



LABORATORIO CERTIFICATO
IN QUALITÀ ISO 9001:2008

NOME

Nome Cognome

CENTRO AUTORIZZATO

Centro Prova

INTEST FLORA +

ANALISI FUNGHI E LIEVITI + INDACANO E SCATOLO



Diagnostica Spire s.r.l.

Sede Operativa - Via Fermi, 63/F 42123 Reggio Emilia

tel: 0522.767130 - fax: 0522.1697377 - www.diagnosticaspire.it - info@diagnosticaspire.it

I N D I C E

Premessa	pag. 3
Il test	pag. 4
Perché eseguire il test	pagg. 5 - 6
Interpretazione dei risultati	
Risultati	pag. 7
La ripetizione del test	
Reattività immunomediata ai microrganismi	pagg. 8 - 11
Indacano e scatolo	pag. 12
Come gestire i risultati del test	pag. 13
Bibliografia	pagg. 14 - 15

Quod ali cibus est aliis fuat acre venenum.
Quello che è cibo per un uomo è veleno per un altro.
(Tito Lucrezio Caro)

PREMESSA

Forse può sorprendere il fatto che uno degli ecosistemi più complessi in natura viva all'interno di ognuno di noi: a livello dell'apparato gastrointestinale convive, infatti, una popolazione composta da diversi miliardi di microrganismi, soprattutto **batteri**, ma anche **funghi** e **lieviti**, il cui peso può raggiungere e superare il chilogrammo in un organismo adulto. La mole crescente di ricerche e di lavori clinici effettuati negli ultimi decenni hanno ampliato le conoscenze sulle funzioni dell'intestino allargando l'attenzione, in particolare, alla microflora intestinale, le cui dimensioni ed attività ne fanno un vero e proprio organo metabolicamente attivo, molto importante per la salute del nostro organismo. La flora intestinale fisiologica convive in simbiosi con l'organismo che la ospita, instaurando, con un beneficio reciproco, una condizione di eubiosi, ovvero uno stato di equilibrio fondamentale per garantire il buon funzionamento di tutto l'organismo.

I problemi insorgono quando l'equilibrio tra il nostro corpo e la microflora si altera: tale squilibrio, definito "disbiosi", ha infatti profonde ripercussioni a livello sistemico.

FUNGHI E LIEVITI

Il nostro organismo viene quotidianamente in contatto con un'ampia gamma di microrganismi, diffusi nell'ambiente che ci circonda o veicolati attraverso l'alimentazione. Varie tipologie di miceti sono comunemente impiegati nel settore alimentare e risultano fondamentali in differenti processi produttivi, come nel caso di alcune tipologie di formaggi o insaccati. Svolgono un ruolo fondamentale nella fase di maturazione del prodotto, intervenendo come regolatori del grado di umidità e di acidità, influenzando così notevolmente sulla formazione del suo gusto finale. Esistono, però, anche molte specie di funghi o muffe che hanno effetti nocivi sulla nostra salute, deteriorando e alterando la "salubrità" di tanti prodotti di origine animale e vegetale. Altri sono in grado di produrre tossine che costituiscono un rischio per chi ingerisce gli alimenti contaminati. Le condizioni necessarie allo sviluppo di questi microrganismi sono generalmente rappresentate da un ambiente acido e da un'elevata concentrazione di zuccheri, associate spesso ad una mal conservazione dei prodotti.

Quando la funzionalità di barriera del nostro intestino risulta deficitaria, frammenti antigenici di miceti introdotti dall'esterno con la dieta o normalmente residenti, possono acquisire la capacità di stimolare il nostro sistema immunitario.

MICROBIOTA INTESTINALE

Il microbiota intestinale, formato da una pluralità di nicchie ecologiche, ospita una popolazione batterica estremamente varia. È a stretto contatto con la mucosa intestinale che costituisce, dopo quella respiratoria, la più grande superficie libera del nostro organismo. Il microbiota e la mucosa, insieme al muco, formano la cosiddetta barriera mucosale, importante sistema di difesa nei confronti dei fattori potenzialmente immunogenici o patogeni presenti nel lume. Oltre a questa funzione protettiva, la flora batterica intestinale svolge numerose altre funzioni, da cui si evince la sua importanza:

- abbattimento dei polisaccaridi, zuccheri complessi che resistono all'azione dei succhi gastrici dello stomaco;
- decomposizione delle nitrosamine, sostanze potenzialmente cancerogene;
- controllo del pH intestinale;
- contributo alla sintesi di alcuni complessi vitaminici: B e K;
- mantenimento del volume e trofismo dell'intestino;
- normalizzazione della peristalsi dell'intestino;
- modulazione del sistema immunitario.

Il mantenimento dell'ecosistema intestinale è basato sull'integrità e sulla collaborazione stabile tra la microflora, il sistema immunitario e la barriera costituita dalla mucosa intestinale: qualsiasi evento che intervenga ad alterare queste componenti crea uno squilibrio che va prontamente recuperato.

Fattori dell'alterazione della microflora intestinale che contribuiscono a generare questo squilibrio possono essere:

- cause alimentari: come reazioni avverse in atto, diete scorrette, eccesso di conservanti e coloranti nella dieta, consumo frequente di alimenti raffinati;
- cause iatrogene: come abuso di farmaci (ad esempio antibiotici o antiacidi), interventi chirurgici, terapia radiante;
- cause patogene: come infezioni intestinali, diarrea, stipsi;
- cause psicogene: come stati protratti di stress ed ansia;
- cause ambientali: come contaminazione da metalli pesanti o sostanze tossiche in genere.

IL TEST

INTEST FLORA + si divide in 2 principali finestre di analisi: consente, cioè, di percorrere 2 strade utili al fine di valutare il rapporto che l'organismo del paziente ha con il proprio microbiota.

Una parte dell'analisi consente di individuare l'eventuale presenza di immunoglobuline di classe G nel siero del paziente specifiche per determinate frazioni microbiche (immunoglobuline generate dalla reazione leucocitaria avvenuta a livello della barriera intestinale verso antigeni di natura fungina), la seconda parte di analisi è relativa all'identificazione della natura dell'eventuale disbiosi in atto.

Tramite campione ematico si valuta:

La reattività immunomediata verso 12 microrganismi, valutando la presenza nel siero di **IgG specifiche per frazioni microbiche ad azione immunogenica:**

1. *Aspergillus niger*
2. *Aspergillus fumigatus*
3. *Penicillium notatum*
4. *Penicillium mix*
5. *Mucor racemosus*
6. *Mucor mix*
7. *Rhizopus nigricans*
8. *Lievito naturale*
9. *Saccharomyces cerevisiae*
10. *Saccharomyces pastorianus*
11. *Candida albicans*
12. *Botrytis cinerea*

Tramite campione di urine valuta:

Il livello di 2 metaboliti

INDACANO E SCATOLO

Queste 2 molecole sono originate dal metabolismo del triptofano ed il loro livello è in grado di fornire informazioni fondamentali sulla **natura dell'eventuale disbiosi in corso.**

La diagnosi di risposta IgG-mediata verso microrganismi consiste nel dosaggio dei livelli anticorpali mediante metodica E.L.I.S.A. (Enzyme-Linked ImmuniSorbent Assay) su supporti su cui sono stati fatti adsorbire precedentemente estratti antigenici di specifici ceppi fungini. Questa tecnica si basa sull'utilizzo di anticorpi secondari marcati con un enzima: il riconoscimento dell'antigene da parte dell'eventuale anticorpo presente nel siero del paziente forma un complesso stabile, complesso che a sua volta viene riconosciuto dall'anticorpo secondario marcato. Attraverso l'aggiunta di un opportuno substrato in grado di reagire con l'enzima si ottiene una colorazione facilmente quantificabile. La metodica E.L.I.S.A. rappresenta al giorno d'oggi la soluzione qualitativamente più valida, con la garanzia di ottenere ottimi risultati in termini di sensibilità e ripetibilità.

Il dosaggio urinario dei 2 markers, Indacano e Scatolo, è effettuato tramite analisi cromatografica mediante HPLC con rivelatore a fluorescenza, indagine che permette la quantificazione di concentrazioni anche molto ridotte dei due metaboliti in modo efficiente e selettivo.

PERCHÉ ESEGUIRE IL TEST

Se l'intestino è disbiotico, cioè ha una carenza quantitativa o uno squilibrio qualitativo di microrganismi enterici (tenendo conto delle numerosissime funzioni della flora batterica intestinale) è sicuramente un intestino con delle difficoltà.

Il soggetto con un intestino disbiotico:

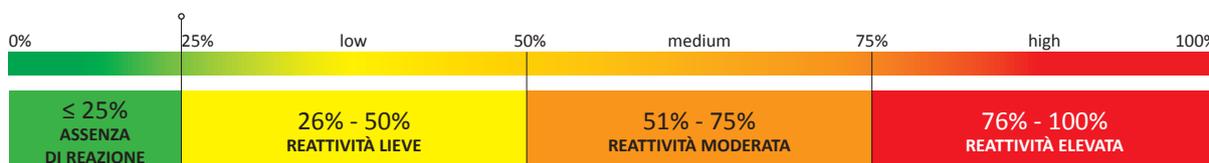
- spesso non digerisce bene (la flora batterica produce enzimi digestivi)
- si ammala facilmente a causa di un indebolimento del sistema immunitario
- può vedere ripresentarsi in modo ricorrente infezioni quali cistiti o candidosi
- si sente spesso stanco e senza energia
- soffre di stitichezza o di diarree frequenti
- lamenta meteorismo o aerofagia.

Altri campanelli d'allarme possono essere:

- acne
- psoriasi
- alitosi
- dolori addominali
- colon irritabile
- cefalea
- foruncolosi
- dermatite
- ansia o sbalzi d'umore.

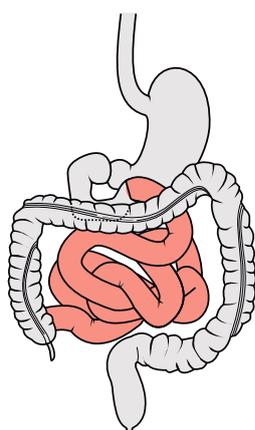
INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

L'esito del test per la reattività a funghi, muffe e lieviti è riportato in una tabella in cui sono evidenziati i propri valori di reattività: le percentuali, da intendersi come grado di reazione avversa IgG-mediata, sono corredate di istogramma con dimensioni e colore relativi al livello di intensità. La reazione positiva al test viene valutata in grado percentuale, dal 26% al 100%. I valori compresi fra 5% e 25%, comunque evidenziati nel referto, non sono da considerarsi positivi.



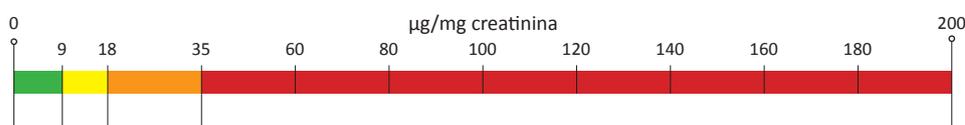
INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI: INDACANO E SCATOLO

I valori di indacano e scatolo sono espressi in $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina. Sono stati individuati 4 range che corrispondono a diversi gradi di disbiosi: una condizione fisiologica, ovvero uno stato di normalità, e in ordine crescente uno stato di disbiosi lieve, moderato, fino a valori maggiori che denotano una condizione severa di squilibrio.



INDACANO POSITIVO

È indicativo di una disbiosi fermentativa localizzata nell'**intestino tenue**.

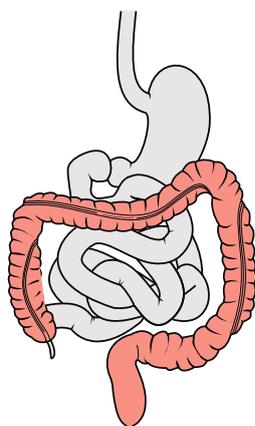


😊 0-9 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina: valore fisiologico

😞 19-35 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina: disbiosi moderata

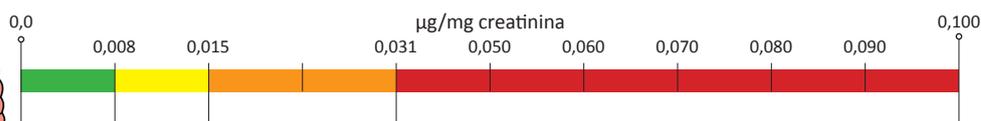
😐 10-18 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina: disbiosi lieve

😡 > 36 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina: disbiosi severa



SCATOLO POSITIVO

È indicativo di una disbiosi putrefattiva localizzata nell'**intestino crasso**.



😊 0-0,008 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina: valore fisiologico

😞 0,016-0,031 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina: disbiosi moderata

😐 0,009-0,015 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina: disbiosi lieve

😡 >0,032 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina: disbiosi severa


MICROGANISMI

Aspergillus niger	21%
Aspergillus fumigatus	18%
Penicillium notatum	89%
Penicillium mix	82%
Mucor racemosus	1%
Mucor mix	0%
Rhizopus nigricans	43%
Lievito naturale	11%
Sacch. cerevisiae	18%
Sacch. pastorianus	6%
Candida albicans	75%
Botrytis cinerea	23%

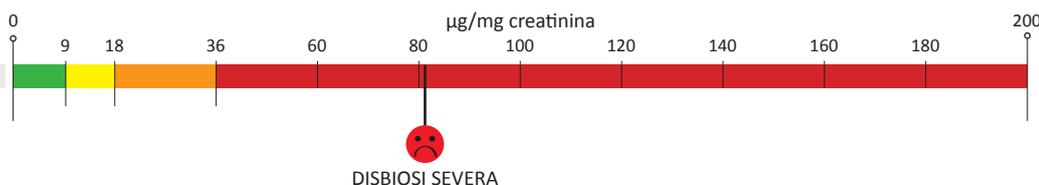
[METODO COLORIMETRICO ENZIMATICO]

 Creatinina
 85,0 mg/dl

INDACANO

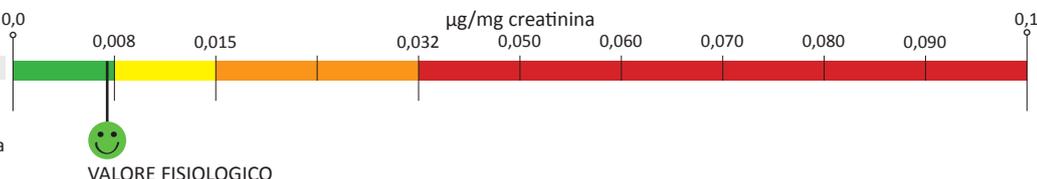
[METODO CROMATOGRAFICO IN FLUORESCENZA]

Indacano 84.7 µg/mg c.

 0-9 µg/mg c.: valore fisiologico
 10-18 µg/mg c.: disbiosi lieve
 19-35 µg/mg c.: disbiosi moderata
 > 36 µg/mg c.: disbiosi severa

SCATOLO

[METODO CROMATOGRAFICO IN FLUORESCENZA]

Scatolo 0.006 µg/mg c.

 0-0,008 µg/mg c.: valore fisiologico
 0,009-0,015 µg/mg c.: disbiosi lieve
 0,016-0,031 µg/mg c.: disbiosi moderata
 >0,032 µg/mg c.: disbiosi severa


I valori di riferimento di indacano e scatolo sono soggetti a periodiche revisioni. Le variazioni di tali limiti riflettono il costante aggiornamento della letteratura scientifica.

La creatinina è un catabolita, cioè un prodotto di scarto, sintetizzato dall'organismo nei processi metabolici della creatina. La fosfocreatina, presente per la maggior parte nei muscoli scheletrici e nel muscolo cardiaco (in misura minore nel cervello, nel fegato e nei reni), costituisce per questi tessuti un deposito di energia immediatamente utilizzabile. Durante le reazioni energetiche che coinvolgono la creatina, una piccola quota di questo amminoacido viene convertita in creatinina, filtrata dai reni ed eliminata con le urine, senza la possibilità di essere riassorbita a livello tubulare.

Per ogni individuo, in condizioni di buono stato di salute, il ritmo di produzione giornaliero della creatinina è pressoché costante. La quota di creatinina escreta, tuttavia, è legata a fattori quali l'età, il sesso, il peso e la massa muscolare. Rapportare i valori di indacano e scatolo al valore di creatinina rilevato nelle urine permette di normalizzare i dati da un punto di vista quantitativo, riducendo il peso di fattori che potrebbero incidere sul risultato, come ad esempio la diluizione delle urine stesse.

I risultati devono necessariamente essere valutati dal medico o professionista del settore. L'utilizzo di tali risultati, al fine di formulare una corretta valutazione, deve essere inserito in un contesto medico che consideri in modo più ampio lo stato di salute del paziente, le sue abitudini alimentari e l'eventuale percorso terapeutico in atto.

LA RIPETIZIONE DEL TEST

Dopo aver eseguito il test, in caso di uno o più risultati positivi, si consiglia la ripetizione dopo 90 giorni, periodo nel quale il paziente avrà potuto rivolgersi a un medico o in generale ad uno specialista del settore, che possa aver prescritto una terapia o programmato un piano nutrizionale destinato a migliorare le condizioni fisiologiche e metaboliche del paziente stesso. Si ricordi che questo test ed i relativi risultati non sono una diagnosi fine a se stessa, bensì uno strumento che deve essere messo nelle mani di medici e professionisti del settore, al fine di utilizzarli anche in combinazione con altri eventuali esami clinici/diagnostici, con lo scopo di elaborare un solido piano di trattamenti che portino alla soluzione dei disturbi del paziente in esame.

Diagnostica Spire s.r.l.

Sede Legale - Viale del Lavoro, 6 47838 Riccione (RN)

Sede Operativa - Via Fermi, 63/F 42123 Reggio Emilia

tel: 0522.767130 - fax: 0522.1697377

www.diagnosticaspire.it - info@diagnosticaspire.it

RESPONSABILE TECNICO DI LABORATORIO

Laboratorio Analisi

SPIRE

Aut. 163 del 2015

Direttore Responsabile Laboratorio

Dott.ssa Pamela Paolani

Iscr. Albo n. AA 074850

REATTIVITÀ IMMUNOMEDIATA AI MICRORGANISMI

Da un punto di vista fisiologico, il punto focale della risposta immunomediata verso i microrganismi va ricercato a livello dell'apparato digerente. Oltre alla basilare funzione digestiva, l'apparato digerente svolge una funzione di barriera fondamentale. L'intestino funziona come una porta d'ingresso per una vasta gamma di antigeni estranei assunti dall'individuo dall'ambiente esterno, soprattutto tramite la dieta. Il sistema immunitario, da una parte deve impedire una risposta forte contro gli antigeni tipici dei microrganismi naturalmente presenti all'interno dell'organismo, e dall'altra deve riconoscere ed eliminare i patogeni in grado di entrare attraverso l'intestino. L'equilibrio di tutti i fattori che entrano in gioco in questo effetto barriera è di vitale importanza.

In determinate condizioni questo effetto barriera viene a mancare e gli antigeni caratteristici delle superfici cellulari di tali microrganismi, normalmente percepiti come innocui dall'organismo, permeano fino ai capillari dei villi intestinali e, una volta in circolo, attivano una risposta infiammatoria, sia locale che generalizzata.

L'accumulo progressivo di immunoglobuline di classe G specifiche verso determinati antigeni porta gradualmente allo sviluppo della sintomatologia. L'insorgenza dei sintomi necessita di un tempo di latenza che corrisponde all'accumulo in circolo degli immunocomplessi antigene micotico-anticorpo specifico (IgG), fino al superamento del livello soglia, esattamente come fosse una sorta di intossicazione.



ASPERGILLI

Questo genere di miceti viene spesso utilizzato per la produzione di acido citrico a livello industriale, attraverso processi fermentativi che hanno via via sostituito il processo di estrazione di questo composto dagli agrumi. L'acido citrico così ottenuto viene utilizzato come:

- aromatizzante, acidificante ed antiossidante in tantissimi prodotti dell'industria alimentare;
- conservante ed aromatizzante nell'industria farmaceutica;
- additivo in alcuni detersivi in sostituzione dei fosfati.

Da questa premessa si può intuire facilmente che nei casi di positività (con valori superiori al 25%), è necessario evitare l'assunzione di cibi o sostanze in cui sia presente acido citrico di produzione industriale.

Alcune muffe del genere *Aspergillus* sono abbondanti nel materiale organico in decomposizione e per questo è consigliabile una pulizia del frigorifero accurata e periodica, o l'utilizzo di deumidificatori (in ambienti particolarmente umidi), al fine di mantenere l'umidità al di sotto del 50%. È bene lavare adeguatamente gli alimenti sospetti con aceto o bicarbonato e mantenere la frutta e la verdura in frigorifero separate dagli altri alimenti, al fine di evitare il rischio di una loro diretta contaminazione.

Una particolare specie di *Aspergillus* (*A. niger*) può essere rinvenuta in alimenti come semi, frutta secca, spezie, se in cattivo stato di conservazione. Per questo motivo è sempre valido il consiglio di non consumare alimenti nel caso in cui presentino alterazioni del colore o tracce di muffa sulla superficie.

Il più comune di questo genere è *Aspergillus fumigatus*, che può essere presente nel fieno, nel grano e nelle feci avicole. Essendo fortemente aerobico cresce in quasi tutti gli ambienti ricchi di ossigeno, con preferenza per i vegetali ricchi in amido.



PENICILLI

Il genere di muffe che va sotto il nome di *Penicillium* è ben noto fin dagli inizi del secolo scorso. Una delle specie più note appartenenti a questa famiglia di miceti è il *Penicillium notatum*, utilizzato nella preparazione delle penicilline e di antibiotici a largo spettro contro le infezioni causate da batteri Gram-positivi.

Come “contaminante” può trovarsi su agrumi o altri vegetali, in particolar modo sul pomodoro e sulle superfici degli insaccati.

Per questa sua nota diffusione è bene lavare adeguatamente gli alimenti sospetti con amuchina o bicarbonato, in quanto il semplice lavaggio in acqua corrente non è in grado di eliminare completamente questa muffa. È inoltre necessario che la frutta e la verdura siano mantenute in frigorifero separate dagli altri alimenti, al fine di evitare il rischio di una loro diretta contaminazione.

Alcune specie di questa muffa vengono appositamente utilizzate, in campo alimentare, nelle fasi di produzione di diversi formaggi, tra cui il camembert, il brie, il gorgonzola e il roquefort.



MUCOR

Il *Mucor* è un genere di muffe rinvenute comunemente sulla superficie del suolo o delle piante, nei vegetali in decomposizione o nei prodotti da forno non correttamente conservati (la tipica muffa del pane).

I consigli sono analoghi a quelli precedentemente proposti: è bene lavare adeguatamente gli alimenti sospetti con amuchina o bicarbonato, in quanto il semplice lavaggio in acqua corrente non è sufficiente, ed è necessario che la frutta e la verdura siano mantenute in frigorifero separate dagli altri alimenti, al fine di evitare il rischio di una loro diretta contaminazione.

Alcune specie sono in grado di sopravvivere anche a condizioni estreme, come, ad esempio, una temperatura di 310 °C, rendendole ospiti ostici da eliminare.

Una delle specie più diffuse è costituita dal *Mucor racemosus*, presente tipicamente sui prodotti di origine vegetale.

Altre specie, invece, si sono rivelate utili nella produzione di formaggi e trovano applicazione nell'industria casearia.



RHIZOPUS

Il genere *Rhizopus*, ed in particolare la specie *Rhizopus nigricans*, è un genere di fungo comunemente noto come muffa del pane. I substrati su cui è solito crescere sono infatti vecchie derrate alimentari mal conservate, terreni con composti biologici in decomposizione (foglie cadute, aghi di pino, ecc.), fragole conservate a freddo, frutta umida o bagnata, ed anche escrementi di volatili selvatici.

Esiste il rilevante rischio di contatto con questo fungo soprattutto per coloro che, per motivi professionali, sono esposti al contatto con derrate alimentari (es. fragole, pesche, ciliegie, mais ed arachidi) stoccate in magazzini o movimentate durante le fasi di vendita.

Esso è responsabile di infezioni opportunistiche e reazioni di ipersensibilità, come sintomi di asma e polmonite da ipersensibilità in soggetti sensibilizzati, ed è un importante allergene assunto attraverso le vie respiratorie.



SACCHAROMYCES E LIEVITO NATURALE

I *Saccharomyces* comprendono per lo più vari tipi di lieviti, organismi unicellulari appartenenti al regno dei funghi, comprendenti i microrganismi responsabili del tipo più comune di fermentazione.

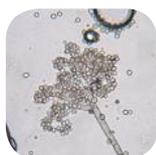
Essi sono infatti utilizzati in campo alimentare fin dall'antichità: basti pensare all'origine della produzione del vino e della birra, prodotti che derivano dall'azione fermentativa di alcuni noti tipi di lieviti. Questa diffusione e questo ampio utilizzo li ha resi estremamente importanti anche in ambito scientifico, tanto da essere divenuti i microrganismi eucarioti più intensamente studiati in tutta la biologia cellulare e molecolare, rendendoli un vero e proprio modello biologico.

Uno dei lieviti più diffusi ed utilizzati in campo alimentare è sicuramente il *Saccharomyces cerevisiae*, noto anche come lievito di birra, responsabile della fermentazione alcolica che porta proprio alla produzione di vino e birra, ma anche utilizzato in altri processi molto comuni, quali ad esempio la lievitazione del pane e di altri prodotti da forno.

Il lievito chiamato *Saccharomyces pastorianus*, in grado di svolgere i propri processi anche a basse temperature, viene usato comunemente nella produzione di birre di tipo lager.

Un altro prodotto molto comune, strettamente legato ai *Saccharomyces*, è il lievito naturale, chiamato anche comunemente "pasta madre", "lievito acido", "lievito madre" o "crescente". Esso consiste in un impasto di farina ed acqua, acidificato da un complesso di lieviti e batteri lattici (tra cui il ceppo del lievito di birra, anche se in quantità minore, motivo per cui una reattività al lievito di birra non sempre si accompagna ad una reattività al lievito naturale e viceversa), in grado di avviare la fermentazione degli impasti per prodotti della panetteria e della pasticceria. A causa dei tempi di lavorazione più lunghi, gli enzimi che partecipano al processo di lievitazione lo rendono più sano e digeribile, aumentandone al tempo stesso la durata di conservazione.

Non è accertato come i lieviti possano causare o peggiorare le infezioni da *Candida albicans*, ma è bene evitare i lieviti in presenza di funghi e muffe.



BOTRYTIS CINEREA

La *Botrytis cinerea* è un fungo parassita di molte piante, capace di adattarsi a parecchi tipi di ambienti: per questi motivi, molto spesso, è difficile controllarlo. Arreca i danni maggiori ai grappoli d'uva, ma anche a molti altri vegetali, come le fragole facilmente colpite da questo microrganismo. Il fungo attacca preferibilmente vegetali maturi, in quanto le parti colpite sono ricche di sostanze nutritive e zuccherine. Le zone attaccate si presentano imbrunite e vengono colte da un marciume molle sul quale, in seguito, emerge una "muffa grigia", proprio simile ad uno strato di cenere (da cui il nome del fungo stesso).

Per le uve da vino, ad esempio, il danno arrecato è sia quantitativo che qualitativo: il primo perché la *Botrytis cinerea* è molto virulenta e colpisce molti acini, il secondo perché il fungo contamina anche il vino che, per questo, risulterà di qualità scadente. Per le uve da tavola, invece, il danno si nota immediatamente in quanto l'aspetto estetico dell'uva viene rovinato, rendendola non commestibile.

La *Botrytis cinerea* viene, tuttavia, impiegata anche in campo agronomico ed industriale in quanto consente la concentrazione degli zuccheri negli acini d'uva. Proprio questi acini saranno impiegati per la produzione di vini dolci come il passito. Grazie alla sua capacità di implementare la qualità di alcune produzioni, la *Botrytis* viene definita anche "muffa nobile".



CANDIDA ALBICANS

La *Candida albicans* è un fungo appartenente alla famiglia dei Saccaromiceti. Normalmente si trova nel cavo orale, nel tratto gastrointestinale, nella vagina e solitamente ciò non comporta alcun rischio per le persone sane.

In condizioni fisiologiche la Candida vive nell'organismo come commensale saprofito nutrendosi, a livello intestinale, principalmente di zuccheri, senza danno per l'organismo umano, anche in considerazione del fatto che la sua crescita è tenuta sotto controllo dalla flora microbica intestinale e dal sistema immunitario.

In determinate condizioni (stress, diabete, abuso di alcolici, forte uso di antibiotici, squilibrio della flora microbica intestinale, diete errate, ecc.) la Candida, tuttavia, è in grado di proliferare eccessivamente, essendo uno dei principali opportunisti intestinali. In concomitanza di una parziale perdita dell'effetto barriera della mucosa intestinale, gli antigeni caratteristici della superficie cellulare di tale microrganismo possono raggiungere i capillari dei villi intestinali e, una volta in circolo, causano la stimolazione del sistema immunitario (da qui il risultato positivo al test).

L'eccessiva proliferazione della Candida può determinare una maggiore suscettibilità ad allergie e dolori reumatici, ma anche danni alla barriera intestinale, con conseguente alterazione della flora batterica a causa della competizione nell'utilizzo dei nutrienti. Quest'azione porta ad un aumento della permeabilità intestinale e di conseguenza un aumento nella probabilità di sviluppare reazioni avverse agli alimenti. In particolare, con il consumo di alimenti contenenti carboidrati si possono instaurare processi fermentativi in grado di produrre gas e dolori addominali. Risulta dunque evidente come la Candida possa rappresentare un importante attacco al sistema immunitario, aprendo la via a molte forme patologiche.

Nel caso in cui si sia in presenza di una reattività alla Candida, è necessario seguire alcuni accorgimenti nutrizionali, riducendo i seguenti cibi, in modo tale da limitarne la diffusione:

- prodotti lievitati con qualunque tipologia di lievito;
- prodotti a base di farina di frumento, soprattutto raffinata (pane, pizza, cracker, torte, biscotti, ecc.);
- latte, latticini, latte di soia, latte di mandorle, latte di riso, ecc.;
- gelati, dessert e dolci di tutti i tipi;
- cibi in scatola o comunque conservati;
- succhi di frutta in scatola o in lattina.

Riflettendo inoltre sulle funzioni dell'intestino e della pelle si capisce bene come la Candida possa provocare reazioni avverse agli alimenti, e, a causa della stretta relazione tra intestino, sistema immunitario, sistema endocrino e sistema nervoso, giungere a sviluppare sintomi quali depressione, sindrome premestruale, alopecia, insonnia, impotenza, patologie digestive, allergie, dermatiti, diabete, malattie autoimmuni, ecc.

INDACANO E SCATOLO

La seconda finestra di analisi del test consente di avere un dato importante sulla natura dell'eventuale disbiosi in atto.

Si è già definito il termine "disbiosi" come uno squilibrio qualitativo/quantitativo di specie microbiche che sovvertono il normale equilibrio della flora intestinale, ma per fare maggiore chiarezza in merito è bene soffermarsi sulla definizione delle caratteristiche delle due principali forme di disbiosi alle quali può andare incontro il nostro organismo, ovvero:

- LA DISBIOSI FERMENTATIVA
- LA DISBIOSI PUTREFATTIVA

La **DISBIOSI FERMENTATIVA** è strettamente legata all'alterazione di una via metabolica (la fermentazione), attraverso la quale buona parte delle specie del microbiota intestinale ottiene l'energia necessaria alla propria sopravvivenza. Si tratta di una disbiosi causata da microrganismi saccarolitici che proliferano eccessivamente a livello dell'intestino tenue, sostenuti da una dieta eccessivamente ricca di zuccheri semplici e carboidrati raffinati. Il quadro di questo squilibrio può essere ulteriormente complicato dall'iperproliferazione della Candida. I sintomi della disbiosi fermentativa annoverano gonfiore addominale e dolori di tipo colitico causati dallo sviluppo di gas, flatulenza, alternanza di diarrea e stipsi, malessere generale e feci a carattere acido. Nonostante le fibre siano da ritenere generalmente benefiche, nei soggetti con disbiosi fermentativa si nota un peggioramento dei sintomi quando assumono fibre fermentabili (c.d. "FODMaP"). Può quindi essere consigliato limitare per un periodo l'assunzione di fibre fermentabili e ridurre nel contempo il consumo di zuccheri semplici e alimenti raffinati e integrando in modo graduale la flora microbica privilegiando probiotici contenenti lactobacilli.

Se la dieta risulta, invece, particolarmente ricca di grassi e proteine animali e scarsa di fibre si può ricadere nel quadro della **DISBIOSI PUTREFATTIVA**. Questo tipo di disbiosi è sostenuta dall'alterazione della componente batterica di tipo proteolitico che tende a proliferare in modo eccessivo a livello dell'intestino crasso (colon discendente). È importante intervenire rapidamente per correggere questo tipo di disbiosi per evitare l'accumulo di metaboliti batterici potenzialmente tossici. I sintomi tipici annoverano problemi quali feci e gas intestinali particolarmente maleodoranti, stipsi, foruncolosi, alitosi, cefalea, malessere, stanchezza cronica, congestione epatica, insonnia, cardiopatie. La risoluzione di questi sintomi implica necessariamente la riduzione dell'apporto di proteine animali e l'incremento dell'apporto di fibre che favoriscono la peristalsi, quindi l'igiene intestinale. Probiotici contenenti bifidobatteri sono ritenuti efficaci nel contrastare l'iperproliferazione della flora batterica responsabile dei fenomeni putrefattivi, favorendo l'eliminazione dei metaboliti, la formazione di gas e stimolando il sistema immunitario.

Due parametri, valutati nell'INTEST FLORA +, possono essere analizzati per indicare se si è in presenza di disbiosi fermentativa o di disbiosi putrefattiva: questa è un'informazione fondamentale per decidere quale percorso terapeutico sarà opportuno seguire. Non conoscendo a priori la natura della disbiosi, ad esempio, l'assunzione non mirata di fermenti lattici o di fibre potrebbe andare a peggiorare ulteriormente il quadro clinico del paziente. Tali parametri sono ottenuti attraverso la misurazione di indacano e scatolo, rilevati in un campione di urina: questi metaboliti derivano dai processi microbici di trasformazione di uno specifico aminoacido assunto con la nostra dieta, il triptofano.

Ne deriva che una percentuale elevata di indacano è in grado di esprimere la presenza di una disbiosi fermentativa a carico dell'intestino tenue. Viceversa, un alto valore di scatolo segnala la presenza di una disbiosi di tipo putrefattivo a carico dell'intestino crasso.

COME GESTIRE I RISULTATI DEL TEST

I risultati del test consentono di affrontare la problematica di una eventuale disbiosi da più fronti.

È sicuramente importante porre attenzione alle norme igieniche di pulizia degli alimenti (ad esempio lavaggio con aceto o bicarbonato) e degli spazi in cui vengono conservati (ad esempio pulizia del frigorifero per evitare ristagni di liquidi nei cassetti per le verdure, adeguata sistemazione della dispensa per evitare che i cibi risultino troppo accatastati). Come norma generale, occorre ricordarsi di richiudere correttamente i contenitori o le confezioni degli alimenti e non conservarli in ambienti eccessivamente umidi.

In base alle positività e ai valori riscontrati è possibile stabilire una strategia nutrizionale adeguata e un'integrazione mirata (a seconda del tratto intestinale maggiormente colpito).

La finalità cui questi approcci tendono è essenzialmente quella di ripristinare l'integrità funzionale dell'intestino.

STRATEGIA NUTRIZIONALE

La corretta alimentazione deve mirare a ripristinare la flora microbica cercando di non affaticare l'intestino, per cui in generale è consigliabile: fare pasti leggeri e frequenti, bere molti liquidi, non associare cibi diversi durante lo stesso pasto come carboidrati e proteine, evitare l'assunzione eccessiva di carne grassa, fritti, intingoli e salse. La possibilità di distinguere fra disbiosi fermentativa o putrefattiva con l'esito del test permette di rendere più mirata la strategia nutrizionale. L'eventuale presenza di specifiche immunoglobuline di classe G nel siero del paziente, immunoglobuline generate dalla reazione leucocitaria avvenuta a livello della barriera intestinale verso antigeni di natura fungina, permette di affinare ulteriormente la strategia adottata. A seconda delle positività riscontrate nel test, infatti, è possibile preparare piani alimentari specifici, più o meno stringenti, creati appositamente per contrastare uno specifico microrganismo fungino: ne è un esempio l'accortezza di escludere gli alimenti contenenti acido citrico di produzione industriale in caso di positività all'*Aspergillus niger*, utilizzato proprio per tale produzione attraverso la fermentazione citrica.

INTEGRAZIONE

In tal senso l'integrazione mira a ripristinare la funzionalità dell'intestino ossia:

- sospendere il carico tossico indotto dalla disbiosi,
- sviluppare la flora fisiologica intestinale,
- ripristinare l'integrità della mucosa intestinale,
- stimolare la digestione enzimatica.
- sopprimere la flora patogena,

Esistono, e sono ben note agli specialisti, alcune linee guida generali che costituiscono sicuramente una prima serie di rimedi alle 2 categorie disbiotiche in esame:

- per quanto riguarda i casi di disbiosi fermentativa si preferisce far riferimento all'utilizzo di lattobacilli, più adatti a svolgere la loro attività metabolica all'interno dell'intestino tenue;
- per quanto concerne, invece, la disbiosi putrefattiva, si consiglia di orientarsi in genere all'utilizzo di bifidobatteri, un particolare ceppo di batteri probiotici in grado di svilupparsi e lavorare specificamente nell'interno dell'intestino crasso.

Nel caso il paziente presenti positività per entrambi i parametri (condizione di disbiosi mista) la scelta deve ricadere su probiotici a largo spettro.

Negli ultimi anni si è riusciti a rafforzare la terapia probiotica con l'assunzione di prebiotici, ovvero composti utili proprio allo sviluppo di queste categorie di batteri probiotici. La principale categoria di prebiotici è costituita da una classe di zuccheri che fanno riferimento all'inulina, ricavata principalmente da alimenti quali cicoria, carciofi, porri, aglio, cipolla, ecc. Questi zuccheri resistono al processo di digestione e si rendono disponibili direttamente al metabolismo dei batteri probiotici, in grado perciò di sfruttarne le proprietà nutritive, andando così a migliorarne lo sviluppo e la diffusione. Un'altra grande categoria di prebiotici è costituita dai FOS (fruttoligosaccaridi), zuccheri a catena corta, ideali per lo sviluppo dei bifidobatteri probiotici e presenti in una grande quantità di integratori disponibili in commercio.

BIBLIOGRAFIA

Aarbakke J., Schjonsby H., Value of urinary simple phenol and indican determinations in the diagnosis of the stagnant loop syndrome, *Scand. J. Gastroenterol.*, 1976, 11: 409-14

Atkinson Wet al., Food elimination based on IgG antibodies in irritable bowel syndrome: a randomized controlled trial., *Gut*. 2004;53(10): 1459-64

Battais F et al., Food allergy to wheat: identification of immunoglobulin E and immunoglobulin G-binding proteins with sequential extracts and purified proteins from wheat flour, *Clin Exp Allergy*. 2003;33(7): 962-70

Cassani E, Barichella M, Cancellò R, Cavanna F, Iorio L, Cereda E, Bolliri C, Zampella Maria P, Bianchi F, Cestaro B, Pezzoli G., Increased urinary indoxyl sulfate (indican): new insights into gut dysbiosis in Parkinson's disease., *Parkinsonism Relat Disord*. 2015 Apr;21(4):389-93

Clancy CJ, Nguyen ML, Cheng S, Huang H, Fan G, Jaber RA, Wingard JR, Cline C, Nguyen MH, Immunoglobulin G responses to a panel of *Candida albicans* antigens as accurate and early markers for the presence of systemic candidiasis, *J. Clin. Microbiol.*, 2008 May;46(5):1647-54. Epub 2008 Mar 5

De Preter V., Vanhoutte T., Huys G. et al., Effects of *Lactobacillus casei* Shirota, *Bifidobacterium breve* and oligofructose-enriched inulin on colonic nitrogen-protein metabolism in healthy humans, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2007, 292: 358-68

Granito A, Zauli D, Muratori P, Muratori L, Grassi A, Bortolotti R, Petrolini N, Veronesi L, Gionchetti P, Bianchi FB, Volta U., Anti-*Saccharomyces cerevisiae* and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in coeliac disease before and after gluten-free diet, *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2005 Apr 1;21(7):881-7

Haan E., Brown G., Bankier A. et al., Severe illness caused by the products of bacterial metabolism in a child with a short gut, *Eur. J. Pediatr.*, 1985, 144: 63-5

Hidvegi E et al., Serum immunoglobulin E, IgA, and IgG antibodies to different cow's milk proteins in children with cow's milk allergy: association with prognosis and clinical manifestations, *Pediatr. Allergy Immunol.*, 2002;13(4): 255-61

Isolauri et al., Food allergy in irritable bowel syndrome: new facts and old fallacies, *Gut* 2004; 53:1391-93

Kokkonen J et al., A similar high level of immunoglobulin A and immunoglobulin G class milk antibodies and increment of local lymphoid tissue on the duodenal mucosa in subjects with cow's milk allergy and recurrent abdominal pains, *Pediatr. Allergy Immunol.*, 2002;13(2): 129-36

Kondori N, Edebo L, Mattsby-Baltzer I., *Candida albicans* cell wall antigens for serological diagnosis of candidemia, *Med. Mycol.*, 2003 Feb;41(1):21-30

Le Goff C, Chapelle JP, Lutteri L., Comparison of five techniques to detect anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies (ASCA) in serum for diagnosing Crohn's disease, *Ann. Biol. Clin. (Paris)*, 2007 Nov-Dec;65(6):601-8

Liu H.Y., Hou R., Yang G.Q., Zhao F., Dong W.G., In vitro effects of inulin and soya bean oligosaccharide on skatole production and the intestinal microbiota in broilers, *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2017;1-11

Mayer P.J., Beeken W.L., The role of urinary indican as a predictor of bacterial colonization in the human jejunum, *Am. J. Dig. Dis.*, 1975, 20:1003-9

Miloszewski K., Kelleher J., Walker B.E. et al., Increase in urinary indican excretion in pancreatic steatorrhea following replacement therapy, *Scand. J. Gastroenterol.*, 1975, 10:481-5

Patney N.L., Mehrotra M.P., Khanna H.K., Kumar A., Urinary indican excretion in cirrhosis of liver, *J. Assoc. Physicians India*, 1976, 24:291-5

Persat F, Topenot R, Piens MA, Thiebaut A, Dannaoui E, Picot S., Evaluation of different commercial ELISA methods for the serodiagnosis of systemic candidosis, *Mycoses*, 2002 Dec;45(11-12):455-60

Prince HE, Yeh C, Alem N, Asalkhou M, Hamed N, Alem N, Alem M. - Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays for detecting circulating antibodies to *Candida albicans*, *J. Clin. Lab. Analys.* 2008;22(4):234-8

Rees T. et al., A prospective audit of food intolerance among migraine consumers in primary care clinical practice, *Headache Care* 2005; Vol 2 N°1: 11-14

Richard S. Lord, PhD, and J. Alexander Bralley, PhD, Clinical Applications of Urinary Organic Acids. Part 2. Dysbiosis Markers, *Alternative Medicine Review* Volume 13, Number 4 2008 Review Article Page 292-306

Ruffelli M., De Pità O, Diagnosi di laboratorio delle reazioni avverse ad alimenti. Metodiche a confronto. Biologi Italiani 2005; 11:20-23

Schaffer T, Müller S, Flogerzi B, Seibold-Schmid B, Schoepfer AM, Seibold F, Ant-i-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies (ASCA) of Crohn's patients crossreact with mannan from other yeast strains, and murine ASCA IgM can be experimentally induced with Candida albicans, Inflamm. Bowel Dis., 2007 Nov;13(11):1339-46

Smith D.F., Effects of age on serum tryptophan and urine indican in adults given a tryptophan load test, Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet, 1982, 7: 55-8

Tohyama K., Kobayashi Y., Kan T. et al, Effect of Lactobacilli on urinary indican excretion in gnotobiotic rats and in man, Microbiol. Immunol., 1981, 25:101-2

Toumi D, Mankai A, Belhadj R, Ghedira-Besbes L, Jeddi M, Ghedira I, Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in coeliac disease, Scand. J. Gastroenterol., 2007 Jul;42(7):821-6

Vance GH et al., Ovalbumin-specific immunoglobulin G and subclass responses through the first 5 years of life in relation to duration of egg sensitization and the development of asthma, Clin. Exp. Allergy, 2004;34(10): 1542-9

Whorwell P.J. et al., IgG antibodies to foods in IBS, Gut 2005; 54:1204

Yamaguchi N, Sugita R, Miki A, Takemura N, Kawabata J, Watanabe J, Sonoyama K., Gastrointestinal Candida colonisation promotes sensitisation against food antigens by affecting the mucosal barrier in mice, Gut, 2006 Jul;55(7):954-60. Epub 2006 Jan 19

Yokoyama, M. T., & Carlson, J. R. (1979). Microbial metabolites of tryptophan in the intestinal tract with special reference to skatole. American Journal of Clinical Nutrition, 32, 173-178. PMID: 367144

Yoshida K., Hirayama C., Tryptophan metabolism in liver cirrhosis: influence of oral antibiotics on neuropsychiatric symptoms, Tohoku J. Exp. Med., 1984, 142: 35-41

Zar S. et al., Food-specific serum IgG4 and IgE titers to common food antigens in irritable bowel syndrome, Am. J. Gastroenterol., 2005;100(7): 1550-7