficie luminare, di particolari protusioni cellulari dette microvilli. Queste ultime presentano, al loro interno, una fitta rete di actina legata alle giunzioni dell'epitelio mentre sulla superficie esprimono particolari proteine transmembrana quali la claudina e l'occludina. La barriera fisica offerta dallo strato di cellule epiteliali è rinforzata dalle cosiddette cellule a calice che sono presenti nelle cripte e nei villi intestinali, ma si ritrovano anche nel piccolo intestino, nel colon e nel retto. Il muco prodotto da questi elementi cellulari rappresenta un elemento di protezione, in quanto eventuali lesioni epiteliali vengono velocemente riparate, impedendo in questo modo l'inserimento di batteri patogeni. Il muco, inoltre, permette di intrappolare i batteri che poi vengono lavati via dalla peristalsi intestinale. Nel muco prodotto dalle cellule a calice sono presenti le mucine, composti, le cui funzioni sono quelle di formare una membrana semipermeabile e quindi aiutare la riparazione intestinale attraverso fattori trilobati CD73 (78, 79). Possiamo quindi dire che l'unica possibilità di sopravvivenza batterica è quella di produrre mucinasi e particolari fattori di adesione (80) e/o di invasione che possono portare alla colonizzazione microbica dell'ospite (81, 82).

Immunità innata

L'omeostasi intestinale è un delicato equilibrio basato sulla risposta anti-microbica e sulla tolleranza rispettivamente verso i microorganismi patogeni e commensali e l'alterazione di questo equilibrio fa sì che si instauri un processo infiammatorio dell'intestino.

Due sono i fattori principali che determinano la risposta antimicrobica a livello intestinale: la produzione di particolari peptidi antimicrobici, quali le defensine e le catelicidine e l'attivazione dei neutrofili. Nei processi infiammatori i neutrofili vengono attivati da specifiche proteine, interluchine, che vengono rilasciate dalle cellule dell'epitelio intestinale. Le defensine, invece, sono prodotte dalle cellule di Paneth, localizzate alla base delle cripte intestinali. Nell'uomo sono state isolate due α -defensine, la defensina-5 e la defensina-6 (HD-5, HD-6) (83), e due diverse defensine- β , la defensina-1 e la defensina-2 (BD-1, BD-2). La defensina-1 risulta espressa costitutivamente nell'intestino, mentre la defensina-2 viene sopra-regolata in risposta a infezioni o ad agenti proinfiammatori (84). Le catelicidine, sono costituite da una catena di catelina e da un peptide antimicrobico, sono espresse costitutivamente e nell'intestino umano l'unica proteina identificata è la LL37 (chiamata anche CAMP) (85).

Nella risposta antimicrobica, i neutrofili sono deputati alla risposta basale. Questi seguono un gradiente fatto di chemoattrattanti epiteliali (CEEP), mentre le risposte infiammatorie attivate da segnali, quali il fattore nucleare-kB e l'attivatore proteico (AP1), portano all'espressione di molte citochine e chemochine che coordinano la risposta immunitaria innata (86, 87).

La risposta immunitaria innata verso i batteri è mediata da proteine che fungono da recettori della classe dei *pattern recognition receptors* (PPR), che riconoscono motivi strutturali dei microorganismi (motivo molecolare associato ai patogeni, (PAMPs) (88). Questi recettori sono costituiti sia dai *toll-like receptors* (TLR), espressi sulla superficie di macrofagi, monociti, cellule dendritiche e cellule epiteliali (89), sia dai *nucleotide-binding oligomerization domain* (NOD) presenti nel citoplasma di cellule epiteliali ed immunitarie (90). Sia i batteri commensali

che quelli patogeni esprimono motivi strutturali (PAMPs) (91) che sono i veri responsabili della risposta immunitaria, in quanto i procarioti esprimono dei composti quali i lipopolisaccaridi (LPS), lipoproteine, peptidoglicani (PGN), l'acido lipoteicoico, flagellina e CpG-contenente DNA. Questi motivi sono riconosciuti da una classe recettoriale quale quella dei PRRs che sono localizzati nelle cellule mieloidi, linfoidi, epiteliali e endoteliali (92). Di essa fanno parte i TLRs, NOD1 e NOD2, i primi dei quali intuiscono i PAMPs extracellulari e consentono l'attivazione di vie proinfiammatorie (93-95). I NOD1 riconoscono tripeptidi muramili dei batteri Gram-negativi e i NOD2 riconoscono il dipeptide muramilico, che è comune per i peptidoglicani (PGNs) di tutte le specie batteriche incuranti delle caratteristiche di specie-Gram (96-98). Quando l'intestino è in uno stato normale, i recettori TLRs proteggono la barriera epiteliale e conferiscono tolleranza verso i batteri commensali, mentre i recettori NOD esercitano una azione antimicrobica prevenendo l'invasione di patogeni. Le vie del segnale vengono innescate dal legame con i recettori PRRs e inducono l'espressione di geni proinfiammatori che guidano il fattore trascrizionale NF- κ B, l'associata cascata proinfiammatoria, la proteina kinasi attivata dal mitogeno (MAPK), tutte vie che coinvolgono il p38 e JNK (99, 100) portando le cellule epiteliali alla produzione di citochine e chemochine proinfiammatorie, tra cui le più abbondanti IL8 e IL6.

Immunità acquisita

Le cellule epiteliali intestinali, le cellule che presentano l'antigene (ACPs) e le cellule linfoidi collaborano alla sorveglianza per la risposta dell'immunità acquisita. Nel follicolo associato all'epitelio sono presenti le cellule M che svolgono un ruolo di traslocazione di antigeni e di microorganismi dal lume intestinale alla faccia basolaterale dell'epitelio. Quando le cellule M sono associate ai tessuti linfoidi possono dare l'avvio alla risposta immune. I follicoli linfoidi della mucosa e i follicoli associati all'epitelio sono visibili come aggregati che nell'ileo distale prendono il nome di placche del Peyer, mentre nel colon e nel retto vengono chiamati follicoli linfoidi singoli (101-103). La perdita della attività endocitica e della superficie a glicocalice causa degli spostamenti delle cellule M, delle cellule dendritiche e dei batteri commensali. In questo modo, solo un numero limitato di microrganismi sopravvive all'attacco delle cellule-T in risposta alle IgA, deputate alla regolazione dei batteri endogeni (104-106). Numerosi studi dimostrano che i batteri luminali possono essere catturati anche dalle cellule dendritiche presenti nell'epitelio intestinale, che in questo modo "alleggeriscono" le cellule specializzate da eccessivi carichi batterici (107).

Recentemente, studi immunologici condotti *in vitro* hanno evidenziato il ruolo di una proteina, la TSLP (*thymic stromal lymphopoietin*), nella risposta infiammatoria generata dalle cellule dendritiche. Dagli studi effettuati sembra che, allo stato basale, le cellule epiteliali intestinali, rilascino una quantità definita della proteina TSLP che polarizza le cellule dendritiche residenti nell'epitelio alla risposta cellulare TH2, mentre inibisce la risposta cellulare TH1. Quando i patogeni invadono l'intestino vengono contrastati sia dal richiamo di cellule dendritiche non residenti, quindi non polarizzate, sia dall'attivazione delle cellule TH1 proinfiammatorie da parte di cellule dendritiche residenti polarizzate. L'attivazione di questo processo causa l'alterazione dell'omeostasi intestinale per la produzione di citochine e chemochine capaci di stimolare la risposta infiammatoria (108).

La microbiota

Esposti brevemente i sistemi che permettono all'intestino di fronteggiare un attacco batterico, torniamo a parlare della microbiota. I batteri appartenenti alla microflora intestinale

possono essere caratteristici di un determinato tratto dell'apparato gastro-intestinale o possono essere isolati in diversi distretti (Tabella 1).

Quelli maggiormente presenti nell'intestino sono Gram negativi dei generi *Bacteroides*, *Bifidobacteria*, *Eubacteria*, *Clostridia*, *Lactobacilli* e cocchi Gram-positivi (109, 110, 50). Questi microorganismi possono essere sommariamente distinti in batteri "benefici" o "dannosi" per la salute dell'ospite: nel primo gruppo troviamo specie appartenenti ai generi *Bifidobacteria*, *Eubacteria* e *Lactobacilli*, mentre nel secondo batteri appartenenti ai generi *Clostridium*, *Shighella* e *Veillonella*. In questo contesto è importante sottolineare che esiste un "cross-talk" molecolare tra batteri e epitelio intestinale. Le interfacce tra un organismo ospite e la sua microflora nel lume intestinale sono rappresentate dallo strato mucoso, il sottostante glicocalice e i glicoconiugati presenti sulla superficie apicale degli enterociti (111). La microflora intestinale indigena (o batteri commensali) è nota interferire con la colonizzazione da parte dei patogeni e tale protezione è in parte dovuta alla competizione per i siti di legame presenti sulla superficie degli enterociti.

Tabella 1. La microbiota del tratto gastrointestinale umano

Tratto gastrointestinale	Conta microbica totale (UFC)	Gruppi microbici principali
Esofago		Non possiede una propria microbiota
Stomaco	$\leq 10^4/g$	<i>Candida albicans</i> , <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> .
Duodeno	$10^3-10^4/g$	<i>Bacteroides</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> .
Digiuno	$10^5-10^7/g$	<i>Bacteroides</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> .
Ileo	$10^7 - 10^8/g$	<i>Bacteroides</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Veillonella</i> .
Colon	$10^{10} - 10^{11}/g$	<i>Bacteroides</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Ruminococcus</i> , <i>Streptococcus</i> .

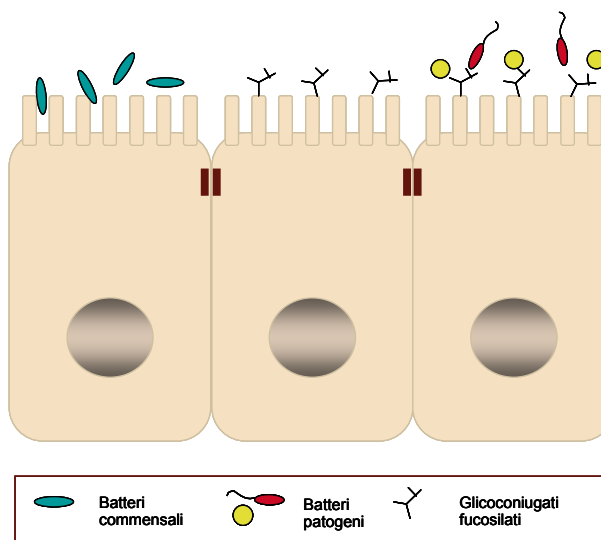


Figura 1. Cross-talk tra epitelio intestinale e microbiota (adattato da Schauer, 1997)

I glicoconiugati, la cui espressione sull'epitelio intestinale viene indotta dai batteri indigeni, possono essere infatti utilizzati come recettori dai micorganismi patogeni (Figura 1), a

svantaggio di una altrimenti mutualmente benefico *cross-talk* (111). La colonizzazione da parte della microflora endogena (batteri commensali) induce l'espressione di glicconiugati fucosilati sull'epitelio intestinale dell'ospite. L'espressione di glicconiugati fornisce recettori *lectina-like* per l'adesione di batteri patogeni e può conferire suscettibilità alla colonizzazione del patogeno e alla malattia. Tenendo quindi conto delle interazioni fisiologiche e patologiche della microbiota con l'intestino, possiamo distinguere 2 gruppi principali di batteri: i batteri "commensali" e "patogeni", che tratteremo in breve separatamente.

I batteri commensali

La microbiota e le mucose lavorano insieme per il mantenimento del benessere delle barriere dell'ospite perchè queste sono deputate a dividere l'ospite dall'ambiente esterno (112, 113). Per evitare processi infiammatori, che apporterebbero un cambiamento nei processi fisiologici delle mucose intestinali, i batteri commensali devono promuovere una risposta immunitaria adattativa (114): a ciò sono deputati i follicoli associati all'epitelio (FAE), che trasferiscono i batteri commensali alle cellule fagocitarie per poi presentare gli antigeni risultanti ai linfociti, che determinano la risposta immunospecifica (115). L'intestino umano ha sviluppato un sistema che sottoregola la risposta immunitaria innata, mentre è sempre vigile ad ogni intrusione accidentale di microorganismi commensali nella risposta immunitaria acquisita.

Rimane comunque da chiarire quali siano i meccanismi che permettono ai batteri commensali di non generare infiammazione dell'intestino. Tali batteri sembrano possedere alcune caratteristiche comuni, tra cui la capacità di perdere fattori di patogenicità (adesine o invasive), con il conseguente intrappolamento sia dei batteri stessi che dei PAMPs loro correlati nel muco presente sulla superficie degli epitelii, da dove poi vengono lavati via dalla peristalsi intestinale. Altro esempio, nel genere *Bacteroides* (116), il lipide A, endotossico, di LPS è pentaacilato e, quindi, non solo a bassa tossicità (117) ma anche con effetti antagonisti sui lipidi A esacilati endotossici (118). Inoltre i macrofagi residenti al di sotto della lamina propria potrebbero essere mancanti del CD14 e MD2 cofattori essenziali per il riconoscimento di LPS (119). Il riconoscimento dei PAMPs nell'epitelio intestinale avviene intracellularmente - sembra il caso del TLR4 presente nel Golgi con internalizzazione di LPS, in contrasto al TLR4 espresso dalle cellule mononucleari, dove è presente nella superficie cellulare (120). LPS ha anche mostrato una concentrazione negli apici degli endosomi nelle cellule intestinali polarizzate e può essere fermato transcitosamente da secreti IgA LPS-specifici neutralizzando la risposta proinfiammatoria di LPS (121). La flora commensale può partecipare nella tolleranza batterica attraverso un attivo scambio con l'epitelio - sembra con meccanismi regolatori di conteggio, che potrebbero avere un ruolo importante nell'indurre la tolleranza ai PAMPs, come ad esempio l'espressione e l'attivazione delle molecole MyD88 (differenziamento mieloide alla risposta primaria della proteina 88) adattatore di TLR, con un ruolo negativo nell'attivazione del NF- κ B (122) e dell'IRAK-M (recettore IL1 associato alla chinasi M) -. Inoltre regolatori negativi del segnale di TLR (123) potrebbero avere un ruolo *in vivo*, anche se questo aspetto deve ancora essere confermato.

Il recettore PPAR- γ (recettore- γ attivante il proliferatore perossisomico), potrebbe essere un sito per attivare una funzione antiinfiammatoria (124), in quanto i non patogeni Gram-negativi possono indurre l'espressione e l'attivazione di PPAR- γ che poi sottoregola la risposta infiammatoria. Uno studio sulle interazioni tra i probiotici *Bacteroides thetaiotaomicron* e le IECs mostra un ruolo di regolatore negativo di PPAR- γ nell'attivazione di NF- κ B. *Bacteroides thetaiotaomicron* innesca l'associazione di PPAR- γ con subunità REL-A del complesso trascrizionale NF- κ B, per mezzo del blocco della

trascrizione di geni proinfiammatori attivati dal NF- κ B formando un complesso retrotrasportato dai nuclei al citoplasma, (125).

La perdita di una risposta infiammatoria dei batteri commensali riflette un meccanismo di tolleranza duplice (ignoranza e limite) e l'interscambio tra batteri e cellule dell'epitelio e della lamina-propria portando un bilanciamento attivo che sottoregola l'infiammazione intestinale. Il controllo dell'espressione di IL-2 prodotto da APCs, in risposta ai microorganismi patogeni ma non ai commensali, è considerato un elemento di tollerogenicità (126); inoltre le cellule T circolanti nella lamina propria, specifiche per gli antigeni commensali, devono essere soppresse per evitare infiammazioni in seguito a traslocazione di antigeni commensali, perché la presenza di cellule T regolatorie (o T-helper3) è caratteristica della lamina propria. Queste cellule regolatorie inibiscono l'attivazione, la differenziazione e la proliferazione di altre cellule T che producono IL-10 e il fattore- β di crescita (127). È possibile che la "rottura" di questi delicati meccanismi di tolleranza della microflora commensale possa concorrere alla comparsa di malattie infiammatorie dell'intestino (IBDs) (128).

I batteri patogeni

A differenza dei batteri commensali, quelli patogeni invadono e danneggiano l'epitelio intestinale causando infiammazione. Per stabilire e mantenere un'infezione, i batteri patogeni intestinali (o enteropatogeni) hanno messo a punto diverse strategie per evitare o resistere alla risposta immunitaria innata e per sopravvivere, moltiplicarsi e propagarsi con successo nell'organismo ospite.

Uno step necessario per la colonizzazione dell'intestino da parte degli enteropatogeni è rappresentato dalla capacità dei microorganismi di aderire alla superficie della cellula ospite. Infatti, l'adesione è importante per il batterio per resistere al flusso del contenuto luminale e alla peristalsi della contrazione intestinale. Solo quando si è stabilito una forte legame tra il microorganismo e la cellula epiteliale, i batteri enteropatogeni possono colonizzare e stabilire così una localizzazione permanente nell'intestino.

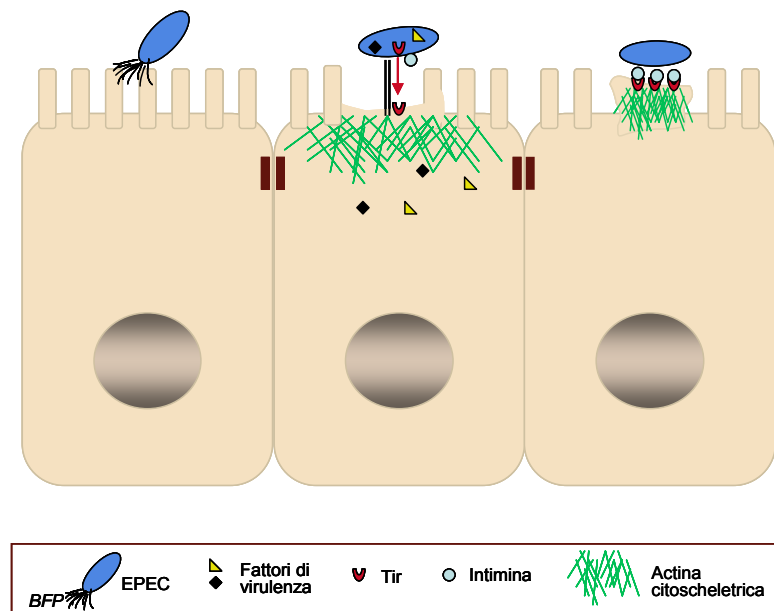


Figura 2. *Escherichia coli* enteropatogeni (EPEC): adesione a cellule epiteliali

Gli enteropatogeni possono essere distinti in extra e intracellulari rispetto alla loro capacità di aderire (batteri extracellulari) e di invadere (batteri intracellulari) le cellule epiteliali e questo processo coinvolge l'interazione tra particolari molecole di superficie microbica e specifici recettori localizzati sulla cellula ospite. L'interazione cellula-batterio attiva una serie di segnali intracellulari che possono portare alla riorganizzazione del citoscheletro con conseguente passaggio del microorganismo all'interno della cellula ospite. Le modalità con cui questo avviene variano a seconda della specie batterica. Di seguito riportiamo brevemente i meccanismi utilizzati da alcuni noti batteri intestinali per esplicitare il loro potere patogeno. Ad esempio, l'*E. coli* enteropatogeno (EPEC) aderisce alla superficie cellulare dell'epitelio intestinale mediante un pilo (*bundle-forming pilus*, BFP) (Figura 2). In seguito all'iniziale attacco batterico, i microvilli sono distrutti e gli EPEC iniettano nella cellula ospite sia fattori di virulenza sia il recettore Tir. Il recettore Tir possiede tre diverse funzioni: si lega alla proteina esterna di membrane detta "intimina", causa una profonda riorganizzazione dell'actina citoscheletrica della cellula ospite e attiva diversi segnali intracellulari (129). Gli EPEC si legano quindi al recettore Tir tramite la proteina di membrana intimina. In seguito all'attivazione di vari eventi che controllano la trasduzione del segnale, avviene il reclutamento di proteine citoscheletriche, inclusa l'actina, a livello del sito di attacco degli EPEC. Il riarrangiamento citoscheletrico che segue al legame Tir-intimina, risulta nella formazione di una struttura a "pedistallo" (Figura 2).

Una caratteristica comune a molti enteropatogeni è la capacità di utilizzare come vie di trasporto le cellule M, cellule rare nell'epitelio intestinale, la cui parte apicale sembra essere coinvolta nel promuovere aderenza per i microrganismi. Infatti, sulla loro superficie cellulare sono presenti composti glicconiugati che vengono riconosciuti dai microrganismi. Questi fattori di adesione, *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) sembrano essere specifici per le cellule M poiché le altre cellule presenti nell'epitelio li producono solo in condizioni di infiammazione o di infezioni delle mucose (130). Molti sono i batteri patogeni che affidano il loro trasporto per l'invasione della mucosa intestinale alle cellule M (102, 114), ma la maggior parte delle interazioni mediate nella traslocazione attraverso le cellule M non sono ancora chiare. Anche se queste traslocazioni sembrano facili, il batterio entrante deve fronteggiare un folto gruppo di cellule fagocitarie (131) a cui resistere con varie strategie per sopravvivere alla fagocitosi e alla distruzione.

Per promuovere la propria internalizzazione, alcuni batteri patogeni intestinali hanno messo a punto una strategia chiamata *zipper* (a chiusura lampo) che prevede il legame di un'adesina batterica a un recettore della superficie della cellula ospite coinvolto nelle adesioni cellula-cellula e cellula-matrice e/o nell'attivazione di proteine che modulano il turnover del citoscheletro. Queste proteine sono spesso connesse a cascate di segnali attivate da fosforilazioni in tirosina e che conducono, tra gli altri effetti, a riarrangiamenti dell'actina citoscheletrica e alla riorganizzazione delle membrane. Tra i batteri che utilizzano questo meccanismo, quelli più ampiamente studiati sono la *Listeria* (Figura 3) e la *Yersinia* (Figura 4).

La *Listeria* viene internalizzata da parte delle cellule M e dalle cellule epiteliali mediante la formazione di vacuoli endocitici (Figura 3). Una tossina batterica, la listeriolisina, distrugge la membrana endosomiale permettendo così ai microrganismi di muoversi liberamente nel citosol della cellula ospite. Una volta liberi nel citoplasma, i batteri sono in grado di moltiplicarsi e di indurre la polimerizzazione dell'actina citoscheletrica. Questa riorganizzazione del citoscheletro permette al patogeno di muoversi nel citosol della cellula infettata e di invadere le cellule adiacenti attraverso la formazione di protrusioni di membrana, determinando così la propagazione del patogeno nell'epitelio. Una volta passata la barriera epiteliale, *L. monocytogenes* è in grado di indurre disseminazione sistemica, soprattutto invadendo i monociti circolanti, i leucociti polimorfonucleati (PMN) e le cellule dendritiche. L'ingresso del patogeno

Listeria monocytogenes nelle cellule non fagocitarie (132) è mediata almeno da due proteine: l'internalina A (InlA) e l'internalina B (InlB). La penetrazione della *Listeria* nelle cellule ospiti richiede l'interazione tra InlA e l'E-caderina, una glicoproteina transmembrana coinvolta nelle interazioni E-caderina-E-caderina a livello delle giunzioni di aderenza delle cellule epiteliali polarizzate. L'InlB interagisce con tre ligandi cellulari tra cui Met, una tirosin-chinasi recettoriale transmembrana il cui ligando naturale è il fattore di crescita epatocitario. Una volta nel citoplasma, *L. monocytogenes* sfrutta l'actina dell'ospite una seconda volta. Le proteine ActA associate con il polo della vecchia cellula batterica (essendo un bacillo, *L. monocytogenes* si suddivide nel mezzo della cellula e perciò ha un polo nuovo ed un polo vecchio) sono in grado di legare il complesso Arp2/3 ed inducono perciò una enucleazione dell' actina in un'area specifica della superficie della cellula batterica (133). La polimerizzazione dell'actina aziona allora lo spostamento unidirezionale del batterio nella membrana della cellula ospite. La protrusione che si forma può quindi essere interiorizzata da una cellula adiacente, dando luogo ad un vacuolo a doppia membrana da cui il batterio deve scappare con il ricorso ad enzimi litici quali la Listeriolisina-O (LLO) e la Fosfolipasi-c B (PlcB) (134).

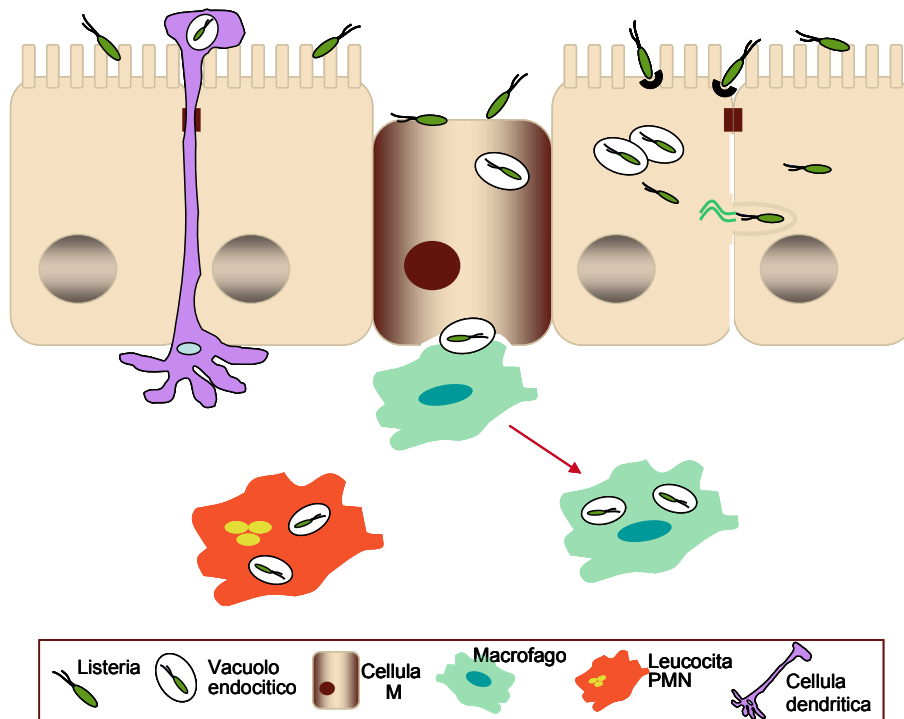


Figura 3. *Listeria monocytogenes*: strategia di invasione e sopravvivenza nell'ospite

Per quanto riguarda la *Yersinia*, la proteina batterica invasina si lega a recettori integrinici coinvolti nei processi di adesione delle cellule alle proteine della matrice extracellulare. Il batterio deve "fuggire" dai vacuoli prima che possa avvenire la fusione dell'endosoma con un lisosoma. Un importante fattore di virulenza che permette al batterio di fuoriuscire dal vacuolo è la LLO, che rompendo la membrana vacuolare permette al batterio di muoversi liberamente nel citoplasma dove può proliferare (135).

Nell'ospite, *Yersinia* spp. ha una doppia strategia di sopravvivenza. Causa infatti inserimenti intracellulari delle proteine YopE, YopH e YopT, che inattivano il citoscheletro di actina,

producendo composti anti-infiammatori, inibendo un nuovo reclutamento di infiltrato pro-infiammatorio, particolarmente monociti e neutrofili (136). Alternativamente, *Yersinia* spp. può causare apoptosi YopP-dipendente delle cellule ospiti. Queste proteine Yop codificate da plasmidi virulenti di *Yersinia* spp. funzionano come proteine effettrici che “anestetizzano” la risposta immunitaria innata. L’invasione della cellula ospite da parte della *Yersinia*, inizia con l’interazione tra le integrine presenti sulla superficie delle cellule M e una particolare adesina batterica, Inv. La conseguente invasione della cellula ospite avviene con un meccanismo a *zipper* mediante il quale il batterio viene circondato e avvolto dalla membrana cellulare (Figura 4). Una volta all’interno della cellula, le proteine effettrici Yop interferiscono con segnali intracellulari che regolano diverse funzioni cellulari come l’organizzazione del citoscheletro, la fagocitosi, l’apoptosi e la risposta infiammatoria in modo da favorire la sopravvivenza batterica. Questo meccanismo permette al batterio di invadere le cellule epiteliali adiacenti dopo interazione con le integrine localizzate sul livello base-laterale dell’epitelio. Nelle fasi successive della patologia, le proteine Yop contribuiscono alla sopravvivenza e disseminazione extracellulare del patogeno (Figura 4).

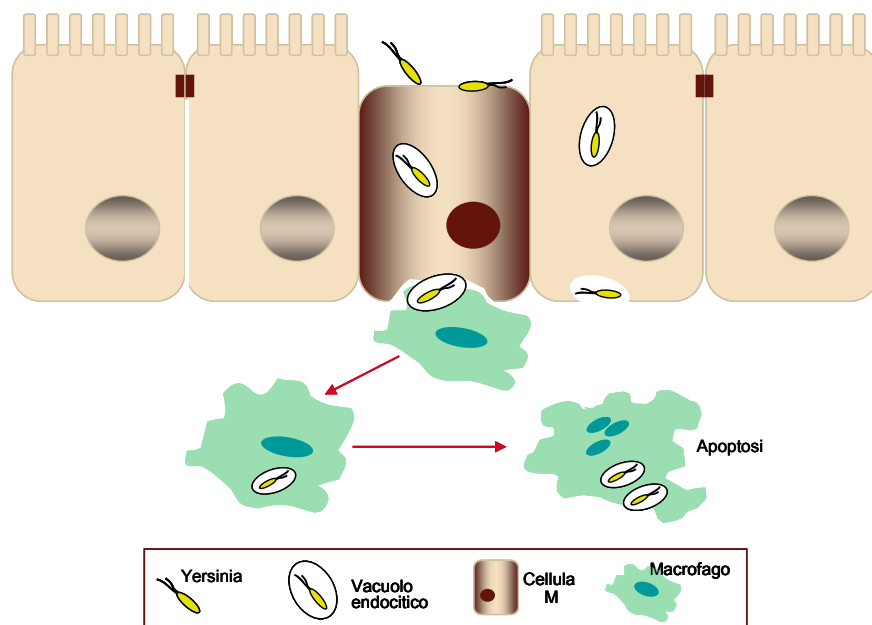


Figura 4. Yersinia: un meccanismo sofisticato di sopravvivenza batterica

La strategia riflette i sintomi clinici dell’infezione di *Yersinia* spp, che sono dominati dalla formazione di ascessi ileali e mesenterici in cui i batteri sono soprattutto extracellulari (137).

Un ulteriore meccanismo utilizzato dai batteri patogeni per invadere cellule non-fagocitiche viene chiamato *trigger*, ed è utilizzato tipicamente dalla *Salmonella* (Figura 5) e dalla *Shigella* (Figura 6). Quando interagiscono con cellule epiteliali, questi patogeni producono un’alterazione caratteristica della membrana cellulare con formazione di particolari creste di superficie, chiamate *ruffles* accompagnata da un marcato riarrangiamento dei filamenti di actina nelle zone immediatamente adiacenti al sito di adesione del batterio alla membrana. Questo *ruffling* di membrana è accompagnato da una massiccia endocitosi e internalizzazione dei batteri nelle cellule ospiti.

La *Salmonella* invade la mucosa intestinale utilizzando 2 diverse “vie cellulari”, le cellule M e gli enterociti. In entrambi i casi induce la formazione di *ruffles*, strutture ricche in actina che permettono di macropinocitare e internalizzare i batteri. Eventi successivi includono la distruzione delle cellule M e l’invasione di macrofagi da parte di batteri. I batteri causano quindi apoptosi dei macrofagi e inducono una risposta mucosale immune e infiammatoria. Nelle cellule epiteliali i batteri permangono in un compartimento delimitato da membrana. L’invasione delle cellule epiteliali da parte di *S. typhimurium* è mediata dall’attivazione di un sistema di secrezione che trasloca effettori proteici dal citosol batterico alla membrana plasmatica ed al citosol della cellula ospite (138). Questi effettori causano polimerizzazione dell’actina, con formazione di *ruffles* di membrana e internalizzazione dei batteri in un compartimento delimitato da membrana, chiamato SCV (vacuolo contenente *Salmonella*). Dopo l’invasione delle cellule epiteliali, gli SCV acquisiscono rapidamente marcatori di endosomi precoci che sono poi rimossi gradualmente e sostituiti da marcatori di endosomi tardivi (139). Anche se per molto tempo è stato accettato che la fusione tra i lisosomi e i vacuoli viene inibita, pubblicazioni recenti mostrano possibile una fusione lisosoma-SCV durante l’infezione con *Salmonella*. Questo nuovo scenario lascia irrisolte numerose questioni sui meccanismi che i batteri utilizzano per evadere la distruzione da parte dell’ospite. In ogni caso, la *Salmonella*, mediante particolari molecole effettrici, si assicura una sorta di “nicchia protettiva”, all’interno della quale il patogeno può sopravvivere e replicarsi. La proteina SifA codificata da *Salmonella* ha un importante ruolo nel mediare il reclutamento di vescicole per incrementare la quantità di SCV nella membrana, evitando la rottura del vacuolo e la transizione a lisosoma (140). Tale strategia è importante per la capacità di *Salmonella* spp. di disseminarsi nell’ospite e causare setticemia (Figura 6). *Salmonella* stabilisce una interazione cellulare che coinvolge diverse strategie, inclusa la capacità di causare apoptosi dei macrofagi tramite l’effettore SipB che attiva la caspasi-1 (141).

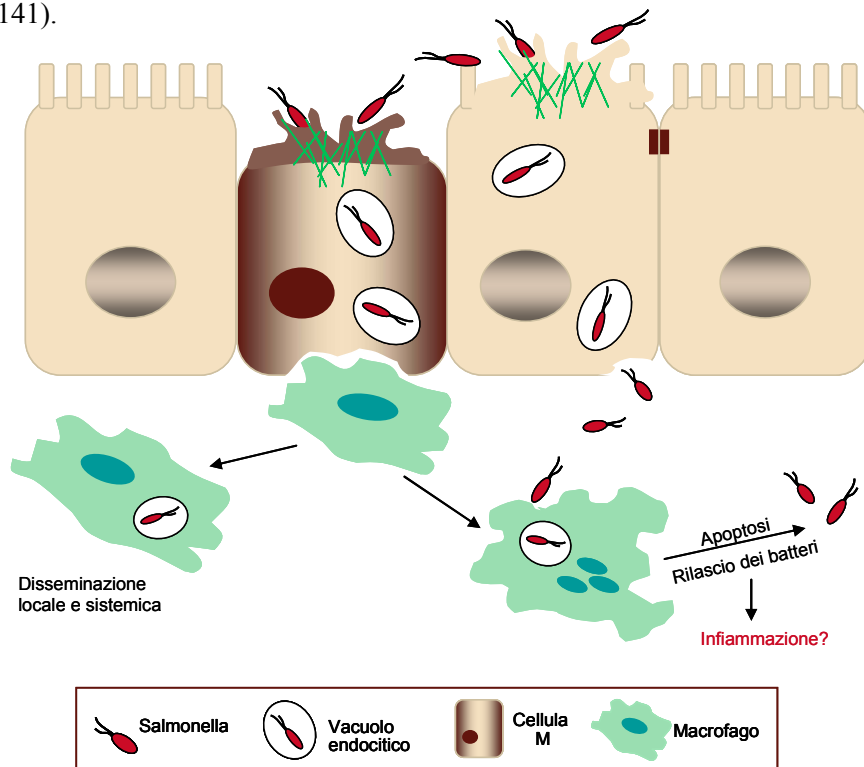


Figura 5. *Salmonella enterica typhimurium*: attraversamento della barriera intestinale

La *Shigella* penetra nella mucosa del retto e del colon attraverso le cellule M. Anche la *Shigella* viene internalizzata mediante formazione di un vacuolo endocitico, ma il batterio rimane all'interno della vescicola solamente per un breve periodo. Questo patogeno è infatti capace di fuoriuscire dal vacuolo e acquisire così la capacità di muoversi liberamente nel citosol della cellula ospite. Dopo la traslocazione, la *Shigella* assicura la sua immediata sopravvivenza causando l'apoptosi di macrofagi e monociti (142) attraverso l'attivazione Ipa-B-mediata della caspasi-1 (143, 144). Questo meccanismo attiva però l'infiammazione della mucosa attraverso il rilascio di IL-1 β e di IL-18 (Figura 6), un evento che disarma i microorganismi (145) causando il loro intrappolamento in strutture filamentose avvolgenti conosciute come trappole extracellulari dei neutrofili (NETs), composte di DNA e molecole antimicrobiche (146). In risposta a tali meccanismi di difesa, *Shigella* spp. ha sviluppato processi connessi all'abilità di invadere le cellule epiteliali e poi allargarsi da cellula a cellula (147), cosa che le permette una buona protezione contro i fagociti e giustifica il modello clinico della shigellosi, che è caratterizzata da una massiva distruzione epiteliale.

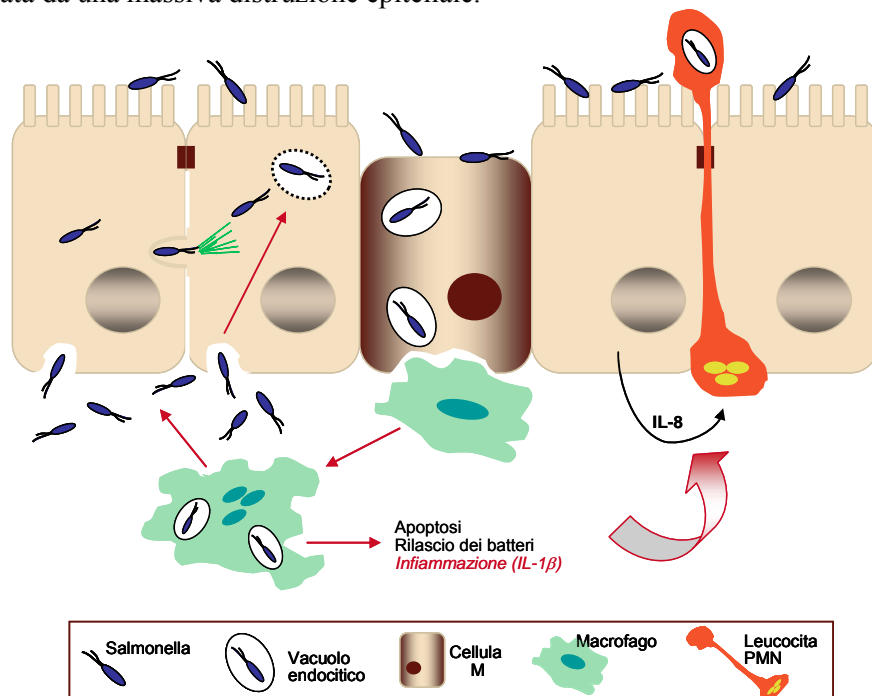


Figura 6. *Shigella flexneri*: invasione della mucosa intestinale attraverso le cellule M

Inoltre *Shigella* spp. può interferire con la risposta infiammatoria attivando un meccanismo ancora sconosciuto di down-regolazione dell'infiammazione in risposta all'invasione della mucosa (148).

In sintesi, la rottura della barriera intestinale da patogeni Gram-negativi enteroinvasivi può arrecare tre principali problemi (149): uno locale dato dall'invasione della mucosa (*Shigella* spp) (150); uno loco-regionale dato da infezione (*Yersinia* spp) (151); e altri locali dati da invasioni delle mucose e disseminazioni sistemiche (*Salmonella* spp) (152).

Come indicato nella Tabella 1, tra i batteri che colonizzano la parte terminale dell'intestino, una porzione rilevante è rappresentata da batteri anaerobi, in particolare dai clostridi. Tra questi, riportiamo come esempio il *Clostridium difficile*, un batterio descritto per la prima volta nel

1935 da Hall e O'Toole e così denominato per la sua difficoltà nel crescere in coltura di laboratori. Benchè possa essere normalmente presente nel nostro intestino senza causare alcun disturbo, in alcune situazioni il *C. difficile* può essere responsabile di infezioni gastrointestinali di gravità variabile (153), quali diarree e coliti o, nei casi più severi, dalla colite pseudomembranosa. Quest'ultima, è generalmente causata da una eccessiva crescita dell'organismo nel colon in seguito ad una terapia antimicrobica che disturba la normale flora intestinale, permettendo così al batterio di replicarsi attivamente ed elaborare le enterotossine responsabili della malattia (154). Le principali tossine del *C. difficile* (tossine A e B), interferiscono col citoscheletro delle cellule epiteliali intestinali, distruggendone i microfilamenti di F-actina, inducendo apoptosi in cellule epiteliali (155, 156) e causando così infiammazione e danno alle mucose (Figura 7).

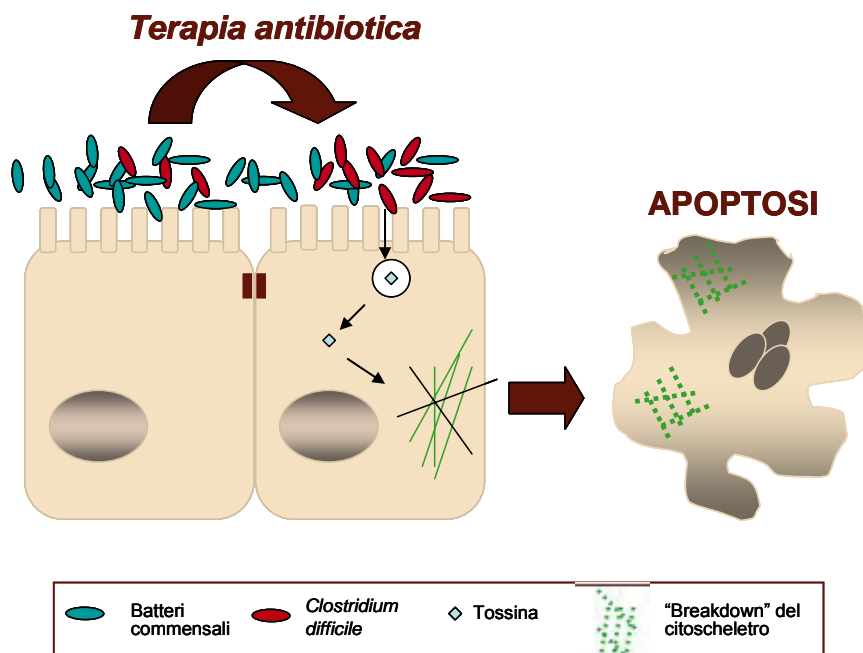


Figura 7. Il *Clostridium difficile* altera il citoscheletro e induce apoptosi tramite la produzione di tossine

Quali sono i meccanismi mediante i quali i batteri commensali competono con quelli patogeni?

Per rispondere a questa domanda, dobbiamo anzitutto ricordare quali sono le principali funzioni della microflora intestinale: una funzione trofica (nutrimento), in quanto la microbiota garantisce l'integrità della mucosa intestinale; una funzione protettiva contro l'invasione dei batteri patogeni, in quanto la flora batterica potenzia l'effetto barriera della mucosa intestinale, grazie alla sua funzione trofica (Figura 8). La flora intestinale normale può aumentare le difese dell'ospite occupando l'intestino con numerose e diverse specie batteriche. Tale difesa si esplica tramite i seguenti meccanismi: (a) viene prevenuta la colonizzazione dell'ospite da parte dei patogeni, mediante competizione per i nutrienti essenziali o per i siti di attacco alle cellule epiteliali; (b) vengono prodotti composti antimicrobici di vario tipo che creano nel lume intestinale un microambiente sfavorevole alla crescita dei patogeni; (c) vengono reclutate cellule del sistema immune e viene indotta

un'appropriata risposta infiammatoria. Il superamento delle difese dell'epitelio da parte della flora normale porta all'insorgenza di una patologia intestinale.

I batteri presenti nel nostro intestino fermentano il materiale indigerito, generalmente costituito da polisaccaridi di origine vegetale e, in seguito a questa fermentazione, producono degli acidi grassi a catena corta, come l'acido acetico, propionico e butirrico. Queste molecole sono molto importanti per il nostro benessere, poiché rappresentano una fonte energetica per le cellule epiteliali dell'intestino. Sembra inoltre che l'acido butirrico protegga dal tumore del colon. Inoltre, La popolazione batterica simbiotica produce anche sostanze antimicrobiche, grazie alle quali impedisce l'adesione di patogeni all'epitelio intestinale. Tale effetto è potenziato dall'ostacolo fisico che la microflora "amica" esercita occupando i possibili siti di adesione alle pareti dell'intestino. Infine, la flora batterica modula componenti del sistema immunitario intestinale ad azione pro-infiammatoria contro le infezioni croniche.

Numerosi studi suggeriscono quindi che la resistenza alla colonizzazione dei patogeni enterici dovuta ai commensali, risulta nel prevenire una massiccia invasione di quei patogeni che possono causare sintomi clinici e alterazioni patologiche (129). Questa capacità rende la microflora normale un potente mediatore di protezione. Inoltre, la microflora fornisce benefici nutrizionali all'ospite, e in cambio può accedere ad un ambiente ricco di nutrienti, instaurando una relazione simbiotica con il tratto intestinale dell'ospite.

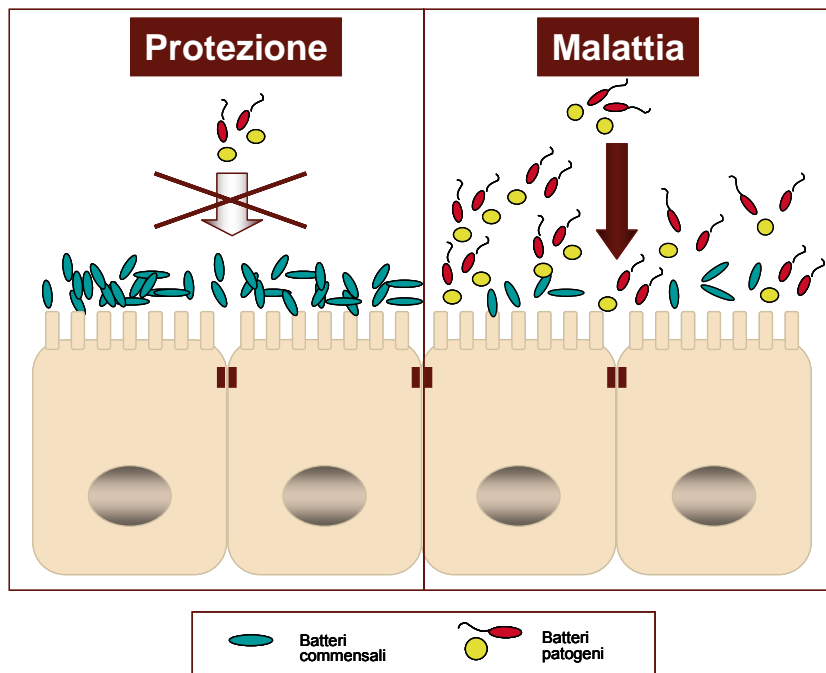


Figura 8. Competizione tra batteri commensali e patogeni

Batteri e fibre

Gli ecosistemi microbici presenti nell'uomo sono stati studiati da alcuni ricercatori i quali, analizzando alcuni metaboliti escreti con le feci, hanno osservato che la composizione di tale metaboliti risultava stabile in un breve periodo temporale (157, 158, 159, 160, 161). I batteri

si nutrono di sostanze presenti nell'ambiente intestinale trasformandole e metabolizzandole in composti, che, una volta escreti, sono esposti al contatto delle mucose dell'intestino umano, creando tra ospite e batteri le condizioni favorevoli per interazioni di natura chimico-fisica. È noto da tempo che particolari sostanze escrete da alcuni batteri, ad esempio proteine come le batteriocine, inibiscono la crescita di altri batteri, mentre alcuni prodotti metabolici, come gli acidi organici, gli acidi grassi a catena corta (SCFAs) e il perossido d'idrogeno, sono molto importanti per l'interazione tra microrganismi (162-165). In ogni caso, la colonizzazione batterica dell'intestino è influenzata soprattutto dal fenomeno dell'adesione microbica all'epitelio intestinale (166).

La composizione quantitativa dei microrganismi all'interno dell'intestino dipende dalle condizioni che i biotipi batterici incontrano localmente. Le variabili che influenzano la popolazione microbica sembrano essere: la concentrazione dei gas presenti (ossigeno, diossido di carbonio, metano, idrogeno), la concentrazione idrogenionica (pH), il potenziale di ossidoriduzione (Eh), le secrezioni della mucosa (lisozima, ormoni, immunoglobuline) e le fibre e gli zuccheri non-metabolizzati. L'interazione forse più importante è quella che la microflora ha sulla salute dell'ospite, infatti è stato dimostrato che questa influenza le funzioni immunitarie e metaboliche, oltre la morfogenesi dell'organismo (167, 168, 169). I batteri intestinali svolgono diverse funzioni la loro presenza produce effetti sulla salute e sulle malattie umane quali la costipazione, la sindrome del colon irritabile, l'infiammazione intestinale, la malattia di Crohn, le coliti ulcerose, le allergie alimentari, le diarree indotte da antibiotici, le malattie cardiovascolari e alcuni tumori (170).

Le fibre indigeribili sembra influenzino le popolazioni microbiche nel colon (171) e gli esperimenti *in vitro* e *in vivo* hanno messo in luce un ruolo attivo degli oligosaccaridi resistenti. Studi *in vitro* hanno evidenziato che particolari oligomeri scompaiono completamente entro le due ore (172, 173). I fruttani tipo inulina, quando incubati in presenza di un omogenato in differenti segmenti di ratto o nel piccolo intestino umano, rimangono immutati per due ore (172, 174, 175), mentre nello stomaco la loro idrolisi è limitata e queste sostanze percorrono non digerite dalla parte superiore il tratto gastroenterico fino al colon.

Questo andamento è stato confermato da studi *in vivo* sui ratti (176) e sull'uomo (177, 178), riscontrando come dati più interessanti quelli, prodotti da Bach-Knudsen and Hesson (177) e da Ellegård *et al.* (178), che hanno utilizzato pazienti ileostomizzati per valutare il destino di queste sostanze nel sistema gastroenterico umano. In particolare, i due studi hanno evidenziato che l'86-88% della dose non digerita (17 o 30 g) di inulina (INU) e di oligofruzzosi (OFr) è recuperata nei pazienti ileostomizzati. Molis *et al.* (175), utilizzando la tecnica dell'intubazione in volontari umani, hanno confermato che SFr non viene assorbito nel piccolo intestino umano (89% di recupero), difatti la causa principale della piccola perdita di fruttani tipo-inulina durante il passaggio nel piccolo intestino sembra essere l'aumento di 100 volte della popolazione microbica dell'ileo nei pazienti ileostomizzati, rispetto ai pazienti normali (178). Altre cause ipotizzabili in tale perdita potrebbero riguardare fenomeni di idrolisi acida e/o enzimatica dei fruttani con bassi pesi molecolari.

Gli oligosaccaridi resistenti, non essendo digeriti e/o assorbiti dal piccolo intestino, non hanno un valore calorico in senso tradizionale ma, per via dei processi fermentativi, apportano un contributo energetico di circa 1,5 kcal/g simile a quello delle fibre alimentari solubili.

Negli ultimi decenni è diminuito, nelle popolazioni occidentali, il consumo di carboidrati complessi, così come degli oligosaccaridi resistenti e delle fibre alimentari, e a questo decremento sembra essere associato un incremento del rischio di malattie croniche. I dati di *intake* disponibili sono quelli eseguiti sul consumo di fruttani tipo inulina. Van Loo *et al.* (179) hanno stimato il seguente *daily intake* di inulina/oligofruzzosio in Europa e negli Stati

Uniti: in Europa *intake* giornaliero di 3,2-11,3 g per una persona di 75 kg mentre nel Nord America *intake* giornaliero di 1-4 g per una persona di circa 75 kg – si pensa che le più importanti fonti di inulina (INU) e oligofruzzosi (OFr) siano il grano, le cipolle e le banane –.

È stato dimostrato che gli oligosaccaridi resistenti sono rapidamente e completamente metabolizzati dalla microflora fecale umana e che GpyFn e FpyFn componenti tipo scompaiono dalla coltura media in un rapporto simile (180). Tutti i ceppi di bifidobatteri, eccetto alcuni, utilizzano i fruttani tipo-inulina, come le colture *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *S. epidermis*, *Enterococcus faecalis* e *E. faecium*, *Bacteroides vulgatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. ovatus* e *B. fragilis*, *Lactobacillus acidophilus* e *Clostridium* spp. (180-182). Tali studi dimostrano la comparabilità tra la fermentazione di OFr e SFr e che l'inulina è, tra i tre fruttani utilizzati, il meno efficiente.

Studi eseguiti sui batteri, al fine di valutarne la crescita e la composizione, hanno evidenziato cambiamenti in quelle colture dove erano stati somministrati inulina o oligofruzzosi (182-184). La crescita dei bifidobatteri è stimolata selettivamente sia dall'inulina sia dal suo idrolizzato e questa influenza sulla crescita è tale da far divenire all'interno dell'intestino i bifidobatteri una specie predominante.

Un aumento considerevole dei bifidobatteri è stato evidenziato in studi sia eseguiti su campioni di flora fecale umana, a cui sono stati aggiunti gli oligosaccaridi dei semi di soia (185), sia su campioni eseguiti su ratti alimentati con supplementi dietetici contenenti il 5% di oligosaccaridi resistenti (186).

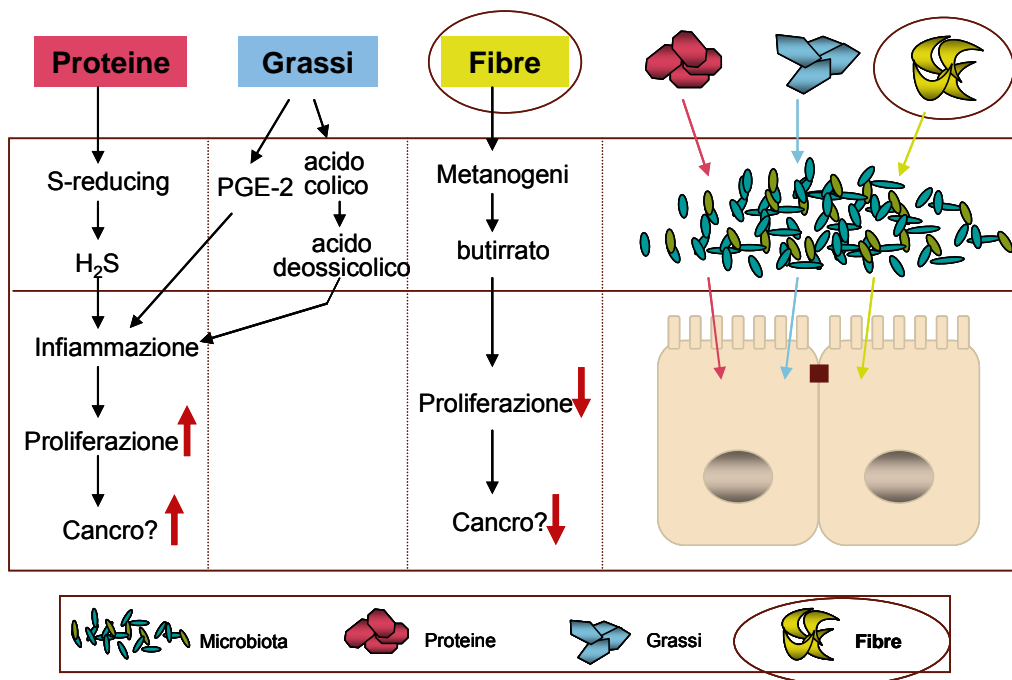


Figura 9. Effetti della dieta sullo stato di salute del colon sono mediati dalla microbiota

Uno studio interessante su soggetti umani adulti è stato effettuato da Gibson *et al.* (187), e ha dimostrato come la crescita dei bifidobatteri è correlata a una dieta incrementata di 15 g/giorno di estratti di inulina o oligofruzzosi. Tale studio si è basato su metodi validati per l'identificazione e il conteggio dei batteri presenti nelle feci umane maggiormente conosciuti

analizzando tali batteri entro 30 minuti dal campionamento. La crescita dei bifidobatteri è stimolata dall'inulina in modo tale che a distanza di due settimane dalla somministrazione questi batteri diventano il gruppo numericamente più significativo mentre si nota una riduzione significativa del numero di *Bacteroides*, di *Fusobacteria* e di *Clostridia* gli effetti descritti sono dieta dipendente infatti, gli aumenti e le diminuzioni di questi batteri mutano al variare della dieta.

In conclusione, si può affermare che la dieta influisce sullo “stato di salute” dell'intestino principalmente attraverso gli effetti che svolge sulla microbiota colonica poiché un numero crescente di evidenze ha dimostrato che molte malattie coloniche – in particolare il rischio di cancro al colon – sono determinate dalle interazioni tra il cibo ingerito e la microbiota (188, 189) (Figura 9).

Aspetti nutrizionali

Gli alimenti in cui sono presenti le fibre

La presenza delle fibre nei diversi alimenti è molto eterogenea e variabile dal punto di vista quali-quantitativo.

Gli alimenti di origine vegetale sono quelli che presentano i contenuti di fibre più significativi, anche se è necessario sottolineare l'importanza del processo di trasformazione nel determinare la concentrazione finale di fibre nel prodotto alimentare.

La conoscenza dei contenuti in fibre nei prodotti alimentari risulta quindi indispensabile per verificare la soddisfazione del fabbisogno giornaliero in fibre.

Le tabelle del rapporto sono ricavate dalla Banca dati per gli Studi epidemiologici in Italia che sono state realizzate utilizzando diverse fonti quali: tabelle di composizione dell'INRAN 1989 (aggiornate nel 1995), le tabelle di composizione dell'Università degli Studi Perugia 1989, la banca dati per l'indagine nazionale INRAN 1980-84, le tabelle di composizione McCance Widdowson 1991, le tabelle di composizione dell'*United States Departement of Agriculture*, le tabelle tedesche Souci 1989-90 e 1994, la banca dati olandese Nevotabel 1993, la banca dati finlandese Rastas 1993, la banca dati svedese Livsmedels 1996, gli articoli scientifici di varia provenienza.

Le Tabelle di informazione nutrizionale sono state compilate sulla base di 100 grammi di parte edibile, ad eccezione di alcuni alimenti dove non è stato possibile, per motivi di spazio, indicare la diversa quantità. Le informazioni nutrizionali dell'alimento riportate riguardano il contenuto: di acqua presente, di fibre totali, di energia in kcalorie e in kjoule.

Nelle Tabelle gli alimenti sono stati suddivisi per classi al fine di facilitare la consultazione.

Tabella 2. Cereali o alimenti a base di cereali

Alimenti	Acqua	Fibre	Energia kcal	Energia kj
<i>Avena sativa</i>	8,2	10,6	389	1628
Crackers	2,7-6,0	2,8-10,5	393-502	1644-2100
Crusca di grano	8,3	39,6	206	862
Farina di avena	9,0	7,6	388	1623
Farina di frumento	13,4-14,2	3,5-9,6	304-343	1272-1435
Farina di grano saraceno	13,2	2,1	364	1523
Farina di mais	12,5	2,6	365	1527
Farina di orzo	12,8	14,8	360	1506
Farina di riso	12,3	0,7	363	1519
Farina di segale integrale	15,0	11,7	335	1402
Fette biscottate	4,0-5,0	3,5-11,0	365-410	1527-1715
Fiocchi di cereali	3,0-12,8	2,2-17,3	319-395	1448-1653
Focaccia	28,5	4,9	292	1222
Frumento	11,5-12,0	1,7-12,6	314-319	1314-1335
Germe di grano	10,0	15,6	416	1741
Grissini	8,5	3,5	433	1812
Mais	12,5	2,9	355	1485
Mais in scatola	72,3-76,0	3,3-3,9	93-122	389-510
Muesli	7,0	8,1	364	1523
Orzo	12,2	9,1	318	1331
Pane	10,0-36,7	2,3-9,8	219-354	916-1481
Pasta	10,5-25,0	2,6-11,5	309-368	1293-1540
Pizza	39,3-40,5	3,1-3,8	247-271	1033-1134
Polenta	56,3	1,3	183	766
Pop Corn	4,0	2,2	383	1602
Riso	11,7-12,9	1,1-3,8	357-369	1494-1544
Salatini	2,0	3,3	514	2155
Semola	14,0	3,6	341	1427
Tortellini freschi	12,3-28,2	1,3-2,0	310-389	1297-1628

Contenuto dei nutrienti in grammi su 100 g di parte edibile

Tabella 3. Legumi o alimenti a base di legumi

Alimenti	Acqua	Fibre	Energia kcal	Energia kj
Ceci	13,0-78,0	8,1-13,8	56-334	234-1397
Fagioli	10,7-62,3	6,8-17,0	43-311	180-1301
Fagiolini	90,3-90,5	2,6-2,9	17-22	71-92
Farina di ceci	13,0	13,8	334	1397
Farina di soia	7,0	10,7-13,3	352-447	1473-1870
Fave	13,3-60,7	5,1-7,0	37-343	155-1431
Lenticchie	11,6-80,0	5,3-13,7	61-325	255-1360
Lupini	69,0	4,8	114	477
Piselli	13,0-76,1	5,2-15,7	53-306	222-1280
Soia	8,5	11,9	398	1665

Contenuto dei nutrienti in grammi su 100 g di parte edibile

Tabella 4. Verdure e ortaggi o alimenti a base di verdure e ortaggi

Alimenti	Acqua	Fibre	Energia kcal	Energia kj
Aglio	6,5-80,0	2,3-9,9	41-246	172-1029
Agretti	92,3	2,3	17	71
Asparagi	89,3-94,0	1,6-2,6	19-35	79-146
Barbabietole	91,3	2,6	20	84
Bieta	91,0-94,5	1,2-1,7	17-31	71-130
Broccolo e Broccoletti	90,3-90,7	2,9-3,1	22-27	92-113
Carciofi	83,0-88,6	3,3-5,5	18-68	75-285
Cardi	94,3	1,5	10	42
Carote	91,6	3,1	33	138
Cavolfiore, cavoli di bruxelles, broccoli	85,7-92,3	1,0-5,2	19-37	79-155
Cetrioli e cetriolini	92,8-96,5	0,6-1,2	14	59
Cicoria	90,0-95,0	0,6-3,6	10-24	42-100
Cipolle e cipolline	4,5-92,1	1,1-13,0	24-313	109-1310
Crauti	91,0	1,1	24	100
Crescione	92,5	3,0	22	92
Daikon	93,0	1,5	15	63
Finocchio	93,2	2,2	9	38
Fiori di zucca	94,3	0,5	12	50
Foglie di rapa	92,5	2,4	22	92
Funghi	10,0-92,9	1,6-60,5	11-296	46-1238
Germogli di erba medica	93,4	1,7	24	100
Giardiniera	84,5-93,0	1,8-2,5	7-58	29-243
Lattuga, scarola, indivia	92,2-95,6	1,3-1,9	14-19	59-79
Melanzane	89,1-92,7	2,5-2,6	15-49	63-205
Olive	58,0-76,8	2,4-4,4	142-268	594-1121
Ortica	83,0	4,1	36	151
Patate	73,7-78,5	1,6-2,3	85-87	356-364
Peperoncini e Peperoni	87,8-93,0	0,9-1,9	15-25	63-105
Pomodori	14,6-94,7	0,8-12,3	17-258	71-1079
Porri	87,8	2,9	29	121
Radicchio	88,1-94,0	1,0-3,0	13-14	54-59
Rape e ravanelli	93,3-95,6	1,3-2,6	11-18	46-75
Ruola	91,7	1,6	25	105
Scalogno	92,8	1,5	20	84
Sedano	88,3	1,6	20	84
Soia, germogli	86,3	1,1	49	205
Spinaci	90,1	1,9	31	130
Succo di vegetali	92,3-93,8	0,6-1,9	14-24	59-100
Tapioca	12,6	0,4	363	1519
Tartufo nero	76,3	8,5	31	130
Valeriana	92,8	1,5	21	88
Verdura e legumi, surgelati	82,1	4,0	64	268
Zucca gialla	94,6	0,5	18	75
Zucchine	93,6	1,3	11	46

Contenuto dei nutrienti in grammi su 100 g di parte edibile

Nella Tabella non sono state riportate le spezie poiché, il loro apporto di nutrienti è trascurabile.

Tabella 5. Alghe o alimenti a base di alghe

Alimenti	Acqua	Fibre	Energia kcal	Energia kj
Agar agar (<i>Eucheuma</i> spp), secco	9,7	81,1	16	67
Irish moss (<i>Chondrus crispus</i>), fresca	81,3	12,3	8	33
Kombu (<i>Laminaria</i> spp), secca	12,7	58,7	43	180
Nori (<i>Porphyra laciniata</i>), secca	8,7	44,4	136	569
Wakame (<i>Undaria</i> spp), secca	12,2	47,1	71	297
Agar agar (<i>Eucheuma</i> spp), secco	9,7	81,1	16	67
Irish moss (<i>Chondrus crispus</i>), fresca	81,3	12,3	8	33
Kombu (<i>Laminaria</i> spp), secca	12,7	58,7	43	180

Contenuto dei nutrienti in grammi su 100 g di parte edibile
Anche se non riportato in Tabella le alghe contengono una elevata quantità di iodio.

Tabella 6. Frutta o alimenti a base di frutta

Alimenti	Acqua	Fibre	Energia kcal	Energia kj
Albicocche	14,7-86,3	1,5-21,6	28-188	117-787
Amarene	84,2	1,1	41	172
Ananas	77,0-86,4	0,9-1,0	40-77	167-322
Arance	87,2	1,6	34	142
Avocado	64,0	3,3	231	967
Babaco	95,0	1,1	21	88
Banana	76,8	1,8	66	276
Ciliege	86,2	1,3	38	159
Cocomero	95,3	0,2	15	63
Datteri	60,7	3,6	124	519
Fichi	81,9	2,0	47	197
Fichi d'india	83,2	5,0	53	222
Fragole	90,5	1,6	27	113
Kaki o Loti	82,0	2,5	65	272
Kiwi	84,6	2,6	44	184
Lamponi	84,6	7,4	34	142
Latte di mandorle	96,0	0,4	25	105
Limette	86,0	3,3	38	159
Limone	89,5	5,2	11	46
Macedonia di frutta	81,8	1,0	57	238
Mandaranci, clementine, mandarini	81,4-85,3	1,7-2,2	53-72	222-301
Mango	82,4	2,9	57	238
Mela	85,6	2,0	45	188
Melagrane	80,5	2,2	63	264
Melone	90,1-94,1	0,7-0,9	22-33	92-138
Mirtillo nero	85,9	2,5	30	126
Mora	82,0-85,0	1,7-7,3	26-36	109-151
Nespole	85,3	2,1	28	117
Noce di cocco	45,0	12,2	351	1469
Papaya	88,5	2,3	36	151
Pera	85,2	2,8	41	172
Pesca	74,0-90,7	1,0-2,1	27-87	113-364
Pompelmo	91,2-91,4	1,6	26-30	109-126
Prugne	82,0-87,5	1,4-2,3	41-42	172-176
Ribes nero	77,4-82,8	7,4-7,8	21-28	88-117
Succo di frutta	84,5	0,2	56	234
Uva	80,3	1,5	61	255

Contenuto dei nutrienti in grammi su 100 g di parte edibile

Tabella 7. Frutta secca o alimenti a base di frutta secca

Alimenti	Acqua	Fibre	Energia kcal	Energia kj
Arachidi	2,3-7,1	7,3-10,9	571-597	2389-2498
Castagne	10,1-41	9,0-13,1	189-349	791-1460
Datteri, secchi	17,3	8,7	253	1059
Farina di castagne	11,0	10,9	323	1351
Farina di cocco	2,3	21,1	604	2527
Fichi secchi	19,4	10,4	242	1013
Girasole, semi	4,4	6,2	581	2431
Mandorle dolci	11,7	14,3	542	2268
Mela, polpa secca	31,8	8,7	243	1017
Nocciole	5,7	6,7	625	2615
Noci	6,3-19,2	5,2-6,2	582-660	2435-2761
Pinoli	7,3	1,9	567	2372
Pistacchi	2,1-35,2	1,5-10,8	390-601	1632-2515
Prugne, secche	29,3	9,0	220	920
Uva sultanina, uvetta, uva secca	17,1	6,8	283	1184

Contenuto dei nutrienti in grammi su 100 g di parte edibile

Tabella 8. Dolci, zucchero e dolcificanti

Alimenti	Acqua	Fibre	Energia kcal	Energia kj
Babà al rhum	49,4	0,9	252	1054
Bignè	37,4	0,5	318	1331
Biscotti	2,0-8,5	0,2-15,0	392-524	1640-2192
Brioche	19,5	2,5	413	1728
Buccia d'arancia candita	16,0	1,1	313	1310
Budino	69,3-71,2	0,1-1,0	130-133	544-556
Canditi	17,0	4,5	283	1184
Cannoli alla crema	33,7	1,1	369	1544
Cedro candito	17,0	3,3	187	782
Cioccolato al latte	0,6-2,8	0,8-2,5	509-571	2130-2389
Confetti	4,1	4,6	441	1845
Crostata con marmellata	20,9	1,6	339	1418
Gelato al cioccolato	55,7	1,2	216	904
Liquirizia dolce	8,4	2,0	349	1460
Marmellata	28,0-65,3	0,7-2,6	123-261	515-1092
Merendine con la marmellata	19,7	1,0	359	1502
Pan di spagna	28,0	1,2	314	1314
Panettone	26,9	2,8	334	1397
Pasta di mandorle	6,1	7,2	467	1954
Pasta frolla	9,0	1,7	480	2008
Pasta sfoglia	7,7	1,6	560	2343
Tiramisù	38,8	7,5	411	1720
Torrone con mandorle	6,9	1,9	479	2004
Torta al cioccolato	28,0	3,6	315	1318

Contenuto dei nutrienti in grammi su 100 g di parte edibile

Tabella 9. Caffè, tè, cacao e surrogati

Alimenti	Acqua	Fibre	Energia kcal	Energia kj
Cacao	2,5-3,0	7,3-28,9	349-355	1460-1485
Caffè crudo in grani	10,2	49,5	190	795
Orzo solubile o caffè d'orzo, in polvere	4,9	0,1	372	1556
Tè, in foglie	9,3	44,7	108	452

Tabella 10. Prodotti vari

Alimenti	Acqua	Fibre	Energia kcal	Energia kj
Dadi per brodo	4,6	0,2	152	636
Estratto di carne bovina	18,0	0,9	219	916
Lievito di birra, compresso	71,0	6,9	56	234
Miso	42,9	5,4	203	849
Natto	55,0	5,4	212	887
Pasta di olive	52,2	2,2	331	1385
Patate, polvere istantanea	7,0	16,5	318	1331
Shoyu, salsa di soia e grano	71,1	0,8	53	222
Sofficini al formaggio surgelati	56,4	1,4	278	1163
Soia, bistecca	7,3	17,5	329	1377
Tamari, salsa di soia	66,0	0,8	60	251
Tempeh	61,0	4,1	166	695
Tofu	84,6	1,2	76	318

Aspetti tecnologici

Le fibre utilizzate come additivi alimentari

Gli alimenti e la loro sicurezza d'uso sono governati a livello comunitario attraverso una serie di strumenti a carattere orizzontale relativi a norme di carattere generale sui requisiti di sicurezza di un prodotto alimentare e norme di carattere verticale specifiche e relative ai diversi settori merceologici.

Le fibre alimentari occupano spazi interdipendenti nell'assetto normativo in quanto presenti negli alimenti come costituenti di un alimento, come additivo alimentare nella preparazione e trasformazione nell'ambito di una filiera alimentare o spesso come ingrediente base negli integratori di fibre alimentari.

Nel caso di un costituente alimentare la loro presenza/dichiarazione è disciplinata dalla norma sulla etichettatura nutrizionale che prevede il possibile ricorso ad una informazione dettagliata al consumatore sulla quantità di fibra percentualmente presente laddove il produttore decida, su base volontaria, l'utilizzo di questo strumento informativo.

Nel caso dell'utilizzo delle fibre come additivi alimentari, si devono prendere in esame le caratteristiche chimico-fisiche e la ripercussione sulla reologia dell'alimento nel quale vengono utilizzate tali sostanze. Alginati, gomme, cellulosa, pectine e glucomannano ed altre fibre sono sostanze che per le loro proprietà gelificanti, emulsionanti, stabilizzanti ed addensanti sono sempre più usate dall'industria alimentare per conferire quelle caratteristiche strutturali indispensabili per ottenere l'ottenimento dei requisiti del prodotto (prodotti composti, piatti pronti per il consumo, gelati, ecc.) che ne garantiscono la commerciabilità. Lo strumento

normativo che disciplina l'uso degli additivi alimentari è il DM 209/1996 (recepimento delle direttive n. 94/34/CE, 94/35/CE, 94/36/CE, 95/2/CE, 95/31/CE e successive modifiche e strumenti collegati che stabiliscono campi di applicazione e limiti massimi consentiti degli additivi nei diversi prodotti alimentari oltre a definire i requisiti di purezza e i limiti massimi permessi di sostanze tollerabili (es. metalli tossici) negli additivi (fibre alimentari).

In Tabella 11 è riportato l'elenco di fibre ammesse come additivi nei prodotti alimentari estrapolato dall'allegato IX del DM 209/1996 che autorizza l'impiego di alcuni additivi non citati nell'articolo 15, comma 3 (vedi nota Tabella 10). In Tabella 12 sono riportati gli alimenti in cui è consentita l'aggiunta delle fibre, il codice identificativo dell'additivo e la dose massima di impiego come riportato negli allegati X e XII del DM 209/1996.

Tabella 11. Fibre utilizzate come additivi alimentari di cui all'allegato IX del DM 209/1996 è consentito l'impiego nei prodotti alimentari (non citati nell'articolo 15 comma 3)

Sigla	Nome	Origine	Chimica	Uso
E400	Acido Alginico	Alghe appartenenti alla famiglia delle <i>Phaeophyceae</i>	Polisaccaride	Stabilizzante, addensante, emulsionante.
E401	Alginato di sodio	Alghe appartenenti alla famiglia delle <i>Phaeophyceae</i>	Polisaccaride	Stabilizzante, addensante, emulsionante.
E402	Alginato di potassio	Alghe appartenenti alla famiglia delle <i>Phaeophyceae</i>	Polisaccaride	Stabilizzante, addensante, emulsionante.
E403	Alginato di ammonio	Alghe appartenenti alla famiglia delle <i>Phaeophyceae</i>	Polisaccaride	Stabilizzante, addensante, emulsionante.
E404	Alginato di calcio	Alghe appartenenti alla famiglia delle <i>Phaeophyceae</i>	Polisaccaride	Stabilizzante, addensante, emulsionante.
E406	Agar-Agar	Alghe rosse	Polisaccaride	Gelificante.
E407	Carragenina	Alghe rosse	Polisaccaride	Addensante.
E407a	Alga eucheuma trasformata	Alghe rosse	Polisaccaride	Stabilizzante, addensante, gelificante.
E410	Farina di semi di carrube	<i>Ceratonia siliqua</i>	Polisaccaride	Stabilizzante, emulsionante, gelificante.
E412	Gomma di guar	<i>Cyamopsis tetragonoloba</i>	Polisaccaride	Addensante, stabilizzante, emulsionante.
E413	Gomma adragante	<i>Astragalus gummifer</i>	Polisaccaride	Addensante, stabilizzante, emulsionante.
E414	Gomma d'acacia o Gomma arabica	<i>Acacia senegal</i> e <i>Acacia seyal</i>	Polisaccaride	Addensante, emulsionante, coadiuvante, stabilizzante.
E415	Gomma di xanthan	<i>Xanthomonas campestris</i>	Polisaccaride	Addensante, emulsionante, stabilizzante, shiumogeno
E417	Gomma di tara	<i>Caesalpinia spinosa</i>	Polisaccaride	Addensante, stabilizzante
E418	Gomma di gellano	<i>Pseudomonas elodea</i>	Polisaccaride	Addensante, stabilizzante, gelificante

segue

continua

Sigla	Nome	Origine	Chimica	Uso
E440	Pectine	Piante varie	Esteri poligalatturonici	Addensanti, gelificanti, stabilizzanti, emulsionanti
E460	Cellulosa microcristallina	Piante varie	Cellulosa (grado di polimerizzazione inferiore a 400)	Emulsionante, stabilizzante, antiagglomerante, disperdente
E461	Metilcellulosa	Polpa di legno	Cellulosa etere metilico	Addensante, emulsionante, stabilizzante
E463	Idrossi-propil-cellulosa	Cellulosa	Cellulosa idrossipropile etere	Emulsionante, addensante, stabilizzante, legante, agente di rivestimento
E464	Idrossi-propil-metilcellulosa	Metil Cellulosa	Cellulosa idrossipropile metile	Emulsionante, addensante, stabilizzante.
E465	Metiletil-cellulosa	Cellulosa	Cellulosa metile etile	Emulsionante, stabilizzante, addensante, agente schiumogeno
E466	Carbossimetilcellulosa	Cellulosa	Cellulosa carbossimetile	Addensante, stabilizzante, sospendente
E469	Carbossimetilcellulosa idrolizzata enzimaticamente	Cellulosa eteri carbossimetilici	Cellulosa carbossimetile	Veicolante, lucidante, stabilizzante, addensante
E1200	Polidestrosio	Polimeri glucosio	Polisaccaride	Agente di carica, umettante, stabilizzante, addensante

Nota: elenco di prodotti alimentari citati dall'art. 15 comma 3: *prodotti alimentari non lavorati, miele* (definito nella legge 6 ottobre 1982, n. 752); *oli e grassi* di origine animale o vegetale, non emulsionati; *burro; latte* (compreso quello intero, scremato e parzialmente scremato), pastorizzato, sterilizzato (compreso il trattamento UHT) e *panna* intera pastorizzata; *prodotti lattieri non aromatizzati* ottenuti con fermenti vivi; *acqua minerale naturale*, (definita nel decreto legislativo 25 gennaio 1992, n. 105) e *acqua di sorgente; caffè* (escluso il caffè istantaneo aromatizzato) ed estratti di caffè; *tè in foglie non aromatizzato; zuccheri*, (definiti nella legge 31 marzo 1980, n. 139); *pasta alimentare secca*, esclusa la pasta esente da glutine e/o la pasta per diete ipoproteiche ai sensi del decreto legislativo 27 gennaio 1992, n. 111; *latticello naturale non aromatizzato* (escluso quello sterilizzato); *alimenti per lattanti e per la prima infanzia*, (definiti nel decreto legislativo 27 gennaio 1992, n. 111), compresi gli alimenti per lattanti e la prima infanzia in cattive condizioni di salute); *prodotti alimentari elencati nell'allegato X* che possono contenere soltanto gli additivi ivi citati e gli additivi riportati negli allegati XI e XII alle condizioni specificate negli stessi.

Tabella 12. Prodotti alimentari in cui è consentito l'impiego di fibre utilizzate come additivi alimentari di cui agli allegati X, XII del DM 209/1996

Alimento	Sigla additivo	Nome additivo	Dose massima
Prodotti di cacao e di cioccolato (legge 351/1976)	E414 E440	Gomma d'acacia Pectine	q.b. come agenti di rivestimento
Confettura extra, gelatine extra (D.P.R. 401/1982)	E440	Pectine	q.b.

segue

continua

Alimento	Sigla additivo	Nome additivo	Dose massima
Confetture, gelatine, marmellate (D.P.R. 401/1982) ed altre simili creme di frutta da spalmare, compresi i prodotti a ridotto contenuto calorico	E440	Pectine	q.b.
	E400	Acido alginico	10 g/kg singolarmente o in combinazione
	E401	Alginato di Na	
	E402	Alginato di K	
	E403	Alginato di NH ₄	
	E404	Alginato di Ca	
	E406	Agar-Agar	
	E407	Carragenina	
	E410	Farina di semi carrube	
	E415	Gamma di Guar	
E418	Gomma di Xanthan		
Gomma di gellano			
Latte disidratato o parzialmente disidratato (D.P.R. 514/1982)	E407	Carragenina	q.b.
Panna pastorizzata intera	E401	Alginato di Na	q.b.
	E402	Alginato di K	
	E407	Carragenina	
	E466	Carbossimetil cellulosa di Na	
Birra	E414	Gomma d'acacia	q.b.
Succhi e nettare di frutto della passione e ananasso	E440	Pectine	3 g/L
Emulsioni di grassi	E405	Alginato di 1,2-propandiolo	3 g/L
Prodotti da forno fini	E405	Alginato di 1,2-propandiolo	2 g/L
Ripieni, guarnizioni e coperture per prodotti da forno fini e dessert	E405	Alginato di 1,2-propandiolo	5 g/L
Prodotti della confetteria a base di zucchero	E405	Alginato di 1,2-propandiolo	1,5 g/L
Gelati a base di acqua	E405	Alginato di 1,2-propandiolo	3 g/L
Spuntini a base di cereali e patate	E405	Alginato di 1,2-propandiolo	3 g/L
Salse	E405	Alginato di 1,2-propandiolo	8 g/L
Birra	E405	Alginato di 1,2-propandiolo	100 mg/L
Gomma da masticare	E405	Alginato di 1,2-propandiolo	5 g/L
Preparazioni di frutta e verdura	E405	Alginato di 1,2-propandiolo	5 g/L
Bevande aromatizzate analcoliche	E405	Alginato di 1,2-propandiolo	300 mg/L
Liquori emulsionati	E405	Alginato di 1,2-propandiolo	10 g/L
Alimenti dietetici per scopi speciali. Preparati dietetici per il controllo del peso che sostituiscono l'intera alimentazione quotidiana o un solo pasto	E405	Alginato di 1,2-propandiolo	1,2 g/L
Integratori alimentari dietetici	E405	Alginato di 1,2-propandiolo	1 g/L
Sidro, escluso cidrebouché	E405	Alginato di 1,2-propandiolo	100 mg/L

segue

continua

Alimento	Sigla additivo	Nome additivo	Dose massima
Spuntini a base di cereali e patate	E416	Gomma karaya	5 g/kg
Rivestimenti per frutta a guscio	E416	Gomma karaya	10 g/kg
Ripieni, guarnizioni e coperture per prodotti da forno fini	E416	Gomma karaya	5 g/kg
Dessert	E416	Gomma karaya	6 g/kg
Salse emulsionate	E416	Gomma karaya	10 g/kg
Liquori a base di uova	E416	Gomma karaya	10 g/L
Integratori dietetici	E416	Gomma karaya	q.b.
Gomma da masticare	E416	Gomma karaya	5 g/kg
Integratori alimentari solidi	E 468	Carbossimetil cellulosa sodica reticolata	30 g/kg
Prodotti alimentari in generale esclusi quelli indicati dall'art 15 comma 3 e dei dolciumi a base di sostanze gelatinose, comprese le coppette di gelatina	E425 (queste sostanze non possono essere utilizzate per produrre alimenti disidratati che devono reidratarsi all'atto dell'ingestione)	Gomma Konjak, glucomannano di Konjak	10 g/kg singolarmente o in combinazione

La preparazione industriale degli alimenti si avvale inoltre, di processi assistiti dalle più moderne tecnologie e macchinari. In fase di produzione vengono utilizzate delle sostanze che veicolano e disperdono in modo omogeneo nell'alimento alcuni additivi alimentari. Tali sostanze vengono denominate, dal DM 209, coadiuvanti e veicolanti e l'allegato XIV elenca le sostanze ammesse negli alimenti a questo scopo. In Tabella 13 riportiamo le fibre che possono essere utilizzate come veicolanti e disperdenti nella produzione di alimenti.

Tabella 13. Fibre il cui impiego è consentito come agenti veicolanti e disperdenti nei prodotti alimentari di cui all'allegato XIV del DM 209/1996

Sigla additivo	Nome additivo	Uso limitato
E400	Acido alginico	-
E401	Alginato di sodio	-
E402	Alginato di potassio	-
E403	Alginato di ammonio	-
E404	Alginato di calcio	-
E405	Alginato di propan-1,2-diolo	-
E406	Agar-Agar	-
E407	Carragenina	-
E410	Farina di semi di carrube	-
E412	Gomma di guar	-
E413	Gomma adragante	-
E414	Gomma d'acacia (gomma arabica)	-
E415	Gomma xantham	-
E440	Pectine	-
E460	Cellulosa (microcristallina o in polvere)	-
E461	Metilcellulosa	-
E463	Idrossipropilcellulosa	-
E464	Idrossipropilmetilcellulosa	-
E465	Etilmetilcellulosa	-

segue

continua

Sigla additivo	Nome additivo	Uso limitato
E466	Carbossimetilcellulosa	-
	Carbossimetilcellulosa di sodio	-
E1404	Amido ossidato	-
E1410	Fosfato monoamido	-
E1412	Fosfato diamido	-
E1413	Fosfato diamido fosfato	-
E1414	Fosfato diamido acetilato	-
E1420	Amido acetilato	-
E1422	Adipato di diamido acetilato	-
E1440	Amido idrossipropilato	-
E1442	Fosfato di diamido idrossipropilato	-
E1450	Ottenil succinato di amido e sodio	-
E424	Gomma di Konjak	-
	Glucomannano di Konjak	-
E468	Carbossimetilcellulosa sodica reticolata	edulcoranti
E469	Carbossimetilcellulosa idrolizzata enzimaticamente	-
E1451	Amido acetilato ossidato	-

Aspetti sanitari

Le fibre trovano impiego anche negli integratori alimentari sia per intervenire in caso di carenza o aumentato fabbisogno sia per partecipare a regimi dietetici finalizzati alla riduzione/controllo del peso grazie alle loro proprietà sazianti.

Gli alimenti possono essere involontariamente apportatori di sostanze potenzialmente nocive per la salute.

Molta attenzione è stata posta all'esposizione attraverso la dieta a contaminanti di origine ambientale e tecnologica (legata alle modalità di produzione di un alimento) e al loro contributo alla insorgenza di patologie cronico-degenerative. In particolare i contaminanti chimici di origine ambientale (microinquinanti organici e metalli pesanti) per la loro rilevanza sanitaria sono stati oggetto di specifiche disposizioni normative (Regolamento 1881/2006) definendo limiti massimi consentiti nei diversi alimenti ed opportuni strumenti metodologici di controllo.

Gli alimenti ricchi in fibre alimentari (in particolare alimenti integrali), se da un lato corrispondono alle esigenze di coprire l'adeguato fabbisogno giornaliero di fibre alimentari, dall'altro possono fornire un significativo contributo alla esposizione di contaminanti.

Un recente Rapporto della UE relativo alla Esposizione della Popolazione Europea ad Arsenico, Cadmio, Piombo e Mercurio attraverso la dieta originato dal lavoro di una Task coordinata dall'Italia (Istituto Superiore di Sanità – Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare) evidenzia come gli alimenti integrali e gli integratori di fibre possano essere oggetto di contaminazione di piombo e cadmio a livelli talvolta non trascurabili. Inoltre i prodotti vegetali, da cui si estraggono le fibre, possono essere contaminati da funghi produttori di micotossine, mentre i processi di lavorazione possono essere responsabili della contaminazione di alcune sostanze nell'ambito del processo produttivo.

Risulta quindi opportuno prevedere nell'ambito dei programmi di sorveglianza previsti dalla normativa comunitaria in materia di sicurezza alimentare – Regolamento (CE) N. 882/2004 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004 relativo ai controlli ufficiali intesi a verificare la conformità alla normativa in materia di mangimi e di alimenti – una particolare attenzione alla contaminazione delle fibre vegetali e degli alimenti ricchi di fibre.

BIBLIOGRAFIA

1. Diplock AT, Aggett PJ, Ashwell M, Bornet F, Fern EB, Roberfroid MB. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. *Br J Nutr* 1999;81(Suppl. 1):S1-S28.
2. Adams WW III, Zarter CR, Ebbert V, and Demmig-Adams B. Photoprotective Strategies of Overwintering Evergreens. *Bioscience* 2004;54(1):41-9.
3. Andrew JY, Phillipa D, Rubanb AV, Hortonb P, and Frank HA. The xanthophyll cycle and carotenoid-mediated dissipation of excess excitation energy in photosynthesis. *Pure & Appl Chem* 1997;69(10):2125-30.
4. Demmig-Adams B, Adams, III WW. Antioxidants in Photosynthesis and Human Nutrition. *Science* 2002;298:2149-53.
5. Demmig-Adams B, Adams III WW. Harvesting sunlight safely. *Nature* 2000;403:371-4.
6. Adams WW III, Watson AM, Mueh KE, Amiard V, Turgeon R, Ebbert V, Logan BA, Combs AF and Demmig-Adams B. Photosynthetic acclimation in the context of structural constraints to carbon export from leaves *Photosynth Res* 2001;94:2-3, 455-66.
7. Varner JE, Lin LS, Plant cell wall architecture. *Cell* 1989;56:231-9.
8. Vincken JP, Schols HA, Oomen RJFJ, McCann MC, Ulvskov P, Voragen AGJ, and Visser RGF Vincken. If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. *Plant Physiol* 2003;132:1781-9.
9. Herth W, Hausser I. Chitin and cellulose fibrillogenesis in vivo and their experimental alteration. In: Dugger WM and Bartinicki-Garcia S. (Ed.). *Structure, Function, and Biosynthesis of Plant Cell Walls. Proceedings of the Seventh Annual Symposium in Botany, January 12-14, University of California*. Baltimore: Waverly Press; 1984. p. 89-119.
10. Brown PH, Bellaloui N, Wimmer MA, Bassil ES, Hu H, Pfeffer H, Dannel F, Romheld V. Boron in plant biology. *Plant Biol* 2002;4:205-23.
11. Matsunaga T, Ishii T, Matsumoto S, Higuchi M, Darvill A, Albersheim P, and O'Neill MA. Occurrence of the Primary Cell Wall Polysaccharide Rhamnogalacturonan II in Pteridophytes, Lycophytes, and Bryophytes. Implications for the Evolution of Vascular Plants¹. *Plant Physiology* 2004;134:339-51.
12. Cosgrove DJ., Assembly and enlargement of the primary cell wall in plants. *Annu. Rev Cell Dev Biol* 1997;13:171-201.
13. Bolwell GP, Northcote DH, Control of hemicellulose and pectin synthesis during differentiation of vascular tissue in bean (*Phaseolus vulgaris*) callus and in bean hypocotyl. *Planta* 1981;152:225-33.
14. Arioli T, Peng L, Betzner AS, Burn J, Wittke W, Herth W, Camilleri C, Höfte H, Plazinski J, Birch R, Cork A, Glover J, Redmond J, Williamson RE. Molecular analysis of cellulose biosynthesis in *Arabidopsis*. *Science* 1998;279:717-20.
15. Holland N, Holland D, Helentjaris T, Dhugga KS, Xoconostle-Cazares B, Delmer DP. A comparative analysis of the plant cellulose synthase (CesA) gene family. *Plant Physiol* 2000;123:1313-23.
16. Kimura S, Laosinchai W, Itoh T, Cui XJ, Linder CR, Brown RM. Immunogold labeling of rosette terminal cellulose-synthesizing complexes in the vascular plant *Vigna angularis*. *Plant Cell* 1999;11:2075-85.
17. Herth W. Plasma-membrane rosettes involved in localized wall thickening during xylem vessel formation of *Lepidium sativum* L. *Planta* 1985;164:1, 12-20.

18. Horii F, Hirai A, and Kitamaru R. CP/MAS C-13 NMR spectra of the crystalline components of native cellulose. *Macromolecules* 1987;20:2117-20.
19. Petitpas T, and Mering J. Molecular structure of cellulose II. *Compt Rend* 1956;243:47-50.
20. Woodcock C, and Sarko A. Packing analysis of carbohydrates and polysaccharides. II Molecular and crystal structure of native ramie cellulose. *Macromolecules* 1980;13:1183-7.
21. Okamura K. Structure of cellulose. In: Hon DN-S and Shiraishi N. (Ed.). *Wood and Cellulosic Chemistry*. New York: Marcel Dekker; 1991;89-111.
22. Saito K, Kato T, Tsuji Y, and Fukushima K. Identifying the Characteristic Secondary Ions of Lignin Polymer using ToF-SIMS. *Biomacromolecules* 2005;6:678-83.
23. Kolattukudy PE, Biopolyesters of plants: cutin and suberin. *Science* 1980;208:990-1000.
24. Kolattukudy PE. Cutin from plants. In: Doi Y, Steinbuechel A. (Ed.), *Biopolymers I - Biological Systems and Biotechnological Production*. Muenster, Germany: Wiley-VCH; 2001;3:1-35.
25. Bernards MA, Lewis NG. The macromolecular aromatic domain in suberized tissue: a changing paradigm. *Phytochemistry* 1998;47:915-33.
26. Bernards MA. Demystifying suberin. *Can J Bot* 2002;80:227-40.
27. Schreiber L, Hartmann K, Skrabs M, Zeier J. Apoplastic barriers in roots: chemical composition of endodermal and hypodermal cell walls. *J Exp Bot* 1999;50:1267-80.
28. Deas A, Holloway P. *The intermolecular structure of some plant cutins*. In: Tevini M, Lichtenthaler HK, (Ed.). *Lipids and Lipid Polymers in Higher Plants*. Berlin: Springer; 1977. pp. 293-299.
29. Kolattukudy PE. Structure, biosynthesis, and biodegradation of cutin and suberin. *Ann Rev Plant Physiol* 1981;32:539-67.
30. Yun JW. Fructooligosaccharides-Occurrence, preparation and application. *Enzyme and Microbial Technology* 1996;19:107-17.
31. British Nutrition Foundation, Task Force on Complex Carbohydrates in Foods. *Complex Carbohydrates in Foods*. London: Chapman & Hall; 1990.
32. IUB-IUPAC Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN). Polysaccharide Nomenclature. *The Journal of Biological Chemistry* 1982;257:10, 3352-4.
33. Cummings JH, Robertfroid M, Andersson H, Barth C, Ferro-Luzzi A, Ghoos Y, Gibney M, Hermanssen K. A new look at dietary carbohydrate: Chemistry, physiology and health. *European Journal of Clinical Nutrition* 1997;51:417-23.
34. Englyst HN, and Hudson GJ. The classification and measurement of dietary carbohydrates. *Food Chemistry* 1996;57:15-21.
35. Delzenne N, Roberfroid MB. Physiological effects of nondigestible oligosaccharides. *Lebensmittel Wissenschaft und-Technologie* 1994;27:1-6.
36. Crittenden R, Playne M. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends Food Sci Technol* 1996;7:353-60.
37. Roberfroid MB, Concepts in functional foods: the case of inulin and oligofructose. *J Nutr* 1999;129:1398s-1401s.
38. Habibi Y, Heyraud A, Mahrouzb M, and Vignona MR. Structural features of pectic polysaccharides from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Research* 2004;339:1119-27.
39. Goldberg R, Pierron M, Durand L, Mutaftschiev S. In-vitro and in-situ properties of cell-wall pectinmethylesterases from mung bean hypocotyls. *Journal of Experimental Botany* 1992;43:41-6.
40. Barnavon L, Doco T, Terrier N, Ageorges A, Romieu C, Pellerin P. Involvement of pectin methyl-esterase during the ripening of grape berries: partial cDNA isolation, transcript expression and changes in the degree of methyl-esterification of cell wall pectins. *Phytochemistry* 2001;58:693-701.

41. Yamaoka T, Tsukada K, Takahashi H, Yamauchi N. Purification of a cell wall-bound pectin-gelatinizing factor and examination of its identity with pectin methylesterase. *Botanical Magazine* 1983;96:139-44.
42. Seymour GB, Gross KC. Cell wall disassembly and fruit softening. *Postharvest News Inform.* 1996;7:45n-52n.
43. Tucker GA. Introduction. In: Seymour GB, Taylor JE, Tucker GA. (Ed.). *Biochemistry of Fruit Ripening*. London: Chapman & Hall; 1996. p. 1-51.
44. Fry SC. Oxidative scission of plant cell-wall polysaccharides by ascorbate-induced hydroxyl radicals. *Biochem J* 1998;332:507-15.
45. Schweikert C, Liskay A, Schopfer P. Scission of polysaccharides by peroxidase-generated hydroxyl radicals. *Phytochemistry* 2000;53:565-70.
46. Gross KC, Sams CE. Changes in cell wall neutral sugar composition during fruit ripening: a species survey. *Phytochemistry* 1984;23:2457-61.
47. Redgwell RJ, Fischer M, Kendall M, MacRae EA. Galactose loss and fruit ripening: high-molecular-weight arabinogalactans in the pectic polysaccharides of fruit cell walls. *Planta* 1997;203:174-81.
48. Fishman ML, Gross KC, Gillespie DT, Sondey SM. Macromolecular components of tomato fruit pectin. *Arch. Biochem Biophys* 1989;274:179-91.
49. Collins MD, and Gibson GR. Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am J Clin Nutr* 1999;69:1052s-1057s.
50. Gibson GR and Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995;125:1401-12.
51. Gibson GR, Probert H, Van Loo J, Rastall R, and Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev* 2004;17:259-75.
52. Gulewicz P, Ciesiolka D, Frias J, Vidal-Valverde C, Frejnagel S, Trojanowska K, Gulewicz K. Simple method of isolation and purification of α -galactosides from legumes. *J Agric Food Chem* 2003;48:3120-3.
53. Roberfroid MB, and Delzenne NM. Dietary fructans. *Annu Rev Nutr* 1998;18:117-43.
54. Roberfroid MB, Van Loo JAE, and Gibson GR. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J Nutr* 1998;128:11-9.
55. Van Loo J, Cummings J, Delzenne N, Englyst H, Franck A, Hopkins M, Kok N, Macfarlane G, Newton D, Quigley M, Roberfroid MB, Van Vliet T, and Van den Heuvel E. Functional food properties of nondigestible oligosaccharides: a consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII-CT94-1095). *Br J Nutr* 1999;81:121-32.
56. Kleessen B, Hartmann L, and Blaut M. Oligofructose and longchain inulin: influence on the gut microbial ecology of rats associated with a human faecal flora. *Br J Nutr* 2001;86:291-300.
57. Langlands SJ, Hopkins MJ, Coleman N, and Cummings JH. Prebiotic carbohydrates modify the mucosa associated microflora of the human large bowel. *Gut* 2004;53:1610-6.
58. Liu SQ. Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. *Int J Food Microbiol* 2003;83:115-31.
59. Tuohy KM, Finlay RK, Wynne AG, and Gibson GR. A human volunteer study on the prebiotic effects of HP-inulin: faecal bacteria enumerated using fluorescent in situ hybridisation (FISH). *Anaerobe* 2001;7:113-8.
60. Tuohy KM, Kolida S, Lustenberger AM, and Gibson GR. The probiotic effects of biscuits containing partially hydrolysed guar gum and fructo-oligosaccharides -a human volunteer study. *Br J Nutr* 2001;86:341-8.

61. Long SS, Swenson RM. Development of anaerobic fecal flora in healthy newborn infants, *J. Pediatr.* 1977;91:298-301.
62. Mikelsaar M, Mändar R. *Development of individual lactic acid microflora in the human microbial ecosystem*, in eds. Salminen S. von Wright A. Lactic Acid Bacteria. New York, Dekker. 1993;237-293.
63. Drasar BS, Barrow PA. *Intestinal Microbiology*, Wokingham: Van Nostrand Reinhold, 1985, p. 80.
64. Lejeune C, Bourrillon A, Boussougant Y, de Paillerets F. Sequential development of intestinal flora in newborn infants: a quantitative differential analysis. *Dev. Pharmacol. Ther.* 1984;7(suppl.1):138-43.
65. Ellis-Pegler RB, Crabtree C, Lambert HP. The faecal flora of children in the United Kingdom. *J Hyg* 1975;75:135-42.
66. Norin KE, Gustafsson BE, Lindblad BS, Midtvedt T. The establishment of some microflora associated biochemical characteristics in feces from children during the first years of life. *Acta Pediatric Scand.* 1985;74:207-12
67. Moore WEC, Holdeman LV. Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese-Hawaiians. *Appl Microbiol* 1974;27:961-79.
68. Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol* 1977;31:107-33.
69. Xu J, Gordon JI. Honor thy symbionts. *Proc Natl Acad Sci* 2003;100:10452-9.
70. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, and Gordon JI. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *PNAS* 2004;101(44):15718-23.
71. Köhler H, McCormick BA, Allan WW. Bacterial-enterocyte crosstalk: cellular mechanisms in health and disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003;36:175-85.
72. Roberfroid MB, Bornet F, Bouley C, Cummings JH. Colonic microflora: nutrition and health. *Nutr Rev* 1995;3:127-30.
73. Noverr MC, Huffnagle GB. Does the microbiota regulate immune responses outside the gut? *Trends Microbiol* 2004;12:562-8.
74. Steer T, Carpenter H, Tuohy K, Gibson GR. Perspectives on the role of the human gut microbiota in health and methods of study. *Nutr Res Rev* 2000;13:229-54.
75. Fumagalli Z, Fusaroli P, Lambertini G, Nesci E, Pasqualino A. (Ed.). *Anatomia Umana* Padova: Piccin Editore; 1978. pag. 653-89.
76. Macfarlane GT, Gibson GR, Cummings JH. Comparison of fermentation reactions in different regions of the human colon. *J Appl Bacteriol* 1992;72:56-62.
77. Englyst HN, Cummings JH. Digestion of polysaccharides of potato in the small intestine of man. *Am. J Clin Nutr* 1987;45:423-31.
78. Specian RD, Neutra MR. Mechanisms of rapid mucus secretion in goblet cells stimulated by acetylcholine. *J Cell Biol* 1980;85:626-40.
79. Kindon H, Pothoulakis C, Thim L, Lynch-Devaney K, Podolsky DK. Trefoil peptide protection of intestinal epithelial barrier function: cooperative interaction with mucin glycoprotein. *Gastroenterology* 1995;109:516-23.
80. Schneider DR, Parker CD. Purification and characterization of the mucinase of *Vibrio cholerae*. *J Infect Dis* 1982;145:474-82.
81. Vallance BA, Chan C, Finlay BB. How non invasive pathogens induce disease: lessons from enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. In: Hecht GA (Ed.) *Microbial Pathogenesis and the Intestinal Epithelial Cell*. Washington DC: American Society for Microbiology Press; 2003. p. 423-37.
82. Hecht GA (Ed.) *Microbial Pathogenesis and the Intestinal Epithelial Cell*. Washington DC: American Society for Microbiology Press; 2003.

83. Ouellette AJ, Bevins CL. Paneth cell defensins and innate immunity of the small bowel. *Inflamm Bowel Dis* 2001;7:43-50.
84. O'Neil DA, Porter EM, Elewaut D, Anderson GM, Eckmann L, Ganz T, Kagnoff MF. Expression and regulation of the human β -defensins hBD1 and hBD2 in intestinal epithelium. *J Immunol* 1999;163:6718-24.
85. Lehrer RI, Ganz T. Cathelicidins: a family of endogenous antimicrobial peptides. *Curr Opin Hematol* 2002;9:18-22.
86. McCormick BA, Parkos CA, Colgan SP, Carnes DK, Madara JL. Apical secretion of a pathogen-elicited epithelial chemoattractant (PEEC) activity in response to surface colonization of intestinal epithelia by *Salmonella typhimurium*. *J Immunol* 1998;160:455-6.
87. Tato CM, Hunter CA. Host-pathogen interactions: subversion and utilization of the NF- κ B pathway during infection. *Infect Immun* 2002;70:3311-7.
88. Medzhitov R and Janeway Jr.C. Innate immune recognition: mechanisms and pathways. *Immunol Rev* 2000;173: 89-97.
89. Cario E, Brown D, McKee M, Lynch-Devaney K, Gerken G, and Podolsky DK. Commensal-associated molecular patterns induce selective toll-like receptor-trafficking from apical membrane to cytoplasmic compartments in polarized intestinal epithelium. *Am J Pathol* 2002;160:165-73.
90. MacDonald TT, Monteleone G. Immunity, inflammation, and allergy in the gut. *Science* 2005;307:1920-5.
91. Medzhitov R, Janeway CA. Decoding the patterns of self and non-self by the innate immune system. *Science* 2002;296:298-300.
92. Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature* 2000;406:782-7.
93. Schwandner R, Dziarski R, Wesche H, Rothe M, Kirschning CJ. Peptidoglycan- and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by Toll-like receptor 2. *J Biol Chem* 1999;274:17406-9.
94. Poltorak A, He X, Smirnova I, Liu MY, Van Huffel C, Du X, Birdwell D, Alejos E, Silva M, Galanos C, Freudenberg M, Ricciardi-Castagnoli P, Layton B, and Beutler B. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science* 1998;282:2085-8.
95. Gewirtz AT, Navas TA, Lyons S, Godowski PJ, Madara JL. Bacterial flagellin activates basolaterally expressed TLR5 to induce epithelial proinflammatory gene expression. *J Immunol* 2001;167:1882-5.
96. Girardin SE, Boneca IG, Carneiro LAM., Antignac A, Jéhanno M, Viala J, Tedin K, Taha MK, Labigne A, Zähringer U, Coyle AJ, DiStefano PS, Bertin J, Sansonetti PJ, and Philpott DJ. Nod1 detects a unique muropeptide from Gram-negative bacterial peptidoglycan. *Science* 2003;300:1584-7.
97. Chamaillard M, Hashimoto M, Horie Y, Masumoto J, Qiu S, Saab L, Ogura Y, Kawasaki A, Fukase K, Kusumoto S, Valvano MA, Foster SJ, Mak TW, Nuñez G, Inohara N. An essential role for Nod1 in host recognition of bacterial peptidoglycan containing diaminopimelic acid. *Nature Immunol* 2003;4:702-7.
98. Girardin SE, Boneca IG, Viala J, Chamaillard M, Labigne A, Thomas G, Philpott DJ, and Sansonetti PJ. Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *J Biol Chem* 2003;278:8869-72.
99. Inohara N, Koseki T, Lin J, Peso L, Lucas PC, Chen FF, Ogura Y, and Nuñez G. An induced proximity model for NF- κ B activation of the Nod1/RICK and RIP signaling pathways. *J Biol Chem* 2000;275:27823-31.
100. Girardin SE, Tournebize R, Mavris M, Page AL, Li X, Stark GR, Bertin J, DiStefano PS, Yaniv M, Sansonetti PJ, Philpott DJ. CARD4/Nod1 mediates NF- κ B and JNK activation by invasive *Shigella flexneri*. *EMBO Rep* 2001;2:736-42.

101. Neutra MR, Sansonetti PJ, Kraehenbuhl JP. M-cells: origin, morphology and role in mucosal immunity and microbial pathogenesis. In: Hecht GA (Ed.) *Microbial Pathogenesis and the Intestinal Epithelial Cell*. Washington DC: American Society for Microbiology Press; 2003. p. 285-300.
102. Owen R. Uptake and transport of intestinal macromolecules and microorganisms by M cells in Peyer's patches - a personal and historical perspective. *Semin Immunol* 1999;11:1-7.
103. Fujimura Y, Hosobe M, Kihara T. Ultrastructural study of M cells from colonic lymphoid nodules obtained by colonoscopic biopsy. *Dig Dis Sci* 1992;37:1089-98.
104. MacPherson AJ, Uhr T. Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science* 2004;303:1662-5.
105. Macpherson AJ, Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nature Rev Immunol* 2004;4:478-85.
106. Lodes MJ, Cong Y, Elson CO, Mohamath R, Landers CJ, Targan SR, Fort M, and Hershberg RM. Bacterial flagellin is a dominant antigen in Crohn disease. *J Clin Invest* 2004;113:1296-306.
107. Rescigno M, Urbano M, Valzasina B, Francolini M, Rotta G, Bonasio R, Granucci F, Kraehenbuhl JP, Ricciardi-Castagnoli P. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nature Immunol* 2001;2:361-7.
108. Rimoldi M, Chieppa M, Salucci V, Avogadri F, Sonzogni A, Sampietro GM. Intestinal Immune homeostasis is regulated by the crosstalk between epithelial cells and dendritic cells. *Nature Immunology* 2005;6(5):507-14.
109. Hooper LV, Gordon JL. Commensal host-bacterial relationship in the gut. *Science* 2001;292:1115-8.
110. Fanaro S, Chierici R, Guerrini P, Vigi V. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Paediatr.* 2003;Suppl 441:48s-55s.
111. Schauer D. Indigenous microflora paving the way for pathogens? *Curr Biol* 1997;7:R75-77.
112. Sansonetti PJ. War and peace at mucosal surfaces. *Nat Rev Immunol* 2004;4:953-64.
113. Henke JM, Bassler BL. Bacterial social engagements. *Trends Cell Biol* 2004;14:648-56.
114. Sansonetti PJ, Phalipon A. M cells as ports of entry for enteroinvasive pathogens: mechanisms of interaction, consequences for the disease process. *Semin Immunol* 1999;11:193-203.
115. Didierlaurent A, Sirard JC, Kraehenbuhl JP, Neutra MR. How the gut senses its content. *Cell Microbiol.* 2002;4: 61-72.
116. Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annu Rev Nutr.* 2002;22: 283-307.
117. Weintraub A, Zahnlinger U, Wollenweber HW, Seydel U, Rietschel E. Structural characterization of the lipid A component of *Bacteroides fragilis* strain NCTC 9343 lipopolysaccharide. *Eur J Biochem.* 1989;183:425-431.
118. Golenbock DT, Hampton RY, Qureshi N, Takayama K, Raetz CR. Lipid A-like molecules that antagonize the effects of endotoxins on human monocytes. *J Biol Chem.* 1991;266:19490-8.
119. Abreu MT, Vora P, Faure E, Thomas LS, Arnold ET, Arditi M. Decreased expression of Toll-like receptor-4 and MD-2 correlates with intestinal epithelial cell protection against dysregulated proinflammatory gene expression in response to bacterial lipopolysaccharide. *J Immunol.* 2001;167(3):1609-16.
120. Hornef MW, Wick MJ, Rhen M, and Normark S. Bacterial strategies for overcoming host innate and adaptive immune responses. *Nat Immunol.* 2002;3:1033-40.
121. Fernandez MI, Pedron T, Tournebise R, Olivo-Marin JC, Sansonetti PJ, Phalipon A. Anti-inflammatory role for intracellular dimeric immunoglobulin a by neutralization of lipopolysaccharide in epithelial cells. *Immunity.* 2003;18:739-49.

122. Janssens S, Burns K, Tschopp R, Beyaert R. Regulation of interleukin-1 and NF- κ B activation by alternative splicing of MyD88. *Curr Biol*. 2002;12:467-71.
123. Kobayashi K, Hernandez LD, Galán JE, Janeway CA Jr, Medzhitov R, Flavell RA. IRAK-M is a negative regulator of Toll-like receptor signalling. *Cell* 2002;110(2):191-202.
124. Su CG, Wen X, Bailey ST, Jiang W, Rangwala SM, Keilbaugh SA, Flanigan A, Murthy S, Lazar MA, and Wu GD. A novel therapy for colitis utilizing PPAR- γ ligands to inhibit the epithelial inflammatory response. *J Clin Invest* 1999;104:383-9.
125. Kelly D., Campbell JI, King TP, Grant G, Jansson EA, Coutts AGP, Pettersson S, Conway S. Commensal anaerobic gut bacteria attenuate inflammation by regulating nuclear-cytoplasmic shuttling of PPAR- γ and RelA. *Nature Immunol* 2003;5:104-12.
126. Duchmann R, Schmitt E, Knolle P, Meyer zum Büschenfelde KH, Neurath M. Tolerance towards resident intestinal flora in mice is abrogated in experimental colitis and restored by treatment with interleukin-10 or antibodies to interleukin-12. *Eur J Immunol* 1996;26:934-8.
127. Chen Y, Inobe J, Kuchroo VK, Baron JL, Janeway Jr. CA, and Weiner HL. Oral tolerance in myelin basic protein T cell receptor transgenic mice: suppression of auto-immune encephalomyelitis and dose-dependent induction of regulatory cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:388-91.
128. MacDonald TM: Breakdown of tolerance to the intestinal bacterial flora in inflammatory bowel disease (IBD). *Clin Exp Immunol* 1995;102:445-7.
129. Frankel G, and Phillips AD. Attaching effacing Escherichia coli and paradigms of Tir-triggered actin polymerization: getting off the pedestal. *Cell Microbiol* 2008;10:549-56.
130. Huang GTJ, Eckmann L, Savidge TC, and Kagnoff MF. Infection of human intestinal epithelial cells with invasive bacteria upregulates apical intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression and neutrophil adhesion. *J Clin Invest* 1996;98:572-83.
131. Kelsall BL, Strober W. Distinct populations of dendritic cells are present in the subepithelial dome and T cell regions of murine Peyer's patches. *J Exp Med* 1996;183:237-47.
132. Ireton K. Entry of the bacterial pathogen Listeria monocytogenes into mammalian cells. *Cell Microbiol* 2007;9:1365-75.
133. Cossart P, and Bierne H. The use of host cell machinery in the pathogenesis of Listeria monocytogenes. *Curr Opin Immunol* 2001;13:96-103.
134. Portnoy DA, Auerbuch V, Glomski IJ. The cell biology of Listeria monocytogenes infection: the intersection of bacterial pathogenesis and cell-mediated immunity. *J Cell Biol* 2002;158:409-14.
135. Monack DM, and Theriot JA. Actin-based motility is sufficient for bacterial membrane protrusion formation and host cell uptake. *Cell Microbiol* 2001;3:633-47.
136. Cornelis GR. The Yersinia Ysc-Yop 'type III' weaponry. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2002;3:742-52.
137. Grassl GA, Bohn E, Müller Y, Bühler OT, Autenrieth IB. Interaction of Yersinia enterocolitica with epithelial cells: invasin beyond invasion. *Int J Med Microbiol* 2003;293:41-54.
138. Holden DW. Trafficking of the Salmonella vacuole in macrophages. *Traffic* 2002;3:161-9.
139. Steele-Mortimer O, Méresse S, Gorvel JP, Toh BH, Finlay BB. Biogenesis of Salmonella typhimurium-containing vacuoles in epithelial cells involves interactions with the early endocytic pathway. *Cell Microbiol* 1999;1:33-49.
140. Amit P, Bhavsar J, Guttman A, Brett Finlay B. Manipulation of host-cell pathways by bacterial pathogens. *Nature* 2007;449:827-34.
141. Monack DM, Hersh D, Ghori N, Bouley D, Zychlinsky A, and Falkow S. Salmonella exploits caspase-1 to colonize Peyer's patches in a murine typhoid model. *J Exp Med* 2000;192:249-58.
142. Zychlinsky A, Thirumalai K, Arondel J, Cantey JR, Aliprantis AO, and Sansonetti PJ. In vivo apoptosis in Shigella flexneri infections. *Infect Immun* 1996;64:5357-65.

143. Raqib R, Ekberg C, Sharkar P, Bardhan PK, Zychlinsky A, Sansonetti PJ, and Andersson J. Apoptosis in acute shigellosis is associated with increased production of Fas/Fas ligand, perforin, caspase-1, and caspase-3, but reduced production of Bcl-2 and interleukin-2. *Infect Immun* 2002;70:3199-207.
144. Zychlinsky A, Prevost MC, Sansonetti PJ. Shigella flexneri induces apoptosis in infected macrophages. *Nature* 1992;358:167-9.
145. Hilbi H, Moss JE, Hersh D, Chen Y, Arondel J, Banerjee S, Flavell RA, Yuan J, Sansonetti PJ, and Zychlinsky A. Shigella-induced apoptosis is dependent on caspase-1 which binds to IpaB. *J Biol Chem* 1998;273:32895-900.
146. Weinrauch Y, Drujan D, Shapiro SD, Weiss J, Zychlinsky A. Neutrophil elastase targets virulence factors of enterobacteria. *Nature* 2002;417:91-4.
147. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, Weinrauch Y, Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004;303:1532-5.
148. Sansonetti PJ. Rupture, invasion and inflammatory destruction of the intestinal barrier by Shigella, making sense of prokaryote-eukaryote cross-talk. *FEMS Microbiol Rev* 2001;25:3-14.
149. Cossart P, Sansonetti PJ. Bacterial invasion: the paradigms of enteroinvasive pathogens. *Science* 2004;304:242-8.
150. Sansonetti PJ, Kopecko DJ, Formal SB. Involvement of a large plasmid in the invasive ability of Shigella flexneri. *Infect Immun* 1982;35: 852-60.
151. Isberg RR. Discrimination between intracellular uptake and surface adhesion of bacterial pathogens. *Science* 1991;252:934-8.
152. Galan JE. Salmonella entry into mammalian cells: different yet converging signal transduction pathways? *Trends Cell Biol* 1994;4:196-9.
153. Cloud J, and Kelly CP. Update on Clostridium difficile associated disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 2007;23:4-9.
154. Fiorentini C, and Thelestam M. Clostridium difficile toxin A and its effects on cells. *Toxicon* 1991;29:543-67.
155. Matarrese P, Falzano L, Fabbri A, Gambardella L, Frank C, Geny B, Popoff MR, Malorni W, and Fiorentini C. Clostridium difficile toxin B causes apoptosis in epithelial cells by thrilling mitochondria. Involvement of ATP-sensitive mitochondrial potassium channels. *J Biol Chem* 2007;282:9029-41.
156. Fiorentini C, Fabbri A, Falzano L, Fattorossi A, Matarrese P, Rivabene R, and Donelli G. Clostridium difficile toxin B induces apoptosis in intestinal cultured cells. *Infect Immun* 1998;66:2660-5.
157. Hoverstad T, Bjorneklett A., Fausa O, and Midtvedt T. Short-chain fatty acid and bacterial overgrowth of the jejunum. *Scand J Gastroenterol* 1984;19(8):1053-8.
158. Weaver GA, Krause JA, Miller TL, and Wolin MJ. Constancy of glucose and starch fermentation by two different human faecal microbial communities. *Gut* 1989;30(1):19-25.
159. Peltonen R, Ling WH, Hänninen O, and Eerola E. An uncooked vegan diet shifts the profile of human fecal microflora: computerized analysis of direct stool sample gas-liquid chromatography profiles of bacterial cellular fatty acids. *Appl Environ Microbiol*. 1992;58(11):3660-6.
160. Siigur U Tamm A. The faecal SCFA and lactose tolerance in lactose malabsorbes. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1991;3:321-4.
161. Siigur U, Narin KE, Allgood G, Schlagheck T, and Midtvedt T. Effect of olestra on faecal water and short-chain fatty acid. *Microb Ecol Health Dis* 1996;9:9-17.

162. Ushima T, and Ozaki Y. Factors influencing potent antagonistic effects of *Escherichia coli* and *Bacteroides ovatus* on *Staphylococcus aureus* in anaerobic continuous flow cultures. *Can J Microbiol* 1988;34:645-50.
163. Barefoot SF, and Nettles CG. Antibiosis revisited: bacteriocins produced by dairy starter cultures. *J Dairy Sci* 1993;76:2366-79.
164. Zheng HY, Alcorn TM, and Cohen MS. Effects of H₂O₂- producing lactobacilli on *Neisseria gonorrhoeae* growth and catalase activity. *J Infect Dis* 1994;170:1209-15.
165. Pedrosa MC, Golner BB, Goldin BR, Barakat S, Dallal GE, and Russel RM. Survival of yogurt-containing organisms and *Lactobacillus gasseri* (ADH) and their effect on bacterial enzyme activity in the gastrointestinal tract of healthy and hypochlorhydric elderly subjects. *Am J Clin Nutr* 1995;61:353-9.
166. MacFarlane GT, Gibson GR, and Cummings JH. Comparison of fermentation reactions in different regions of the human colon. *J Appl Bacteriol* 1992;72:57-64.
167. Gracey M. Gastro-enteritis in Australian children: studies on the aetiology of acute diarrhoea. *Ann Trop Paediatr* 1988;8(2):68-75.
168. Nord CE, Lindmark A and Persson I. Susceptibility of anaerobic bacteria to ALP 201 *Antimicrob Chemother* 1989;33:2137-9.
169. Norhagen G, Engstrom PE, Hammarstrom L, Smith CL, and Nord CE. The microbial flora of saliva and faeces in individuals with selective IgA deficiency and common variable immunodeficiency. *Microb Ecol Health Dis* 1990;3:269-75.
170. Rowland IR. *Gut microflora toxicology and cancer*. In: Proceeding of the Workshop on Colonic Microflora: Nutrition and Health. International Life Science Institute (ILSI) Europe. Barcelona, Spain, 14-16 Sept. 1994. disponibile all'indirizzo: <http://europe.ilsa.org/>; ultima consultazione 8/10/2008.
171. Salminen S, Isolauri E, Onnela T. Gut flora in normal and disordered states. *Chemotherapy* 1995;41(Suppl 1):5-15.
172. Oku T, Tokunaga T, Hosoya H. Nondigestibility of a new sweetener, "Neosugar" in the rat. *J Nutr* 1984;114:1574-81.
173. Ziesenitz S, Siebert G. In vitro assessment of nystose as a sugar substitute. *J Nutr* 1987;117:846-51.
174. Nilsson U, Björk I. Availability of cereal fructans and inulin in the rat intestinal tract. *J Nutr* 1988;118:1482-6.
175. Molis Ch, Flourié B, Ouarne F, Gailing MF, Lartigue S, Guibert A, Bornet F, Galmiche JP. Digestion, excretion and energy value of fructooligosaccharides in health human. *J Am Clin Nutr* 1996;64:324-8.
176. Nilsson U, Öste R, Jägerstad M, Birkhed D. Cereal fructans: in vitro e in vivo studies on a availability in rat and human. *J Nutr* 1988;118:1325-30.
177. Bach Knudsen KE, Hessov I. Recovery of inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus L.*) in the small intestine of men. *Br J Nutr* 1995;74:101-13.
178. Ellegard L, Andersson H, Bosaeus I. Inulin and oligofructose do not influence the absorption of cholesterol, or the excretion of cholesterol, Ca, Mg, Zn, Fe, or bile acids but increases energy excretion in ileostomy subjects. *Eur J Clin Nutr* 1997;51:1-5.
179. Van Loo J, Coussement P, De Leenheer L, Hoebregs H, Mits G. On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the Western diet. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1995;35:525-52.
180. Roberfroid MB, Delzenne N. Dietary fructans. *Ann Rev Nutr* 1998;18:117-43.
181. Hidaka H Tashiro Y, Eida T. Proliferation of bifidobacteria by oligosaccharides and their useful effect on human health. *Bifidobacteria Microflora* 1991;10:65-79.

182. Wang X, and Gibson GR. Effect of in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. *J Appl Bact.* 1993;75:373-80.
183. Gibson GR, Wang X. Enrichment of bifidobacteria from human gut contents by oligofructose using continuous culture. *FEMS Microbiol Lett* 1994;118:121-8.
184. Gibson GR, Wang X. Inibitory effect of bifidobacteria on the other colonic bacteria. *J Appl Bacteriol* 1994;65:103-11.
185. Saito Y, Takano T, Rowland I. Effects of soybean oligosaccharides on the human gut microflora in the vitro culture. *Microb Ecol Health Dis* 1992;5:105-10.
186. Campbell JM, Fahey GC, Wolf BW. Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, ph and microflora in rats. *J Nutr* 1997;127:130-6.
187. Gibson GR, Beatty ER, Wang X, Cummings JH. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology* 1995;108:975-82.
188. O'Keefe SJD. Nutrition and colonic health: the critical role of the microbiota. *Curr Op Gastroenterol* 2008;24:51-8.
189. Nagengast FM, Grubben MJ, Van Munster IP. Role of the bile acids in colorectal cancerogenesis. *Eur J Cancer* 1995;31a:1067-70.

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.
Le richieste possono essere inviate a: pubblicazioni@iss.it.*

*Stampato da Tipografia Facciotti srl
Vicolo Pian Due Torri 74, 00146 Roma*

Roma, ottobre-dicembre 2008 (n. 4) 2° Suppl.