ASSE INTESTINO-CERVELLO-VAGINA.

Milano, 30 settembre 2017

Dott. Davide Iozzi
Biologo nutrizionista
Esperto in nutrizione umana
Staff IMBIO

"La maniera in cui si digerisce decide quasi sempre del nostro modo di pensare."

Voltaire

MICROBIOTA INTESTINALE

- E' l'insieme di tutti i microorganismi che vivono in simbiosi nell'intestino umano

Si contano più di **100.000 MILIARDI** di microorganismi appartenenti a **400 specie diverse** che colonizzano il tratto intestinale.

COMPOSIZIONE DELLA FLORA INTESTINALE

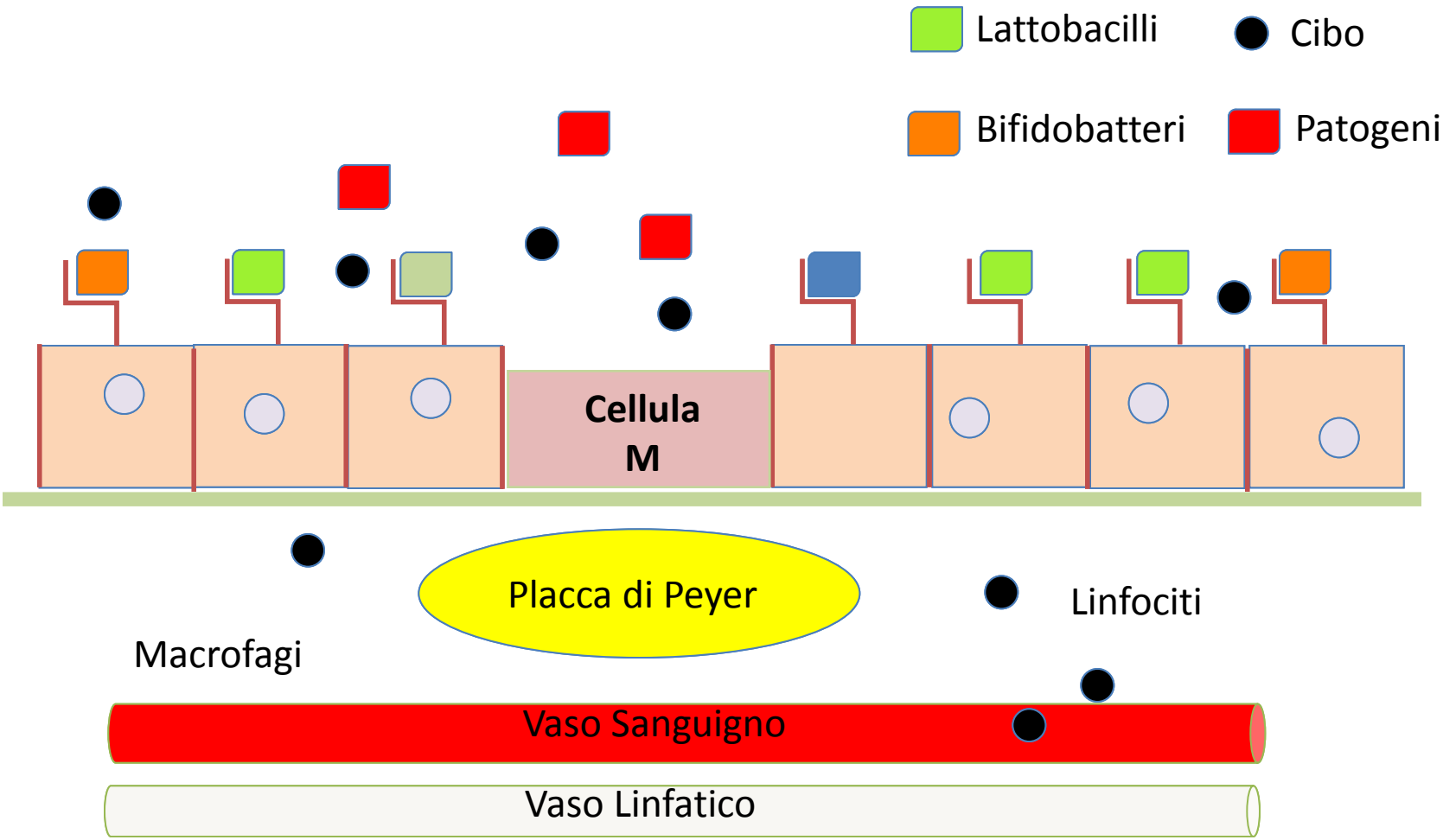
Sempre patogeni

Sempre benefici

- Ps-Aeruginosa
- Proteus
- Staffilococchi
- Clostridia
- Veillonellae
- Enterococchi
- E. coli
- Lattobacilli
- Streptococchi
- Eubatteri
- Bifidobatteri
- Batteroidi

Gibson & Roberfroid, 1994

EFFICIENZA GASTROENTERICA: EUBIOSI

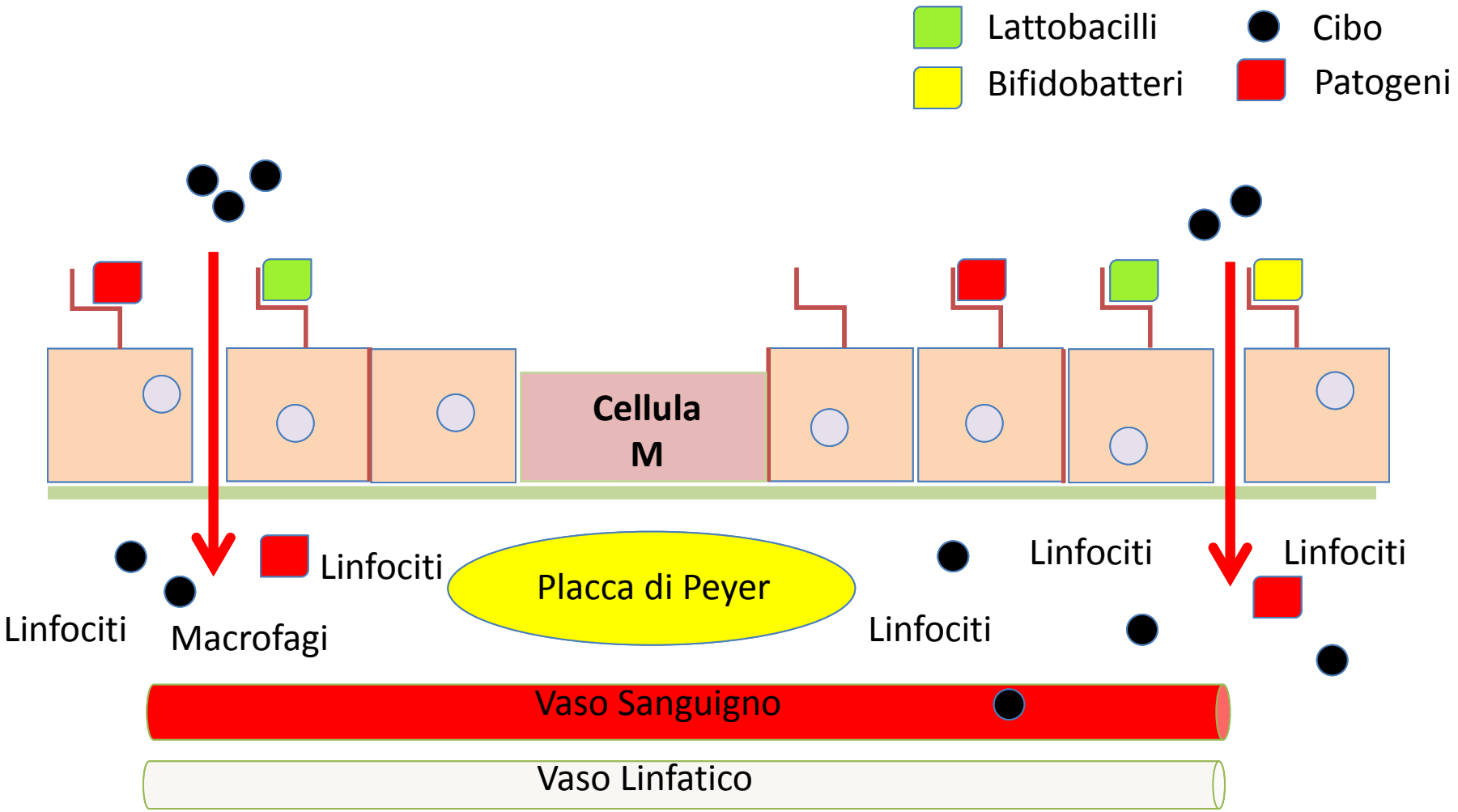


IMBIO Lab

Istituto di Medicina Biologica S.r.l. - Dir. San. Prof. Giuseppe Di Fede
Via Molino delle Armi 3, Milano. www.imbio.it e-mail: segreteria@imgep.com

IMBIO
Istituto Medicina Biologica

EFFICIENZA GASTROENTERICA: DISBIOSI



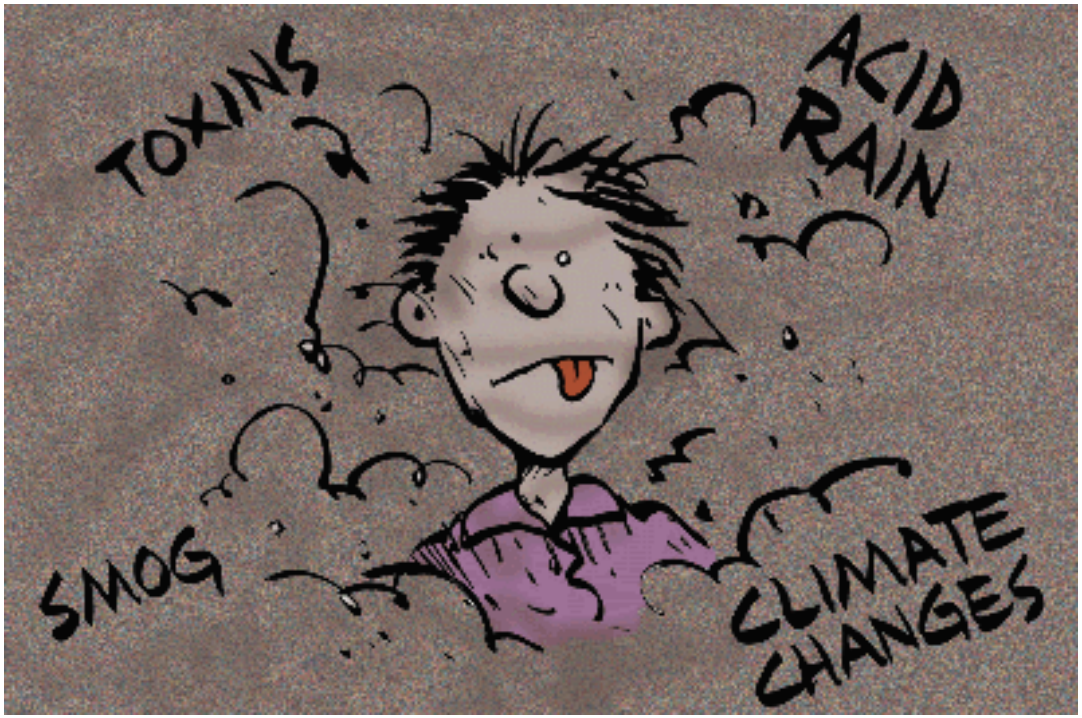
IMBIO Lab

Istituto di Medicina Biologica S.r.l. - Dir. San. Prof. Giuseppe Di Fede
Via Molino delle Armi 3, Milano. www.imbio.it e-mail: segreteria@imgep.com

IMBIO Istituto di Medicina Biologica

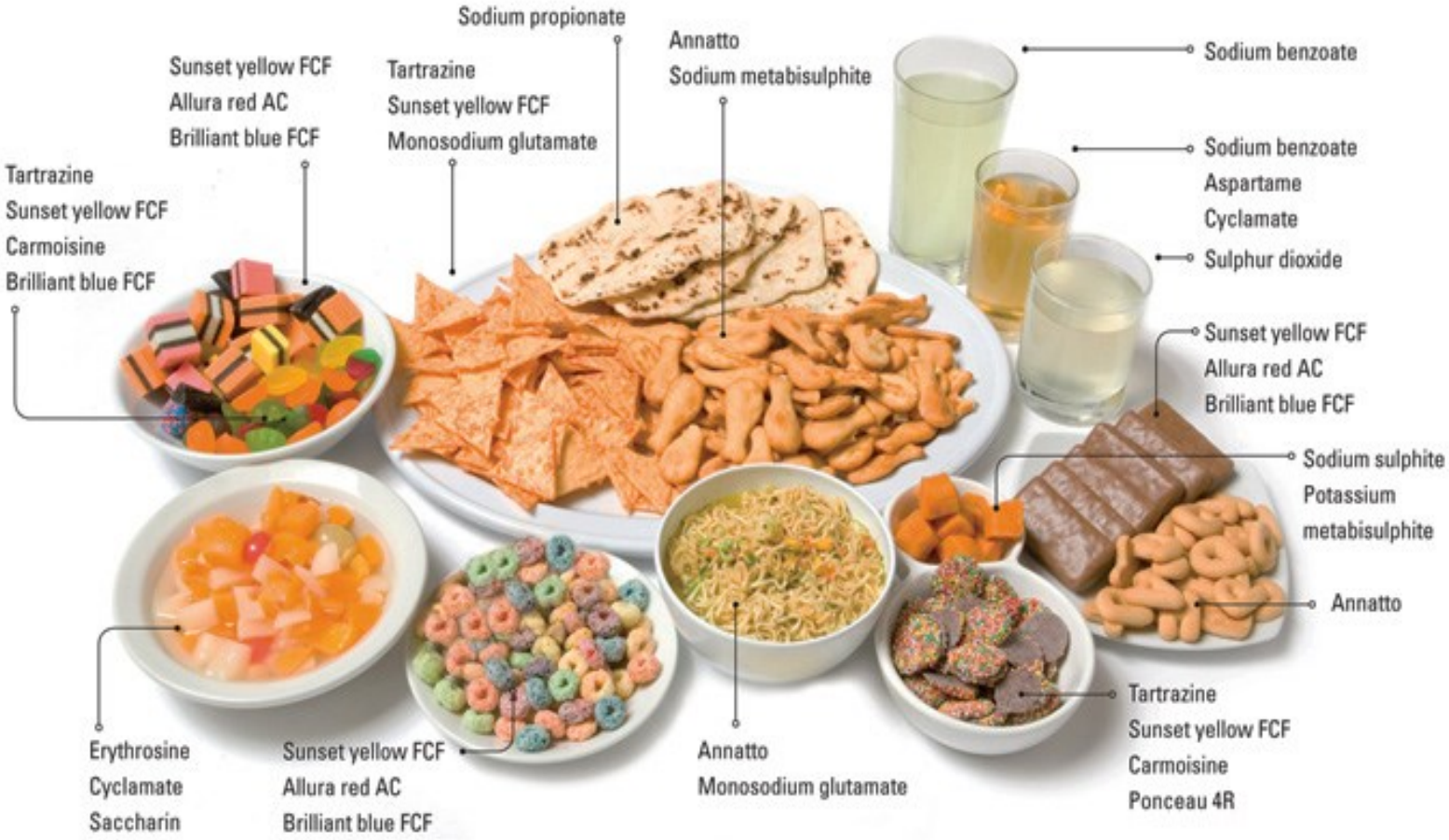
CAUSE DELLA DISBIOSI INTESTINALE

1) TOSSINE AMBIENTALI



Jin Y, Wu S, Zeng Z, Fu Z. *Effects of environmental pollutants on gut microbiota*. Environ Pollut. 2017 Jan 10;222:1-9. doi: 10.1016/j.envpol.2016.11.045.

2) TOSSINE ALIMENTARI



Chassaing B, Koren O, Goodrich JK, Poole AC, Srinivasan S, Ley RE, Gewirtz AT. *Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome.* Nature. 2015 Mar 5;519(7541):92-6. doi: 10.1038/nature14232..

3) TIPO DI ALIMENTAZIONE

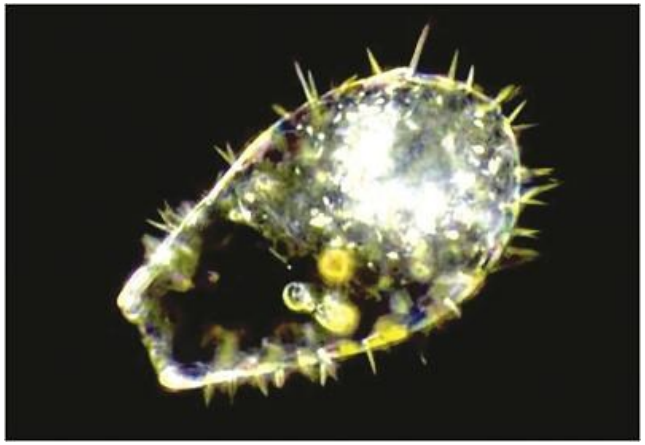
Caesar R, Tremaroli V, Kovatcheva-Datchary P, Cani PD, Backhed F. *Crosstalk between gut microbiota and dietary lipids aggravates WAT inflammation throught TLR signaling.* Cell Metab 22(4): 658-68, 2015

Hildebrandt MA, Hoffmann C, Sherrill-Mix SA, et al. *High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity.* Gastroenterology 2009;137(5):1716–1724. e1–2. [PubMed: 19706296]

4) TERAPIE FARMACOLOGICHE

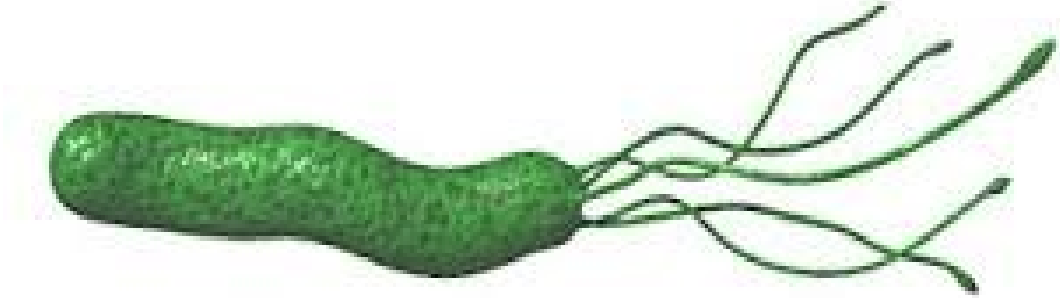
Otani K, Tanigawa T, Watanabe T, Shimada S, Nadatani Y, Nagami Y, Tanaka F, Kamata N, Yamagami H, Shiba M, Tominaga K, Fujiwara Y, Arakawa T. *Microbiota Plays a Key Role in Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug-Induced Small Intestinal Damage*. Digestion. 2017;95(1):22-28.

5) INFEZIONI INTESTINALI GRAVI



Ameba

Salmonella spp



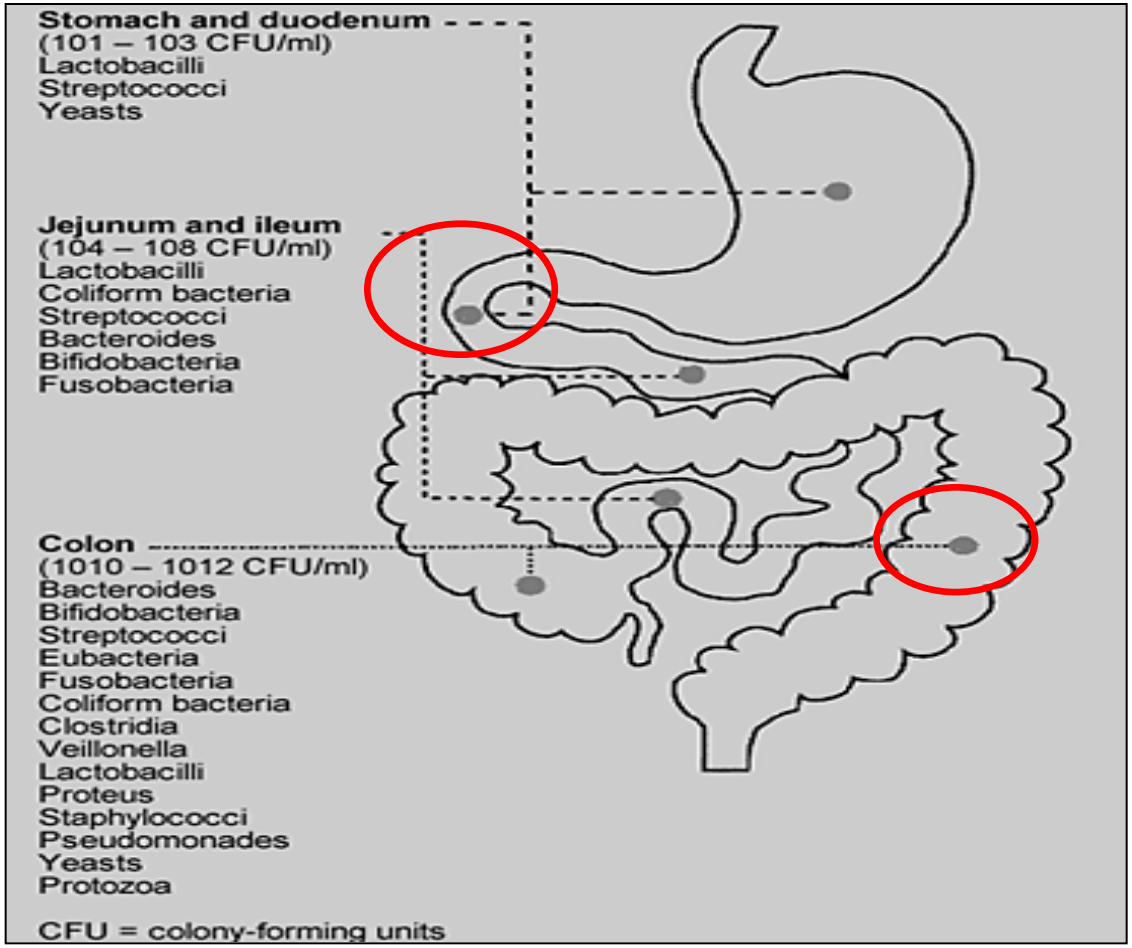
Helicobacter pylori

Vitetta L, Saltzman ET, Nikov T, Ibrahim I, Hall S. *Modulating the Gut Micro-Environment in the Treatment of Intestinal Parasites*. J Clin Med. 2016 Nov 16;5(11). pii: E102. Review. PubMed PMID: 27854317.

6) MICOSI INTESTINALI

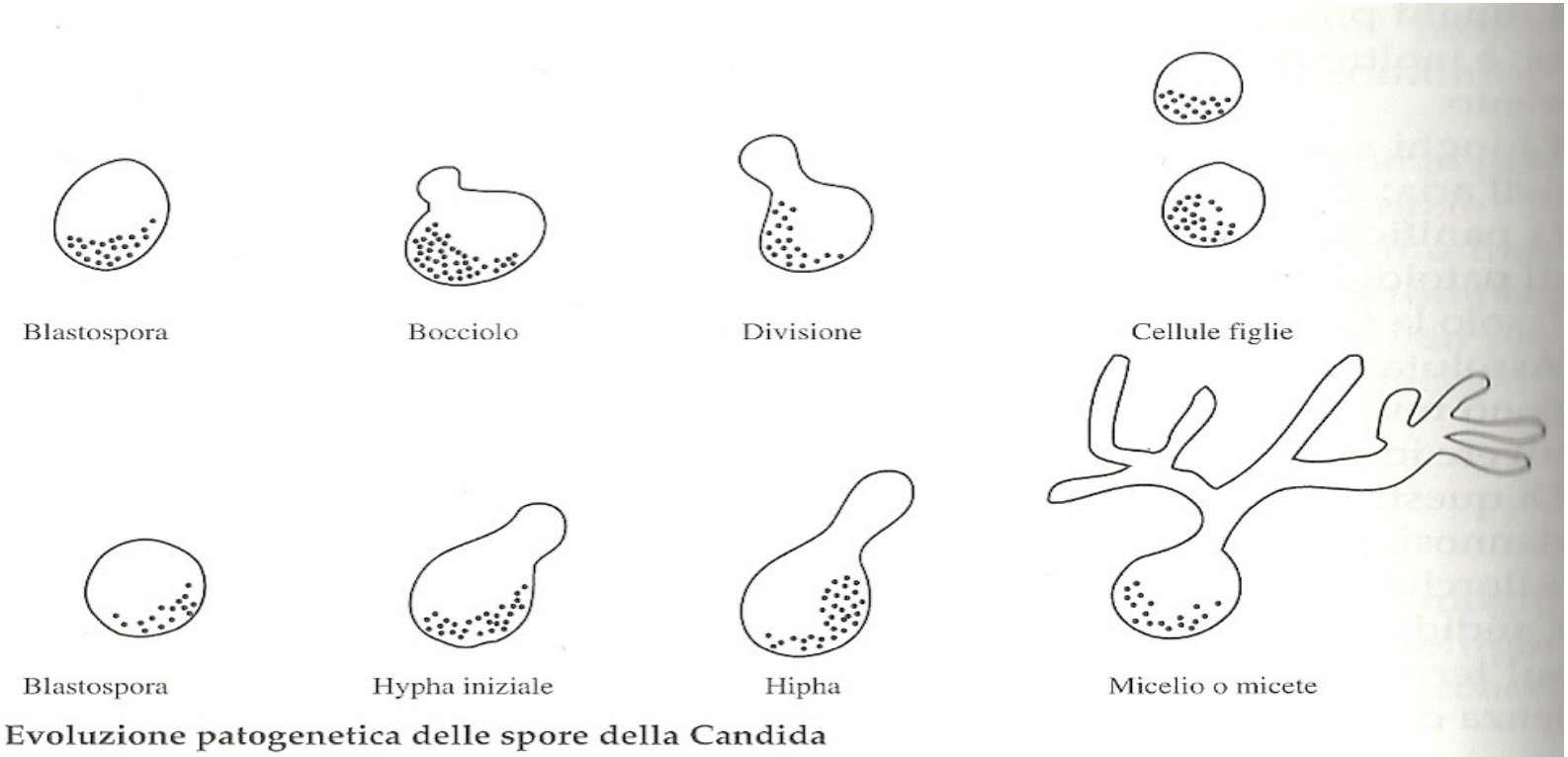
LIEVITI INTESTINALI:

- **CANDIDA SPP** *(albicans o tropicalis)*
- **SACCHAROMYCES SPP** *(lievito di pane o lievito di birra)*



Wheeler ML, Limon JJ, Bar AS, Leal CA, Gargus M, Tang J, Brown J, Funari VA, Wang HL, Crother TR, Arditi M, Underhill DM, Iliev ID. *Immunological Consequences of Intestinal Fungal Dysbiosis.* Cell Host Microbe. 2016 Jun 8;19(6):865-73.

CANDIDOSI



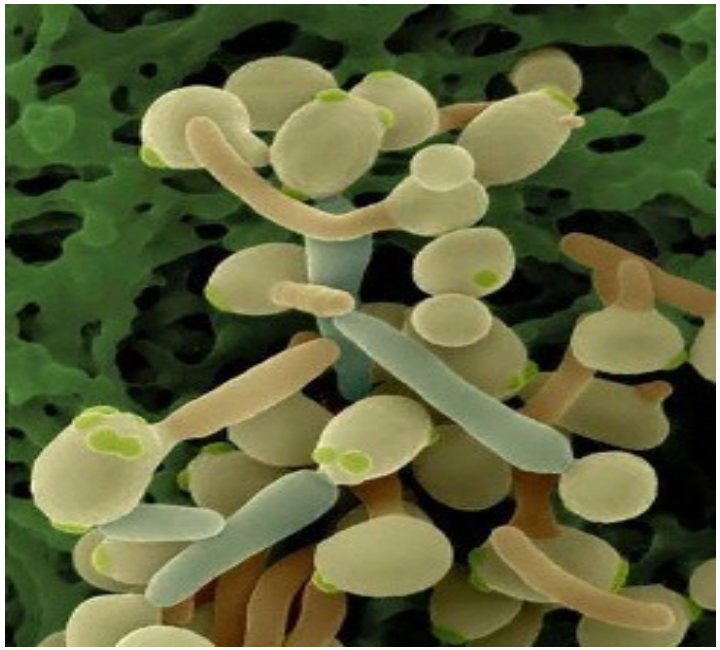
Evoluzione patogenetica delle spore della Candida

In forma patogena, questo fungo **INTERFERISCE CON L'ASSORBIMENTO ED IL METABOLISMO DEI NUTRIENTI ESSENZIALI**: vitamine, minerali e aminoacidi.

Mangani V., Panfili A., *Candida l'epidemia silenziosa: allergia del XX secolo?* - ed. Tecniche Nuove, 1998

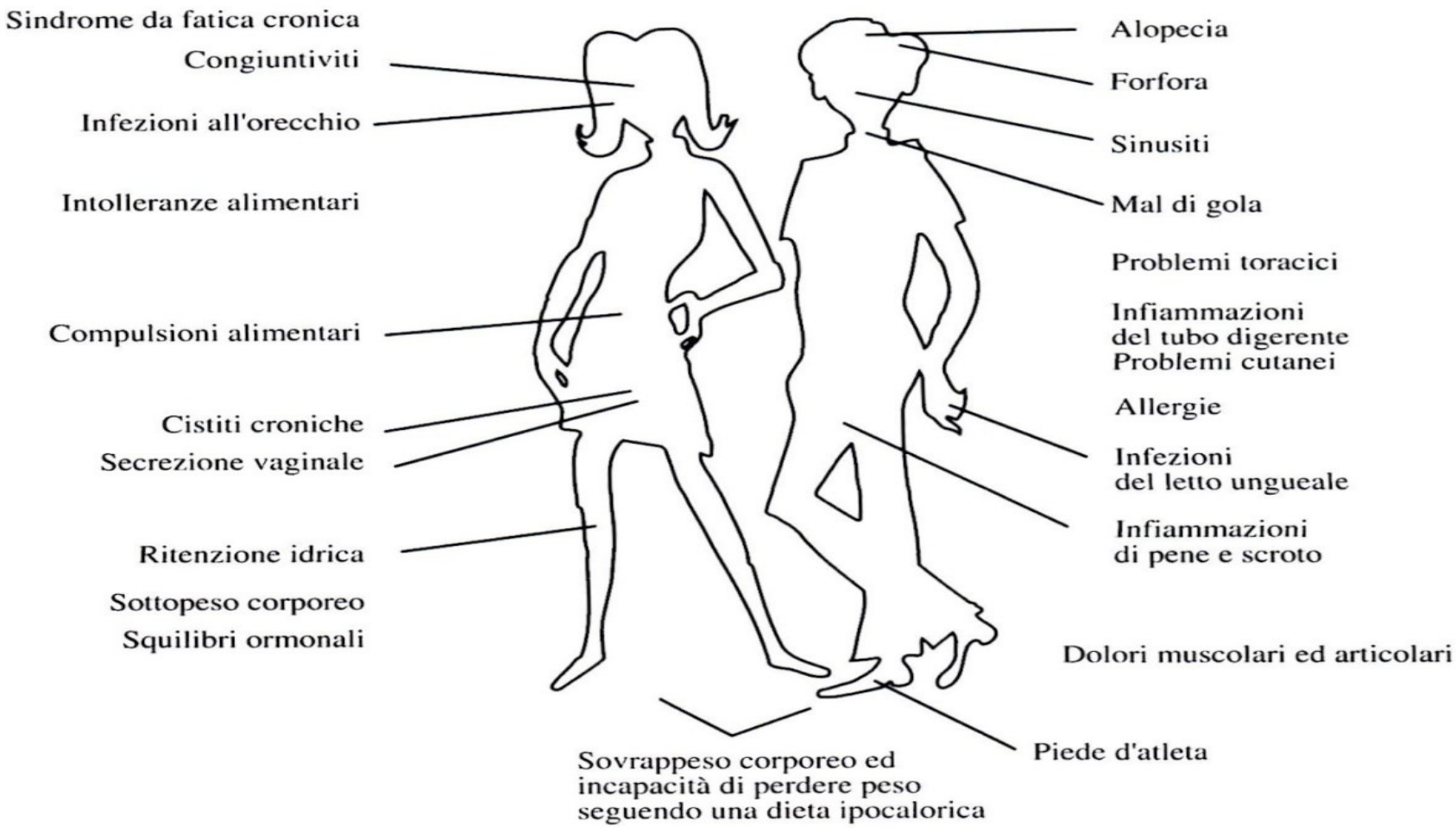
FLORA INTESTINALE ALTERATA

DEFICIT DI LACTOBACILLI NEL TENUE → PROLIFERAZIONE CANDIDA



FORMA INVASIVA A MICELIO MODIFICATO

SINTOMI DELLA PRESENZA DI CANDIDOSI



Sintomi chiave delle infezioni da lieviti e da Candida. Tratto da: "The Yeast connection" by J. Crook.

7) STATI DI STRESS

Moos WH, Faller DV, Harpp DN, Kanara I, Pernokas J, Powers WR, Steliou K. *Microbiota and Neurological Disorders: A Gut Feeling*. Biores Open Access. 2016 May 1;5(1):137-45. doi: 10.1089/biores.2016.0010.

Jessica M. Yano et al, *Indigenous Bacteria from the Gut Microbiota Regulate Host Serotonin Biosynthesis,* **Cell** Volume 161, Issue 2, 9 April 2015, Pages 264–276

Kelly, J. R. *et al*. *Brain–gut–microbiota axis: challenges for translation in psychiatry. Ann. Epidemiol.* **26**, 366–372 (2016).

Nelle **società occidentali oltre un terzo della popolazione ha disturbi gastrointestinali cronici**

Nelle società occidentali **le malattie infiammatorie croniche dell'intestino (IBD)** hanno una **prevalenza quasi dell'1%** (principalmente il *morbo di Crohn* e la *colite ulcerosa*)

Hanno però un peso considerevole le **malattie gastrointestinali funzionali (FGID)**, definite da *quadri sintomatologici a cui non corrisponde una classica patologia organica*: queste comprendono la **sindrome dell'intestino irritabile (IBS)** e la **dispepsia funzionale (FD)**

Talley, N. J. & Ford, A. C. *Functional dyspepsia*. N. Engl. J. Med. 373, 1853–1863 (2015).
Talley, N. J. & Spiller, R. *Irritable bowel syndrome: a little understood organic bowel disease*? Lancet 360, 555–564 (2002).

Prime evidenze di bidirezionalità

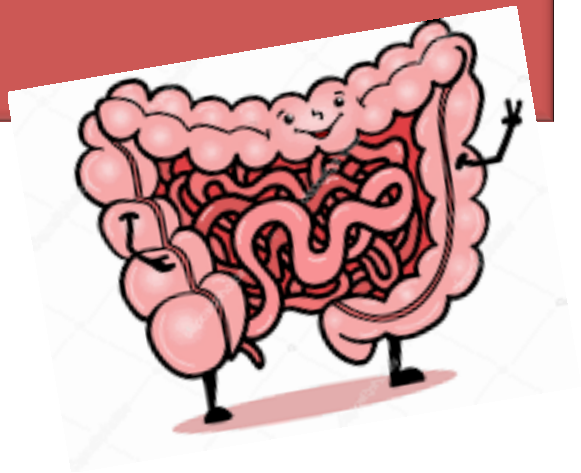
In **uno studio della durata di 12 anni (1997-2009)** su **1775 adulti** scelti in modo casuale dalla popolazione e sottoposti a *due questionari - uno sui sintomi gastrointestinali ed uno sui sintomi di ansia o depressione (utilizzando il Delusion Symptom States Inventory tool o DSSI)* - è stato osservato che:

-**Pazienti con disturbi dell'umore (ansia e/o depressione) che all'inizio dello studio non presentavano sintomi gastrointestinali, nel corso dei follow-up hanno sviluppato FGIDs.**

-**Pazienti con FGIDs che all'inizio dello studio non presentavano disturbi dell'umore hanno mostrato sintomatologie, a distanza di 12 anni, che hanno portato ad un significativo aumento della possibilità di sviluppare ansia e/o depressione.**

Koloski, N. A. et al. *The brain–gut pathway in functional gastrointestinal disorders is bidirectional: a 12-year prospective population-based study.* Gut 61, 1284–1290 **(2012).**

EVIDENZE DELLA COMUNICAZIONE A DOPPIO SENSO TRA CERVELLO E INTESTINO



I pazienti con IBD sono maggiormente soggetti ad ansia e depressione.

1.Goodhand, J. R. et al. Mood disorders in inflammatory bowel disease: relation to diagnosis, disease activity, perceived stress, and other factors. Inflamm. Bowel Dis. 18, 2301–2309 (2012).

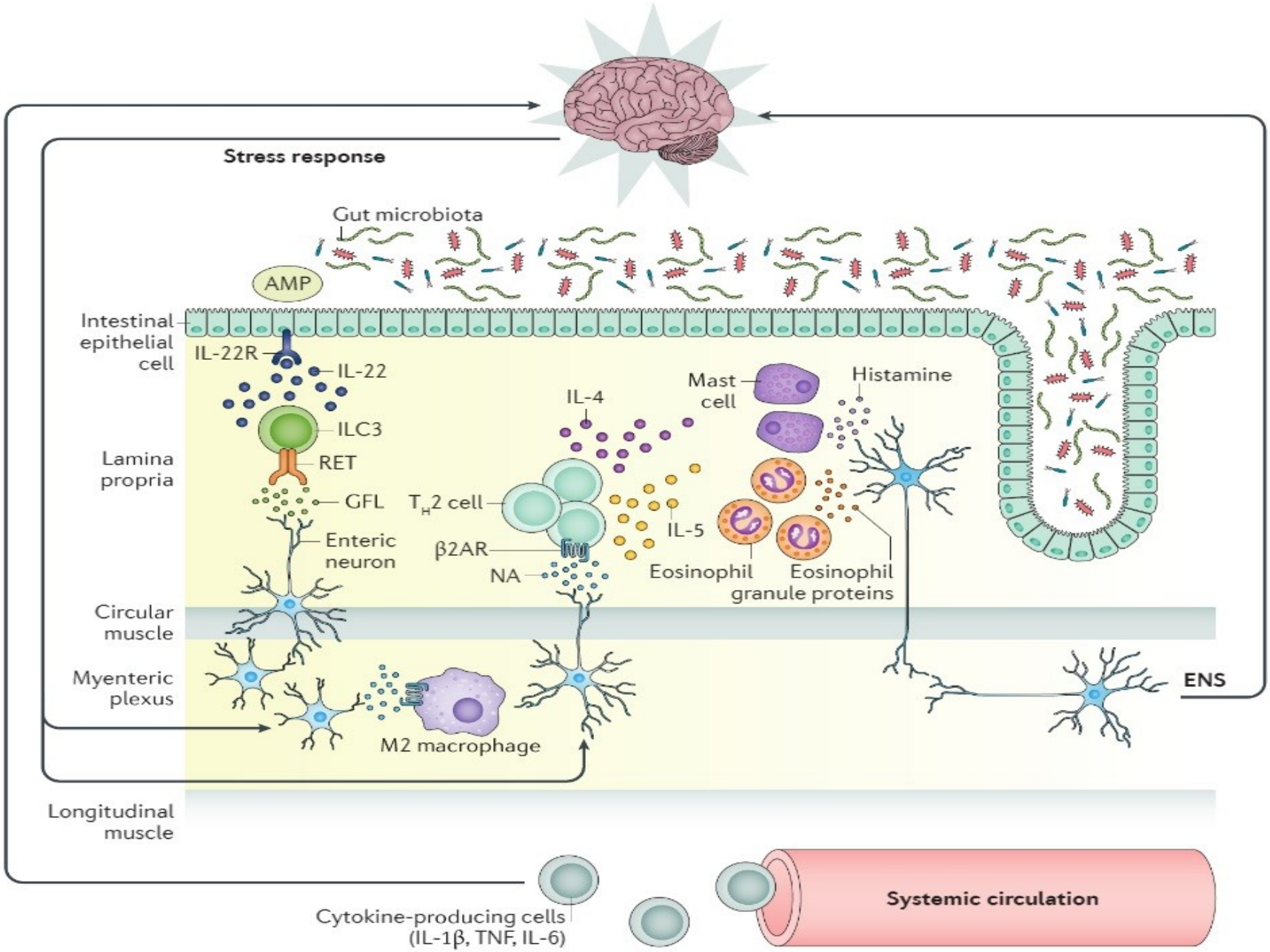
2.Addolorato, G., Capristo, E., Stefanini, G. F. & Gasbarrini, G. Inflammatory bowel disease: a study of the association between anxiety and depression, physical morbidity, and nutritional status. Scand. J. Gastroenterol. 32, 1013–1021 (1997).

3.Kovacs, Z. & Kovacs, F. Depressive and anxiety symptoms, dysfunctional attitudes and social aspects in irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease. Int. J. Psychiatry Med. 37, 245–255 (2007).

4.Kurina, L. M., Goldacre, M. J., Yeates, D. & Gill, L. E. Depression and anxiety in people with inflammatory bowel disease. J. Epidemiol. Community Health 55, 716–720 (2001).

5.Hauser, W., Janke, K. H., Klump, B. & Hinz, A. Anxiety and depression in patients with inflammatory bowel disease: comparisons with chronic liver disease patients and the general population. Inflamm. Bowel Dis. 17, 621–632 (2011).

INTERAZIONE CERVELLO – SISTEMA IMMUNITARIO - INTESTINO



Citochine e stress

In pazienti con **grave depressione idiopatica** sono stati trovati **livelli alterati di citochine nel siero, nel plasma e nel liquido cerebrospinale**.

Felger, J. C. & Lotrich, F. E. *Inflammatory cytokines in depression: neurobiological mechanisms and therapeutic implications.* Neuroscience 246, 199–229 (2013).

Nei roditori, **l'iniezione intracerebrale di IL-1β ricombinante o TNF, induce febbre, sonnolenza e iperalgesia in maniera dose-dipendente.**

Kapas, L. et al. *Somnogenic, pyrogenic, and anorectic activities of tumor necrosis factor-alpha and TNF- alpha fragments*. Am. J. Physiol. 263, R708–R715 (1992).
Kent, S., Rodriguez, F., Kelley, K. W. & Dantzer, R. *Reduction in food and water intake induced by microinjection of interleukin-1 beta in the ventromedial hypothalamus of the rat*. Physiol. Behav. 56, 1031–1036 (1994).

L'IL-6, il TNF e l'IL-1β, in particolare, sono anche potenti attivatori della risposta allo stress, attivando l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) a più livelli, tra cui l'attivazione dei neuroni contenenti l'ormone di **rilascio della corticotropina** da parte dell'ipotalamo e **l'attivazione diretta della corteccia surrenale.**

Besedovsky, H., del Rey, A., Sorkin, E. & Dinarello, C. A. *Immunoregulatory feedback between interleukin-1 and glucocorticoid* hormones. Science 233, 652–654 (1986).
Silverman, M. N., Pearce, B. D. & Miller, A. H. in *Cytokines and Mental Health* (ed Kronfol, Z.) 85–122 (Springer Science, 2003).

MICROBIOTA - RISPOSTA ALLO STRESS – FUNZIONE CEREBRALE

E' stato dimostrato che **stimoli stressogeni prolungati**:

- **Distruggono la comunità microbica presente sia a livello fecale che della mucosa del colon**

1. Sudo, N. et al. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic–pituitary–adrenal system for stress response in mice. J. Physiol. 558, 263–275 (2004).
2. Galley, J. D. et al. Exposure to a social stressor disrupts the community structure of the colonic mucosa-associated microbiota. BMC Microbiol. 14, 189 (2014).

- **Inducono cambiamenti specifici come la perdita di alcune specie di lattobacilli.**

1. Galley, J. D. & Bailey, M. T. Impact of stressor exposure on the interplay between commensal microbiota and host inflammation. Gut Microbes 5, 390–396 (2014).
2. Galley, J. D. et al. The structures of the colonic mucosa-associated and luminal microbial communities are distinct and differentially affected by a prolonged murine stressor. Gut Microbes 5, 748–760 (2014).

- **Aumenta la proliferazione di specie come *Coprococcus* and *Pseudobutyrivibrio* associate ad una maggiore produzione di citochine pro-infiammatorie come IL-6**

1. Bailey, M. T. et al. Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: implications for stressor-induced immunomodulation. Brain Behav. Immun. 25, 397–407 (2011).

MICROBIOTA - RISPOSTA ALLO STRESS – FUNZIONE CEREBRALE

In uno studio del 2004, **paragonando topi normali con topi privi di microflora intestinale**, è stato riscontrato un **aumento, in questi ultimi, della risposta allo stress da parte dell'asse HPA**, valutato con un **aumento nel plasma dell'ormone adrenocorticotropo e di corticosterone.**

Ripristinando la flora batterica in questi topini, **con *Bifidobacterium infantis***, si è osservata una **riduzione della risposta allo stress.**

Colonizzando invece con **Escherichia Coli (EPEC)** la **risposta stressogena è risultata amplificata**, con un massiccio rilascio di IL-6 e IL-1 β

L'introduzione di un ceppo mutante di EPEC che non può legarsi all'epitelio intestinale non è riuscito ad innescare lo stesso grado di risposta allo stress.

Sudo, N. et al. *Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic–pituitary–adrenal system for stress response in mice*. J. Physiol. 558, 263–275 (2004).

Strategie terapeutiche per migliorare la comunicazione Intestino - cervello

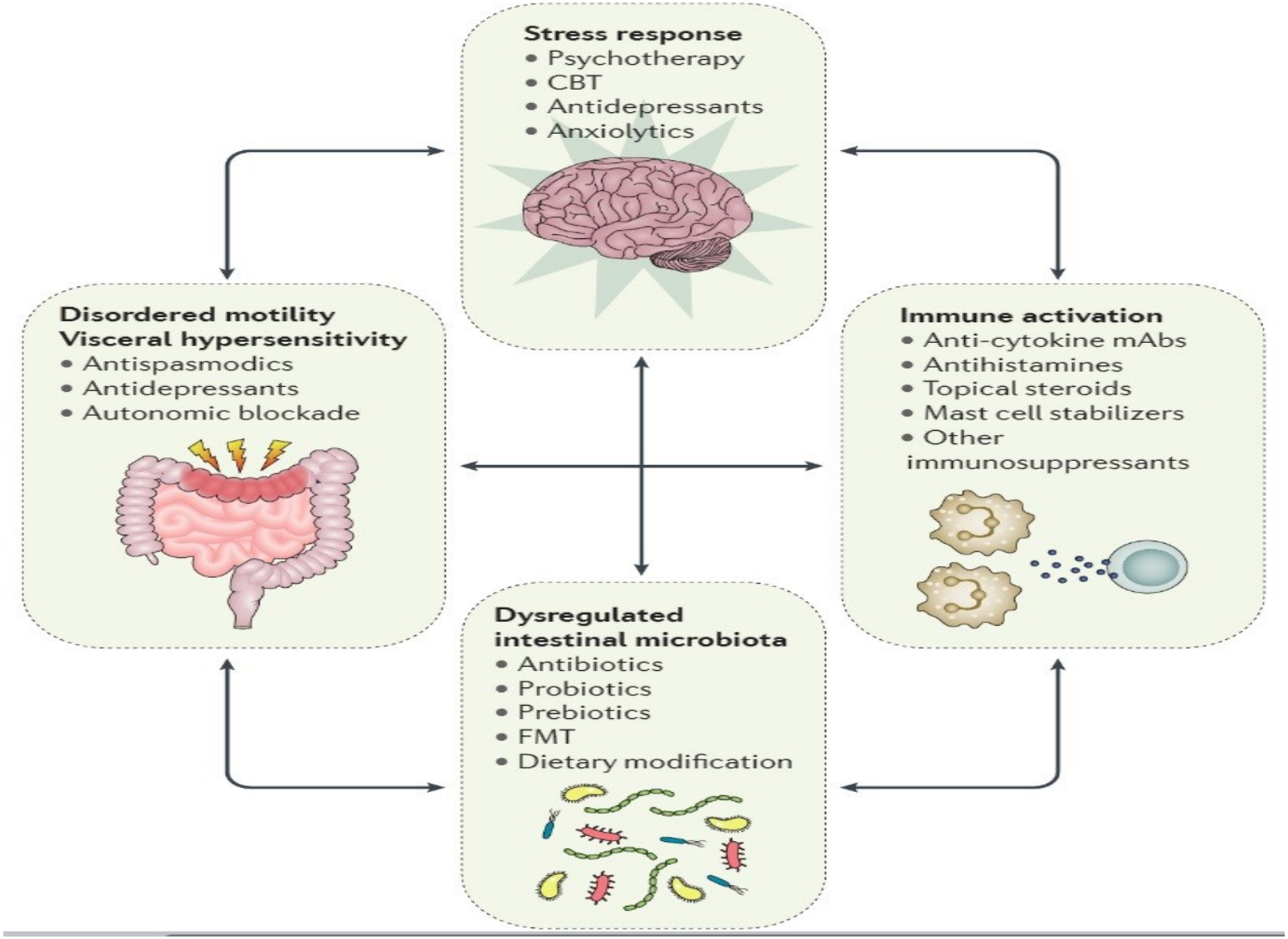
- **Interventi psicologici**: psicoterapia, ipnosi, terapia antidepressiva e cognitivo-comportamentale **sono efficaci nel trattamento della sindrome del colon irritabile IBS**.

- **Interventi immunitari:** data l'importanza dei mastociti (IBS) e degli eosinofili (FD), ci si aspetta che interventi immunitari rivolti verso queste cellule e verso IL-5 o IL-4 e IL-13 possano produrre risultati interessanti nelle FGIDs.

- **Manipolazione del microbiota: probiotici, prebiotici, antibiotici, modifiche nell'alimentazione (dieta FODMAPs) e il trapianto del microbiota fecale (FMT)** sono ad oggi gli **interventi più promettenti per la cura delle patologie intestinali.**

Es: *Bifidobacterium Infantis* ha dimostrato un miglioramento della risposta immunitaria mucosale in pazienti con IBS

O'Mahony, L. et al. *Lactobacillus and bifidobacterium in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles.* Gastroenterology 128, 541–551 (2005).



Powell N, Walker MM, Talley NJ. *The mucosal immune system: master regulator of bidirectional gut-brain communications*. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2017 Mar**;14(3):143-159. doi: 10.1038/nrgastro.2016.191. Review.

COMPOSIZIONE DELLA FLORA VAGINALE

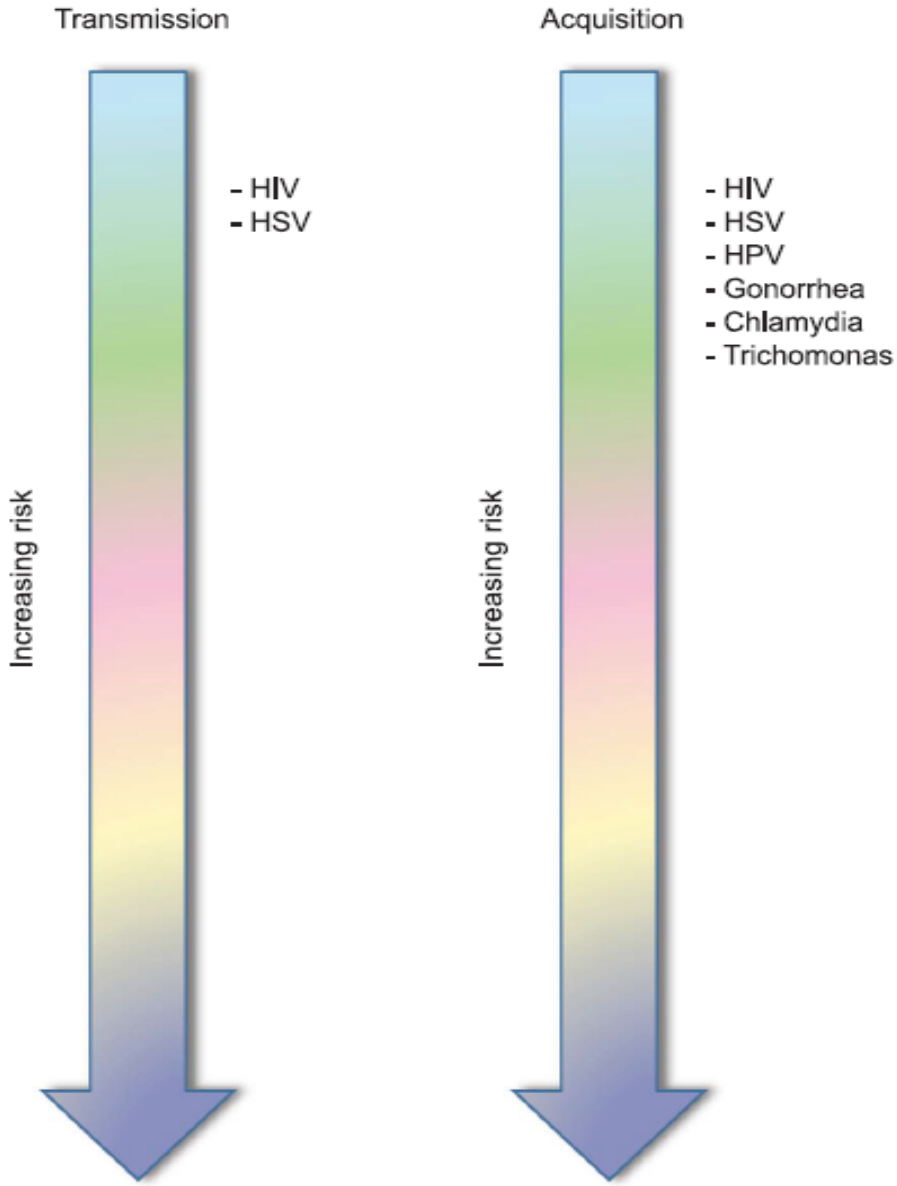
Evidenze scientifiche dimostrano che un **microbiota vaginale dominato dai Lattobacilli è ottimale per la salute vaginale**, grazie alla loro **produzione di H_2O_2 e acido lattico**. [1,2]

La presenza di **L. *crispatus*** è fortemente associato all'assenza di vaginosi di origine batterica [3,4,5,6]

A differenza dell'ecosistema intestinale, nel quale è importante la diversità, la flora vaginale di una donna sana è composta prevalentemente da batteri del genere *Lactobacillus* spp[7] e si presenta **stabile nel tempo**. In tutto sono stati identificati **5 tipologie di popolazioni microbiche vaginali**, che si differenziano in base alle specie batteriche dominanti. [7]

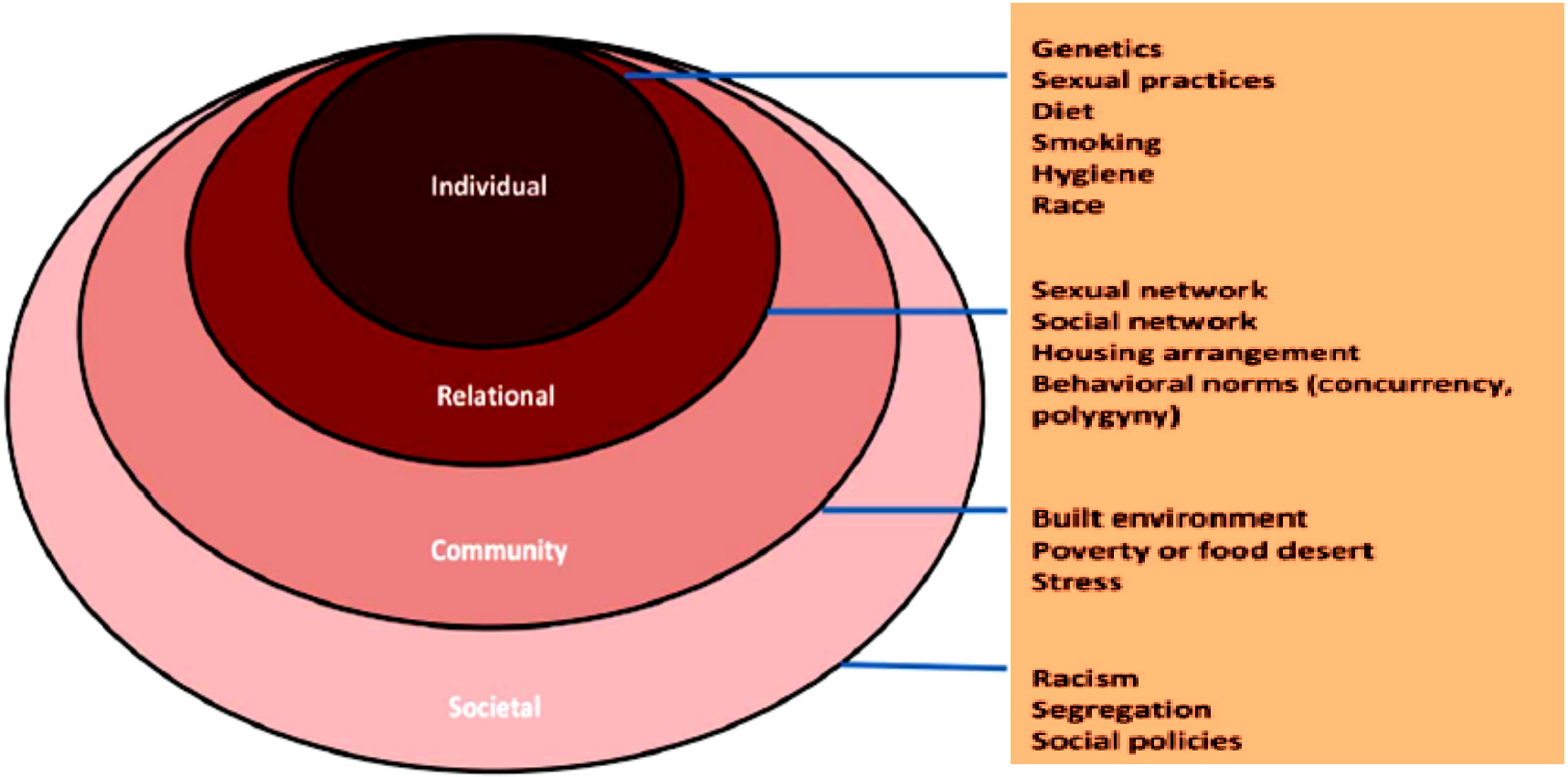
1. Van deWijgert JH, Borgdorff H, Verhelst R, Crucitti T, Francis S, Verstraelen H, et al. The vaginal microbiota: what have we learned after a decade of molecular characterization? PLoS One 2014:9:e105998.
2. Bradshaw CS, Brotman RM. Making inroads into improving treatment of bacterial vaginosis—striving for long-term cure. BMC Infect Dis 2015;15:292.
3. DiGuilio DB, Callahan BJ, McMurdie PJ, Costello EK, Lyell DJ, Robaczewska A, et al. Temporal and spatial variation of the human microbiota during pregnancy. Proc Natl Acad Sci U S A 2015;112:11060–5
4. Jespers V, Menten J, Smet H, Poradosú S, Abdellati S, Verhelst R, et al. Quantification of bacterial species of the vaginal microbiome in different groups of women, using nucleic acid amplification tests. BMC Microbiol 2012;12:83.
5. Srinivasan S, Liu C, Mitchell CM, Fiedler TL, Thomas KK, Agnew KJ, et al. Temporal variability of human vaginal bacteria and relationship with bacterial vaginosis. PLoS One 2010;5:e10197.
6. Srinivasan S, Hoffman NG, Morgan MT, Matsen FA, Fiedler TL, Hall RW, et al. Bacterial communities in women with bacterial vaginosis: high resolution phylogenetic analyses reveal relationships of microbiota to clinical criteria. PLoS One 2012;7:e37818.
7. Lewis FM, Bernstein KT, Aral SO. Vaginal Microbiome and Its Relationship to Behavior, Sexual Health, and Sexually Transmitted Diseases. Obstet Gynecol. 2017 Apr;129(4):643-654. doi: 10.1097/AOG.0000000000001932. Review. PubMed PMID: 28277350.

Cluster*	Lactic acid production†
- *Lactobacillus crispatus*–dominant - CST I - Most stable	- High - L-/D-lactic acid ratio lower than *Gardnerella*-dominant communities
- *Lactobacillus gasseri*–dominant - CST II - Relatively stable	- High
- *Lactobacillus jensenii*–dominant - CST V - Relatively rare	- High
- *Lactobacillus iners*–dominant - CST III - Least stable - Frequently found in bacterial vaginosis state	- Low - Very little D-lactic acid production
- Mixed flora, some lactobacilli, mostly anaerobes, low Nugent score - CST IV-A	- Low (in *Gardnerella*-dominant communities)
- Polymicrobial, high proportion *Atopobium* and strict anaerobes, high Nugent score - Dysbiosis - CST IV-B	- Very low



1. **Lewis FM, Bernstein KT, Aral SO**. Vaginal Microbiome and Its Relationship to Behavior, Sexual Health, and Sexually Transmitted Diseases. Obstet Gynecol. 2017 Apr;129(4):643-654. doi: 10.1097/AOG.0000000000001932. Review. PubMed PMID: 28277350.

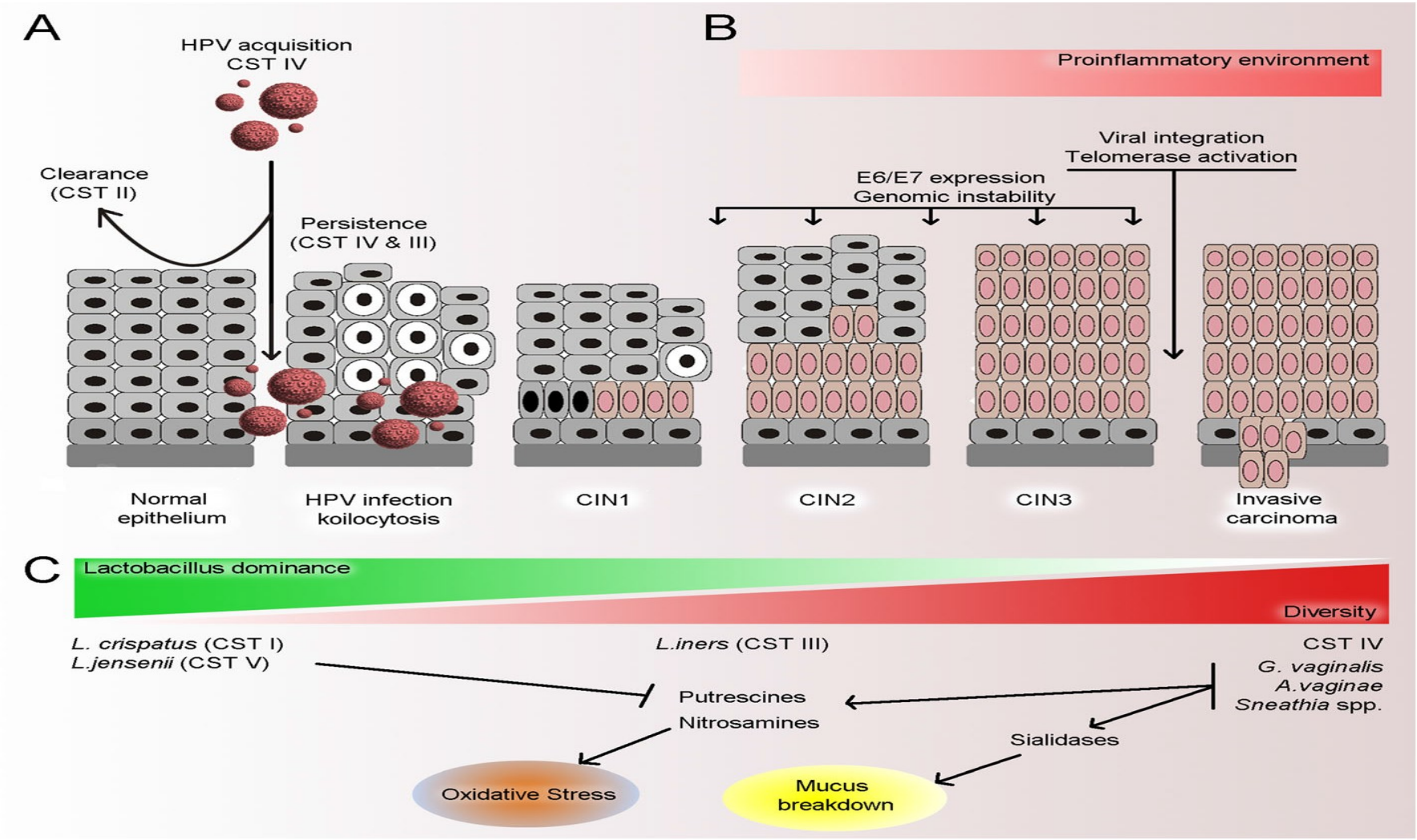
DISBIOSI VAGINALE



La disbiosi vaginale si manifesta come un'ingente perdita della specie Lactobacillus spp ed un concomitante aumento dei batteri anaerobi presenti.

Mitra A, MacIntyre DA, Marchesi JR, Lee YS, Bennett PR, Kyrgiou M. The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next? *Microbiome*. 2016;4:58. doi:10.1186/s40168-016-0203-0.

RELAZIONE PAPILLOMA VIRUS E DISBIOSI VAGINALE



Mitra A, MacIntyre DA, Marchesi JR, Lee YS, Bennett PR, Kyrgiou M. The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next? *Microbiome*. 2016;4:58. doi:10.1186/s40168-016-0203-0.

PREBIOTICI E PROBIOTICI

I PROBIOTICI

Il termine "probiotico" deriva dal greco: "pro-bios" e significa "**a favore della vita".** In base alla definizione del ricercatore inglese Fuller (1989): "**il probiotico è un microrganismo vivente che esercita un effetto positivo sulla salute dell'ospite con il risultato di rafforzare l'ecosistema intestinale**".

I PREBIOTICI

I prebiotici **sono sostanze non digeribili di alcuni alimenti che stimolano l'azione benefica sull'ospite promuovendo la crescita di una o più specie batteriche considerate utili per l'uomo".** I prebiotici sono carboidrati non digeribili (frutto e galatto-oligosaccaridi), la cui proprietà è quella di favorire nel colon lo sviluppo della microflora probiotica.

I SIMBIOTICI

Costituiscono una sorta di miscela tra probiotici e prebiotici, la cui **azione è sinergica sulla salute umana**. Dalla combinazione di **probiotici**, microrganismi vivi che esercitano un effetto positivo sull'equilibrio dell''ecosistema intestinale e di **prebiotici**, cioè sostanze non digeribili che stimolano l'azione dei probiotici promuovendone la crescita e lo sviluppo, nascono i **simbiotici.**

I **simbiotici** hanno un effetto potenziato: la possibilità di sopravvivenza della carica batterica apportata viene aumentata per accoppiamento con substrati di accrescimento selettivi.

TIPI DI PROBIOTICI

Tabella 7. Specie probiotiche di maggiore utilizzo

SPECIE	AREA DI ATTIVITÀ	SPECIE	AREA DI ATTIVITÀ
Lactobacillus acidophilus	"ANTRUM" DELLO STOMACO E DUODENO	***Lactobacillus plantarum***	COLON
Lactobacillus rhamnosus	COLON	***Lactobacillus salivarius***	COLON
Lactobacillus casei	INTESTINO TENUE	***Bifidobacterium lactis, breve, bifidum, infantis***	INTESTINO TENUE
Lactobacillus paracasei	INTESTINO TENUE	***Enterococcus faecium***	GASTRO-DUODENALE

PROPRIETA' PROBIOTICI

Tabella 6. Proprietà benefiche dei probiotici

Inibizione della crescita di batteri patogeni
- riduzione del ph luminale - produzione di batteriocine - resistenza alla colonizzazione - blocco dell'adesione epiteliale
Incremento dell'effetto protettivo di barriera
- produzione di acidi grassi a corta catena SCFA - aumento della produzione di muco - regolazione della permeabilità mucosa - competizione con i siti di adesione dei patogeni e con i recettori delle tossine
Modificazione dell'immunoregolazione
- incremento di IL-10 - incremento della secrezione di IgA
Proprietà fisiologiche
- miglioramento dei processi digestivi - supporto della funzionalità intestinale in caso di alterazione dell'alvo - favoriscono l'assobimento di Ca e altri minerali - stimolano la sintesi di vitamine endogene - promuovono produzione di enzimi come la lattasi - modulano l'assorbimento di colesterolo

ATTIVITA' ANTIOSSIDANTE

Alcuni ceppi batterici come L. *fermentum* sono in grado di **PRODURRE GLUTATIONE**, una delle sostanze con più **ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE** naturalmente presente nel nostro organismo.

There is much information about glutathione (GSH) in eukaryotic cells, but relatively little is known about GSH in prokaryotes. Without GSH and glutathione redox cycle lactic acid bacteria (LAB) cannot protect themselves against reactive oxygen species. Previously we have shown the presence of GSH in *Lactobacillus fermentum* ME-3 (DSM14241). Results of this study show that probiotic *L. fermentum* ME-3 contains both glutathione peroxidase and glutathione reductase. We also present that *L. fermentum* ME-3 can transport GSH from environment and synthesize GSH. This means that it is characterized by a complete glutathione system: synthesis, uptake and redox turnover ability that makes *L. fermentum* ME-3 a perfect protector against oxidative stress. To our best knowledge studies on existence of the complete glutathione system in probiotic LAB strains are still absent and glutathione synthesis in them has not been demonstrated.

Kullisaar T et al, *Complete glutathione system in probiotic Lactobacillus fermentum ME-3,* Prikl Biokhim Mikrobiol. **2010** Sep-Oct;46(5):527-31.

Inoltre è stato dimostrato che la supplementazione con G. *lucidum* e O. *sinensis* **DIMINUISCE LA CONCENTRAZIONE DI DPPH** e quindi **AUMENTA LA CAPACITÀ ANTIOSSIDANTE DELL' ORGANISMO**.

P.Rossi, D.Buonocore, E.Altobelli, F.Brandalise, V.Cesaroni, D.Iozzi, E.Savino, F.Marzatico*. Improving training condition assessment in endurance cyclists: effects of Ganoderma lucidum and Ophiocordyceps sinensis dietary supplementation***,** Evidence-based Complementary and Alternative Medicine - Volume **2014** (2014), Article ID 979613, 11 pages

ATTIVITA' ANTINFIAMMATORIA

- In modelli animali è stata dimostrata la capacità dei probiotici di **MODULARE LA RISPOSTA INFIAMMATORIA** abbassando la produzione di citochine infiammatorie.
- Uno studio di qualche mese fa ha anche dimostrato nei topi che l'esercizio fisico e la supplementazione con *L. plantarum* sono in grado di **SOPPRIMERE LA PRODUZIONE DI TNF-α**, una delle più importanti citochine infiammatorie.

Probiotics are live microorganisms that confer health benefits through the gastrointestinal microbiota. This nutritional supplement may benefit athletes who undergo rigorous training by maintaining their gastrointestinal functions and overall health. In this study the influence of moderate physical exercise using a graded treadmill exercise, alone or in combination with the consumption of a soy product fermented with *Lactobacillus plantarum* LAB12 (LAB12), on tumour necrosis factor alpha (TNF-α) responses was investigated in a murine model. Male BALB/c mice were randomly divided into four groups of six mice each (control, exercise alone, LAB12 and LAB12 + exercise). Mice treated with the potential probiotic LAB12 were orally gavaged for 42 days. At autopsy, blood and spleen from the animals were collected. The splenocytes were cultured in the presence of a mitogen, concanavalin A (Con A). The amount of TNF-α produced by the Con A-stimulated splenocytes was quantified using ELISA, while their proliferation was determined using the [^{3}H]-thymidine incorporation method. This study shows that LAB12-supplemented and exercise-induced mice showed marked increase ($P<0.05$) in cell proliferation compared to the control animals. TNF-α production was suppressed ($P<0.05$) in the LAB12 group compared to the untreated mice. These results demonstrate that supplementation with LAB12 has immunomodulatory effects, under conditions of moderate physical exercise, which may have implications for human athletes. Further investigation in human trials is warranted to confirm and extrapolate these findings.

- **M. Appukutty et al**, *Effect of orally administered soy milk fermented with Lactobacillus plantarum LAB12 and physical exercise on murine immune responses*, Beneficial Microbes Feb **2015**; DOI: 10.3920/BM2014.0129
- **Borchers AT, Selmi C, Meyers FJ, Keen CL, Gershwin ME.** *Probiotics and immunity*. J Gastroenterol. 2009;44:26–46.

DIFESA IMMUNITARIA (1)

La flora intestinale "buona" gioca un **RUOLO ESSENZIALE NEI MECCANISMI DI DIFESA IMMUNITARIA**. In particolare:

- **AUMENTA LA PRODUZIONE E L'EFFICACIA DELLE CELLULE NK, ANCHE IN SOGGETTI FUMATORI**

Nagao F, Nakayama M, Muto T, Okumura K. *Effects of a fermented milk drink containing Lactobacillus casei strain Shirota on the immune system in healthy human subjects,* Biosci Biotechnol Biochem. **2000**; 64:2706–8.

Morimoto K, Takeshita T, Nanno M, Tokudome S, Nakayama K. *Modulation of natural killer cell activity by supplementation of fermented milk containing Lactobacillus casei in habitual smokers*, Prev Med. **2005** ;40:589–94.

Olivares M et al. *The consumption of two new probiotics strains, Lactobacillus gasseri CECT 5714 and Lactobacillus coryniformis CECT 5711, boosts the immune system of healthy humans*. Int Microbiol. **2006** ;9:47–52.

H. Dong et al, *Selective effects of Lactobacillus casei Shirota on T cell activation, natural killer cell activity and cytokine production***,** Clinical and Experimental Immunology, **2010**; 1365-2249.

- **AUMENTA L'EFFICACIA DI AZIONE DEI MONOCITI**

Parra MD, Martinez de Morentin BE, Cobo JM, Mateos A, Martinez JA. *Daily ingestion of fermented milk containing Lactobacillus casei DN114001 improves innate-defense capacity in healthy middle-aged people*. J Physiol Biochem. **2004** ;60:85–91.

DIFESA IMMUNITARIA (2)

- **IN MODELLI ANIMALI AUMENTA LA RESISTENZA VERSO IL VIRUS DELL'INFLUENZA**

Hori T, Kiyoshima J, Shida K, Yasui H. *Augmentation of cellular immunity and reduction of influenza virus titer in aged mice fed Lactobacillus casei strain Shirota*. Clin Diagn Lab Immunol. **2002** ; 9:105–8.

- **MODULA LA RISPOSTA IMMUNITARIA** grazie allo sviluppo e al mantenimento di una **CORRETTA BARRIERA INTESTINALE**

Caricilli A. et al., *Intestinal barrier: A gentlemen's agreement between microbiota and immunity, World J Gastrointest Pathophysiol* ***2014*** *February 15; 5(1): 18-32*

EQUILIBRIO PSICO-FISICO

- Numerosi studi dimostrano la relazione tra un **DIMINUITO INTROITO DI SEROTONINA AL CERVELLO E ALTERAZIONI DELL'UMORE**, come ansia e depressione.

- Il **95% della SEROTONINA** è prodotta dalle **CELLULE ENTEROCROMAFFINI** presenti nel nostro intestino.

- Un recente studio pubblicato su CELL dimostra la relazione tra **MICROBIOTA E REGOLAZIONE DELLA PRODUZIONE DI SEROTONINA**

The gastrointestinal (GI) tract contains much of the body's serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT), but mechanisms controlling the metabolism of gut-derived 5-HT remain unclear. Here, we demonstrate that the microbiota plays a critical role in regulating host 5-HT. Indigenous spore-forming bacteria (Sp) from the mouse and human microbiota promote 5-HT biosynthesis from colonic enterochromaffin cells (ECs), which supply 5-HT to the mucosa, lumen, and circulating platelets. Importantly, microbiota-dependent effects on gut 5-HT significantly impact host physiology, modulating GI motility and platelet function. We identify select fecal metabolites that are increased by Sp and that elevate 5-HT in chromaffin cell cultures, suggesting direct metabolic signaling of gut microbes to ECs. Furthermore, elevating luminal concentrations of particular microbial metabolites increases colonic and blood 5-HT in germ-free mice. Altogether, these findings demonstrate that Sp are important modulators of host 5-HT and further highlight a key role for host-microbiota interactions in regulating fundamental 5-HT-related biological processes.

Jessica M. Yano et al, *Indigenous Bacteria from the Gut Microbiota Regulate Host Serotonin Biosynthesis,* **Cell** Volume 161, Issue 2, **9 April 2015**, Pages 264–276

Dalla dieta all' epigenetica passando dal microbiota.

Giuseppe Di Fede

Direttore Sanitario I.M.Bio Istituto di Medicina Biologica Milano

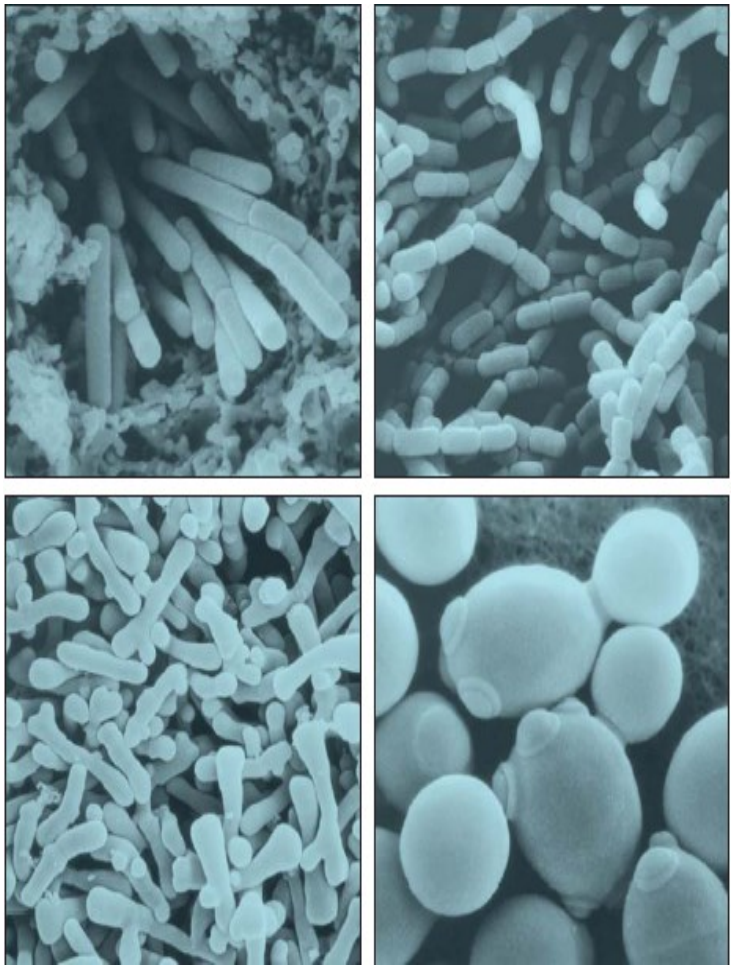
e

Istituto Medicina Genetica Preventiva I.M.G.E.P Milano;

Docente nel Master di Nutrizione Umana c/o Univ. Pavia;

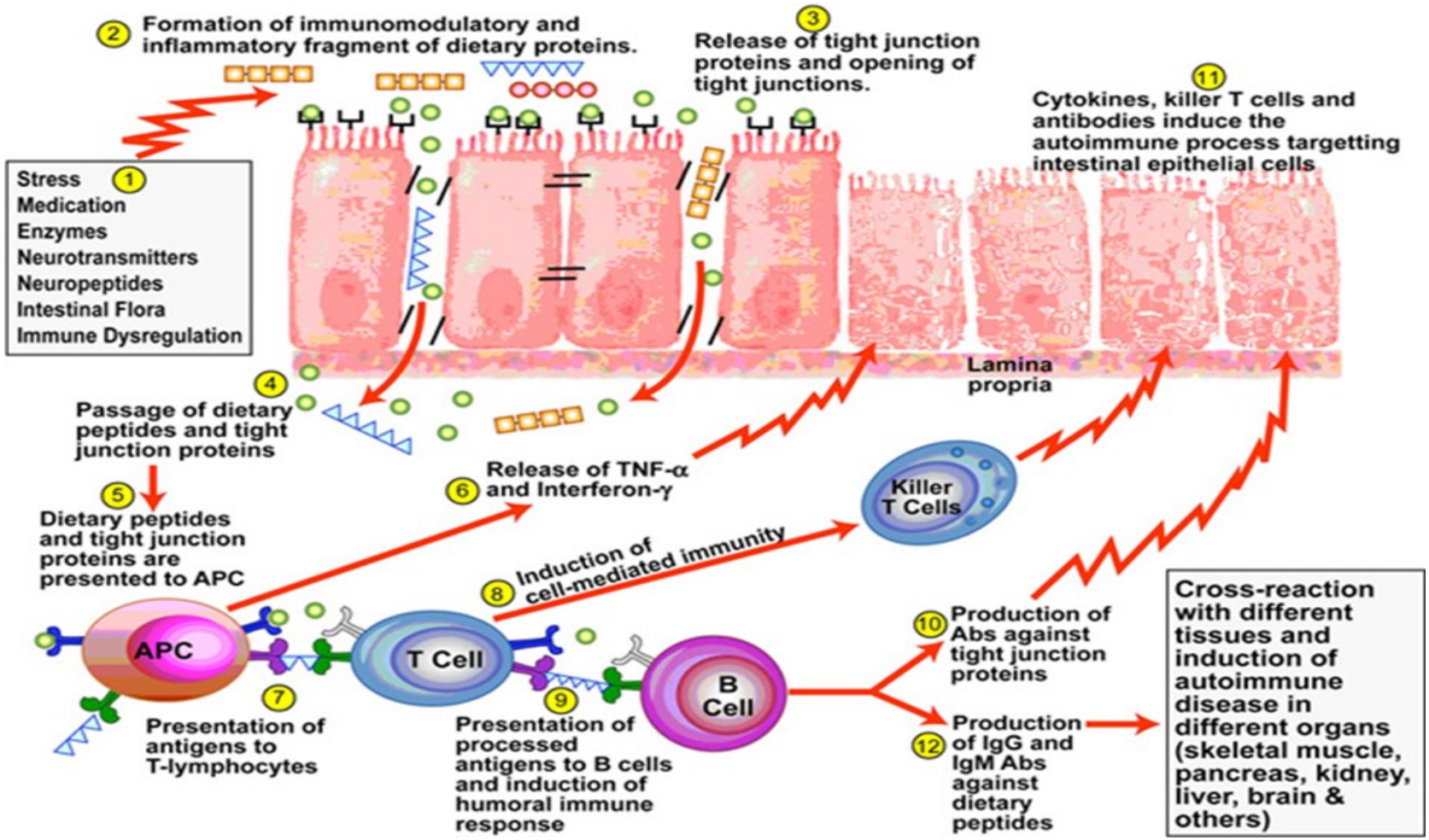
Milano, 30 settembre 2017

DISBIOSI INTESTINALE



ALTERAZIONE DEL NORMALE EQUILIBRIO DELL' ECOSISTEMA MICROBICO INTESTINALE

Drasar B.S. "Intestinal Microbiology". American Society for Microbiology, Washington, 1985



Stress, sostanze tossiche, disbiosi, etc → Flogosi cronica e rottura T.J. → Penetrazione anomale delle macromolecole → Riconoscimento da parte dell' APC che innesca una serie di reazioni patologiche

ETIOPATOGENESI

Fenomeni Fermentativi
Streptococchi, Lactobacilli
Bifidobatteri

Fenomeni Putrefattivi
E. Coli, Klebsiella, Proteus
Clostridi

Sostanze Tossiche

Comparsa di Processi Patologici

GRAVITA' DELLA DISBIOSI

- **DISBIOSI LIEVE**: in questa situazione si hanno **RIPERCUSSIONI SOLO A LIVELLO GASTROENTERICO** con fenomeni di **GONFIORE, AEROFAGIA, METEORISMO, FECI POCO FORMATE ALTERNATE A STIPSI, SPASMI**, etc;

- **DISBIOSI MEDIA**: in questa fase si ha **ANCHE IL COINVOLGIMENTO DELL'APPARATO UROGENITALE** con fenomeni associati quali **MICOSI INTESTINALI, CANDIDOSI VAGINALE, CISTITI CRONICHE, PROSTATITI CRONICHE**;

- **DISBIOSI GRAVE**: condizione durante la quale si verifica **DISSEMINAZIONE TOSSINICA A CARICO DI QUASI TUTTI GLI ORGANI ED APPARATI** con **ABBASSAMENTO DELLE DIFESE IMMUNITARIE, AFFEZIONI CUTANEE, CEFALEA FRONTALE, INVECCHIAMENTO DELLA PELLE, STANCHEZZA CRONICA, ANSIA, DEPRESSIONE, DOLORI ARTICOLARI**.

Hawrelak JA et Al, *The cause of intestinal dysbiosis: a review*. Altern Med Rev **2004**; 9: 180-197
Guarner F et Al, *Gut flora in health and disease*. Lancet 2003; 360: 512-519

REAZIONI AVVERSE AGLI ALIMENTI
FATTORI FAVORENTI

PREDISPOSIZIONE

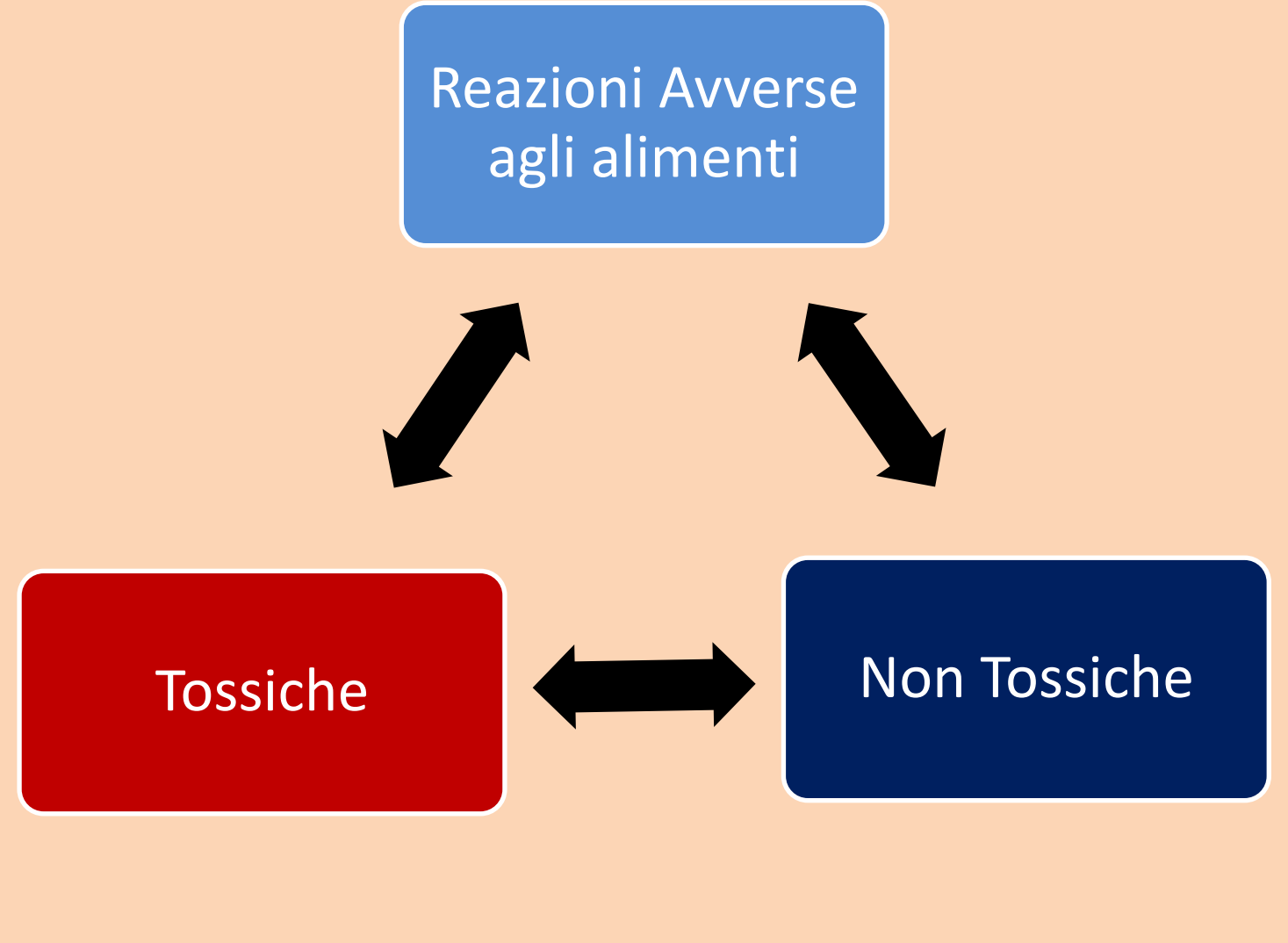
MICROAMBIENTE INTESTINALE

PREDISPOSIZIONE

- Familiarità
- Alterazioni genetiche

MICROAMBIENTE INTESTINALE

- Deficit Ab locale
- Alterazioni della Mucosa
- Alterazioni della Flora Batterica
- Immaturità della Mucosa


Reazioni Avverse agli alimenti
Tossiche
Non Tossiche

REAZIONI NON TOSSICHE

IMMUNOMEDIATE

NON IMMUNOMEDIATE

REAZIONI IMMUNOMEDIATE
ALLERGIE ALIMENTARI

ALLERGIE ALIMENTARI IGE MEDIATE

ALLERGIE ALIMENTARI NON IGE MEDIATE

(IC, cellulo-mediate, da Ab non IgE, IMMUNITA' INNATA)

REAZIONI NON IMMUNOMEDIATE
INTOLLERANZE ALIMENTARI

DEFICIT ENZIMATICO

PROPRIETÀ FARMACOLOGICHE

IDIOSINCRASIA

FOOD ALLERGY OR HYPERSENSITIVITY

- REAZIONI IMMUNO-MEDIATE
- IGE
- NON-IGE; TH

INTOLLERANZE

FOOD INTOLERANCE

- NON IMMUNO-MEDIATE
- ENZIMATICHE
  - AL LATTOSIO
- FARMACOLOGICHE

FOOD AVERSION

SU BASE PSICHICA COSCIENTE

TIPICI FATTORI CONFONDENTI IL QUADRO CLINICO DELL'INTOLLERANZA ALL'ISTAMINA

Intolleranza al lattosio

Reflusso GE

Gastrite iperemica

Colon irritabile

Diverticolosi

Sindrome da ipersensibilità sistemica al nickel

HISTAMINE INTAKE

HISTAMINE CATABOLISM

DIAMINOXIDASE (DAO) (75%)

HISTAMINE N-METHYL TRANSFERASE (HNMT) (25%)

This **altered balance** between histamine production and catabolism can follow ingestion of

HISTAMINE-RICH FOOD
DRUGS RELEASING HISTAMINE

DRUGS BLOCKING DIAMINOXIDASE

CRITERI DIAGNOSTICI DELL' INTOLLERANZA ALL' ISTAMINA

- **SINTOMI TIPICI**
- **RISPOSTA ALLA DIETA DI LIMITAZIONE**
- **RIDUZIONE DELLA DAO SIERICA**

In alcuni pazienti i sintomi di intolleranza all'istamina sono scatenati o aggravati da alcuni farmaci o categorie eterogenee di farmaci.

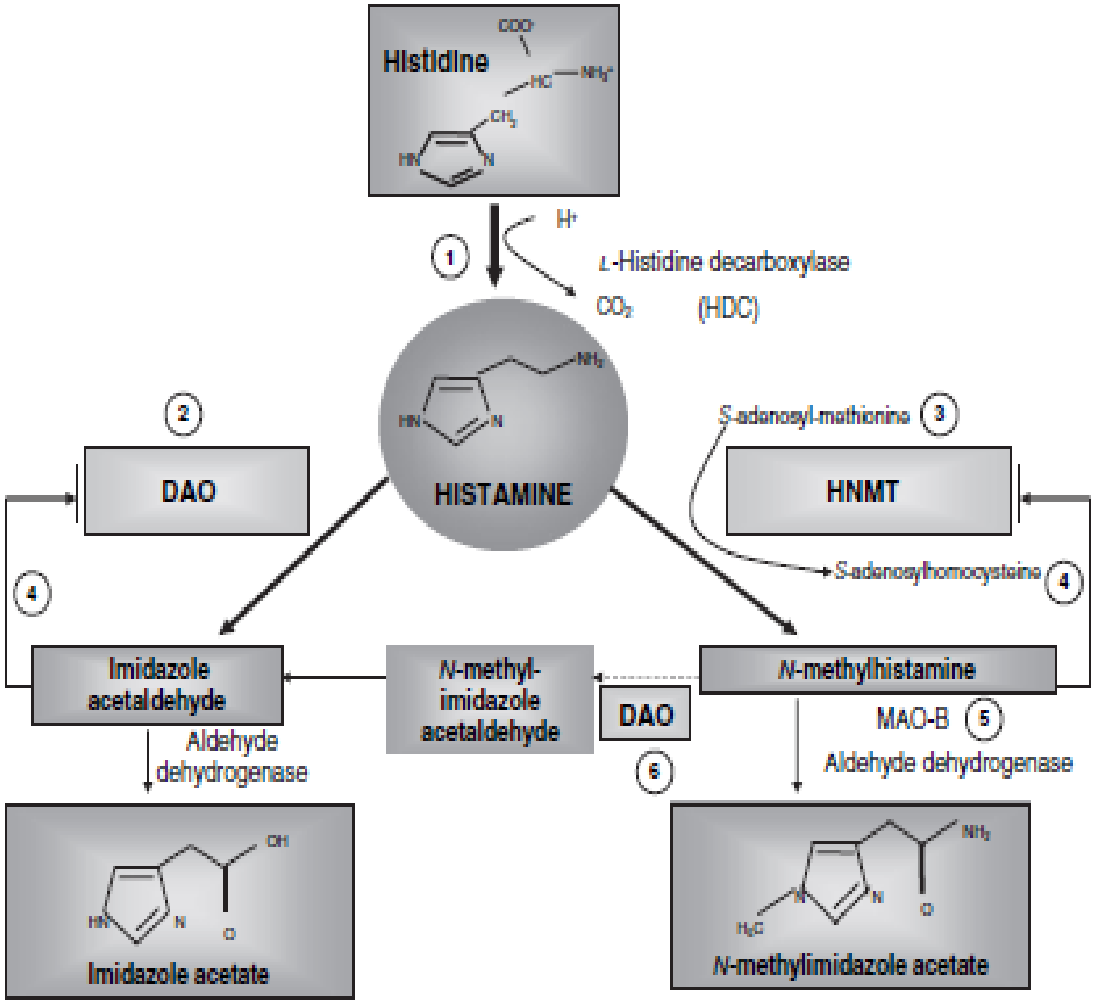


FIGURE 2. Summary of the histamine metabolism. The biogenic amine histamine is synthesized by decarboxylation of the amino acid histidine catalyzed by L-histidine decarboxylase (HDC) (1). Histamine can be metabolized by extracellular oxidative deamination of the primary amino group by diamine oxidase (DAO) (2) or intracellular methylation of the imidazole ring by histamine-*N*-methyltransferase (HNMT) (3). Therefore, insufficient enzyme activity caused by enzyme deficiency or inhibition may lead to accumulation of histamine. Both enzymes can be inhibited by their respective reaction products in a negative feedbackloop (4). *N*-Methylhistamine is oxidatively deaminated to *N*-methyl-imidazole acetaldehyde by monoamine oxidase B (MAO B) (5) or by DAO (6). Because the methylation pathway takes place in the cytosolic compartment of cells, MAO B (5) has been suggested to catalyze this reaction in vivo (35).

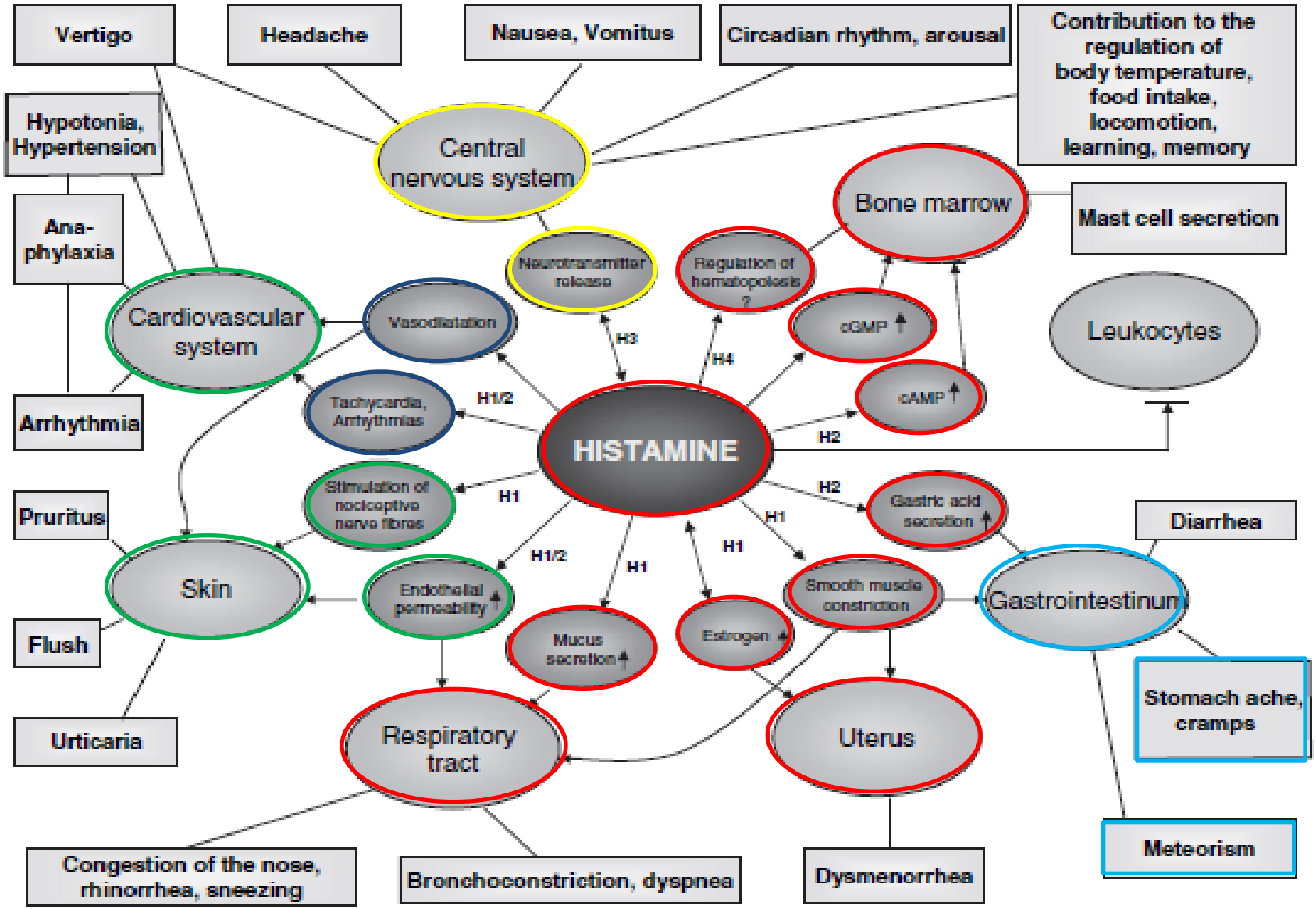
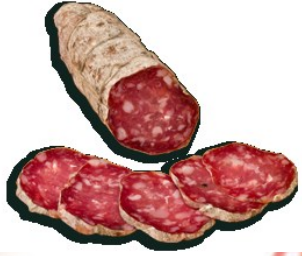


FIGURE 1. Summary of histamine-mediated symptoms. Adapted with permission from Maintz L et al. Dtsch Artzebl 2006;103:A3477-83.

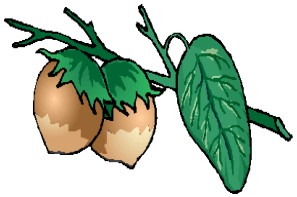


ISTAMINA	• **<u>VERDURE</u>: crauti, melanzana, patata (e fecola di patata), pomodoro (compreso ketchup e succo di pomodoro), spinaci.** • **<u>LEGUMI</u>: tutti i legumi (ceci, fagioli, fave, lenticchie, piselli, salsa di soia e cibi a base di soia, etc).** • **<u>PESCE</u>: alici, aringhe, crostacei, frutti di mare, molluschi, salmone, salse a base di pesce, sardine.** • **<u>FRUTTA</u>: ananas, avocado, banana, fragole, kiwi, lampone, papaia, pera, pompelmo.** • **<u>FRUTTA SECCA</u>: arachidi, frutta disidratata, noci, mandorle.** • **<u>ALTRO</u>: albume, bevande alcoliche e/o fermentate (birra, vino), cibi in scatola, cioccolato, derivati della Cola, fegato di maiale, formaggi stagionati, germe di frumento, insaccati (salame, mortadella), prosciutto.**

Allergeni alimentari intrinseci

ARACHIDI

SOIA

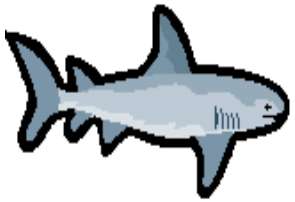


FRUTTA SECCA

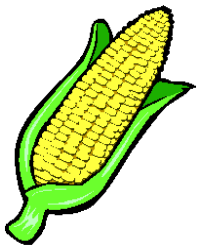
FRUMENTO

UOVA

OVOMICOIDE;
OVOALBUMINA;
OVOTRASFERRINA



Pesce e molluschi



Mais

LATTE

CASEINE,
B-LATTOGLOBULINA,
SIEROALBUMINA,
IMMUNOGLOBULINE

ADDITIVI ALIMENTARI O CONTAMINANTI

SALICILATI

FRUTTA SECCA, OLIVE, ARANCE, ALBICOCCHE, UVA, ERBE AROMATICHE, VINI

GIALLO TARTRAZINA (E102)

BEVANDE, SALSE CONFEZIONATE, BUDINI

GLUTAMMATI (DA E620 A E623)

PATATINE, KETCHUP, INSACCATI, DADI

ANIDRIDE SOLFOROSA (E220)

MARMELLATE, SUCCHI, MACEDONIE E INSALATE TRATTATE CON SPRAY

NITRATI

INSACCATI, CARNI. TIRAMINA COMPONENTE NATURTALE DI FORMAGGI, CIOCCOLATO, BANANE

SOLFITI, METABISOLFITI E BISOLFITI (DA E221 A E227)

CIBI PRECONFEZIONATI

REAZIONI AVVERSE AGLI ALIMENTI ALLERGENI

GLI ALLERGENI PIÙ FREQUENTEMENTE IMPLICATI SONO RAPPRESENTATI DA:

- **PESCE (PAESI SCANDINAVI)**
- **ARACHIDI (USA)**
- **CROSTACEI E MOLLUSCHI (PAESI MEDITERRANEI)**
- **LUMACHE (PORTOGALLO)**
- **SEDANO (SVIZZERA)**
- **MELA, PESCA, KIWI, NOCI, ARACHIDI, POMODORI (ITALIA)**

FATTORI DI RISCHIO

Ereditarietà

L' ATOPIA (TENDENZA A SVILUPPARE REAZIONI IGE-MEDIATE) HA UNA INCIDENZA SUPERIORE NELLE FAMIGLIE CON SOGGETTI ALLERGICI

ESPOSIZIONE RIPETUTA ALL' ANTIGENE

ALLERGIA ALIMENTARE

PERMEBILITÀ GASTRO-INTESTINALE

FATTORI AMBIENTALI

LA CO-ESPOSIZIONE POTENZIA LA MANIFESTAZIONE E ALCUNI SOGGETTI ALLERGICI HANNO SINTOMI PIÙ EVIDENTI IN ALCUNE STAGIONI. **ALTRI FATTORI POSSONO ESSERE FUMO – SMOG – STRESS – ESERCIZIO FISICO**

Classificazione secondo Società *Statunitense di Allergologia*

- ALLERGIE ALIMENTARI propriamente dette: Reazione immediata, fenomeni IgE mediati.
- PSEUDOALLERGIE: Deficit enzimatici (favismo, Galattosemia).
- IPERSENSIBILITA': Alimenti che liberano istamina (cacao, vino rosso).
- REAZIONI TOSSICHE: Avvelenamento da funghi, botulismo.
- INTOLLERANZE ALIMENTARI**:** casi in cui, eliminando completamente un cibo si verifica la remissione del sintomo o della malattia.

Definizione riduttiva ?

INTOLLERANZE ALIMENTARI

- rappresentano la reazione cronica ad alimenti assunti frequentemente

- la manifestazione da esse determinata non è in stretta relazione al momento dell'assunzione (72 h)

- i sintomi non sono proporzionali alla quantità dell'alimento assunto, quindi non sono dose-dipendenti

- sono frequenti cross-reazioni tra alimenti della stessa famiglia biologica

DIFFERENZA ALLERGIE/INTOLLERANZE

ALLERGIA *(2%)**

- IgE mediata
- E' immediata: compare nel giro di pochi minuti
- NON DOSE-dipendente

INTOLLERANZA *(50-60%) **

- Mediata dallo stimolo cellulare su cellule Th2 intestinali (IMMUNITA' CELLULARE), non IgE mediate (IMMUNITA' INNATA)
- Lenta e non eclatante insorge ore o giorni dopo l'assunzione della sostanza
- DOSE-dipendente, assunzione ripetuta della sostanza per più giorni (intossicazione progressiva)

La **persistenza di un'intolleranza**, se trascurata **crea numerosi sintomi del tutto simili a quelli di un' allergia** ma che non risultano ad alcun test che si basi sull'identificazione delle IgE.

Intolleranze Alimentari
SINTOMATOLOGIA

DISTURBI NEUROLOGICI

- **CEFALEA, VERTIGINI, IPEREATTIVITÀ, SVOGLIATEZZA.**

Intolleranze Alimentari
SINTOMATOLOGIA

DISTURBI GASTROINTESTINALI

NAUSEA, VOMITO, STIPSI, DIARREA, MALASSORBIMENTO, DOLORE ADDOMINALE.

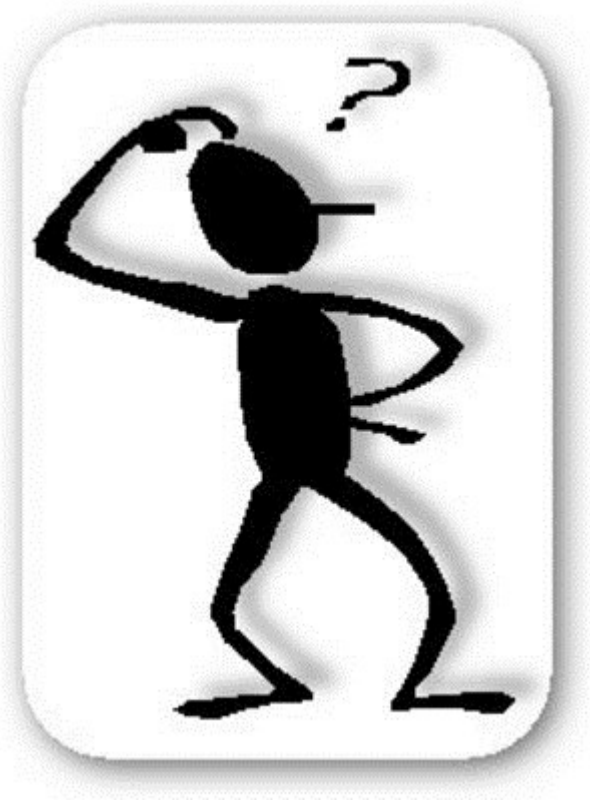
DISTURBI DERMATOLOGICI

ECZEMA, PRURITO, ORTICARIA, PSORIASI, ACNE.

DISTURBI RESPIRATORI

RINITE, SINUSITE, ASMA

Quando sospettare un'intolleranza?



MARCATORI BIOUMORALI

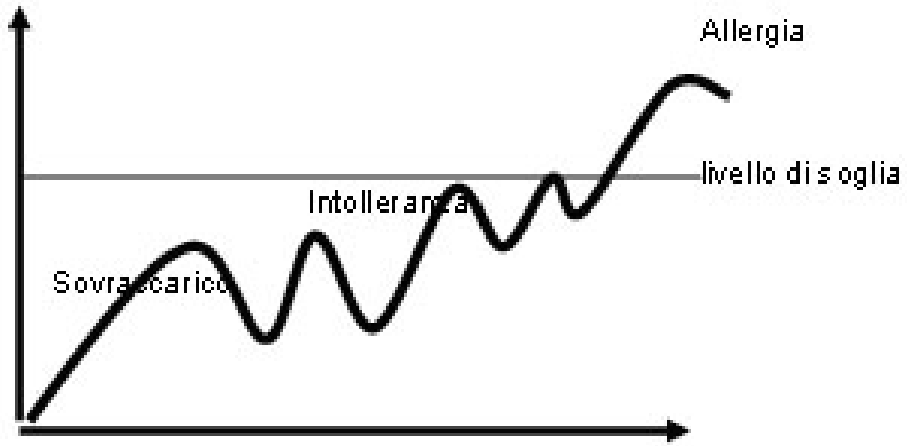
- Emocromo con formula leucocitaria invertita. (aumento dei linfociti e riduzione dei granulociti in assenza di infezioni in corso). Normalmente i granulociti sono maggiori dei linfociti).

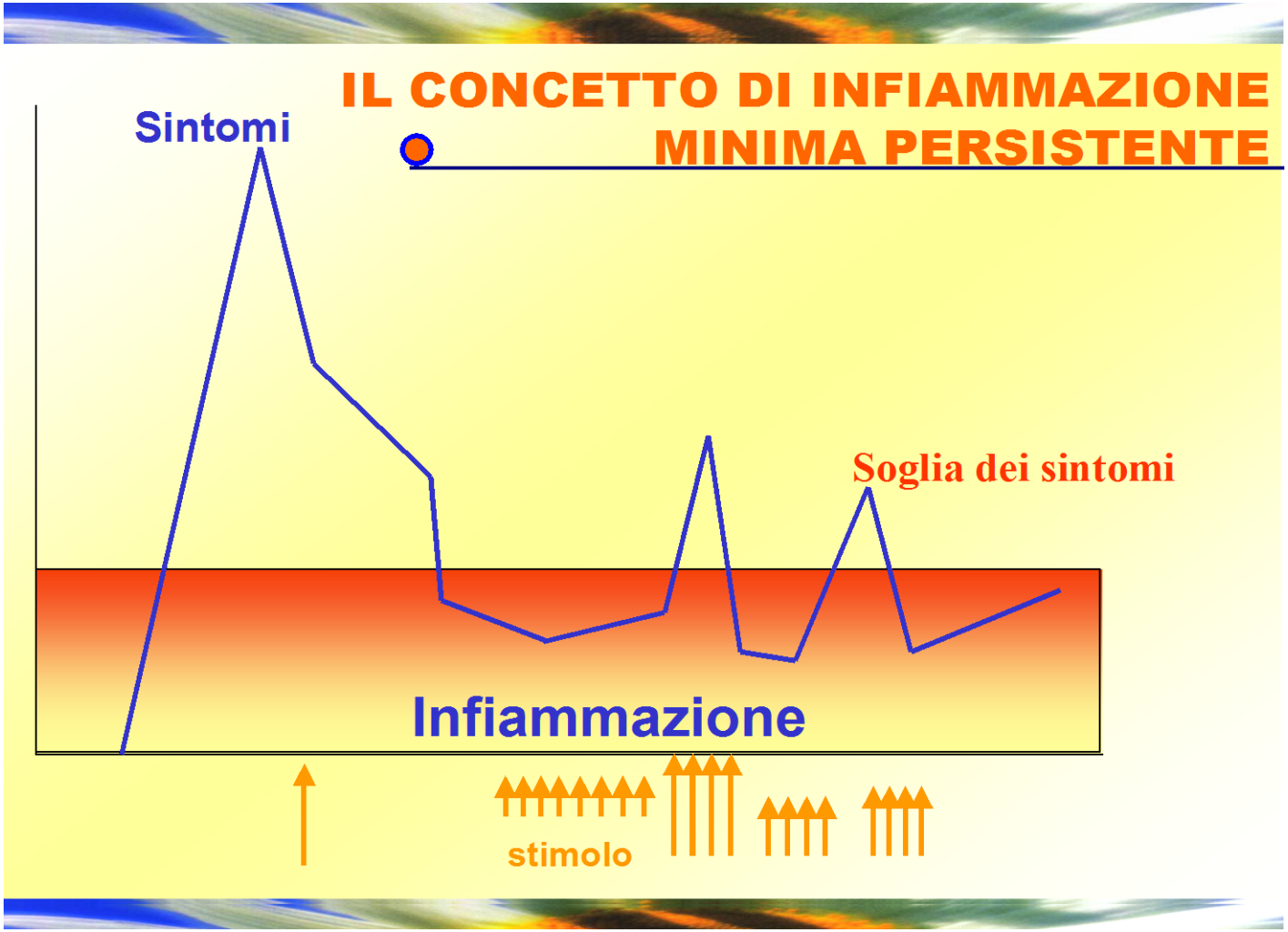
- C3 e C4 ridotti (perché vanno incontro a consumo)

- BETA 2 microglobulina aumentata (flogosi, per aumento dei linfociti)

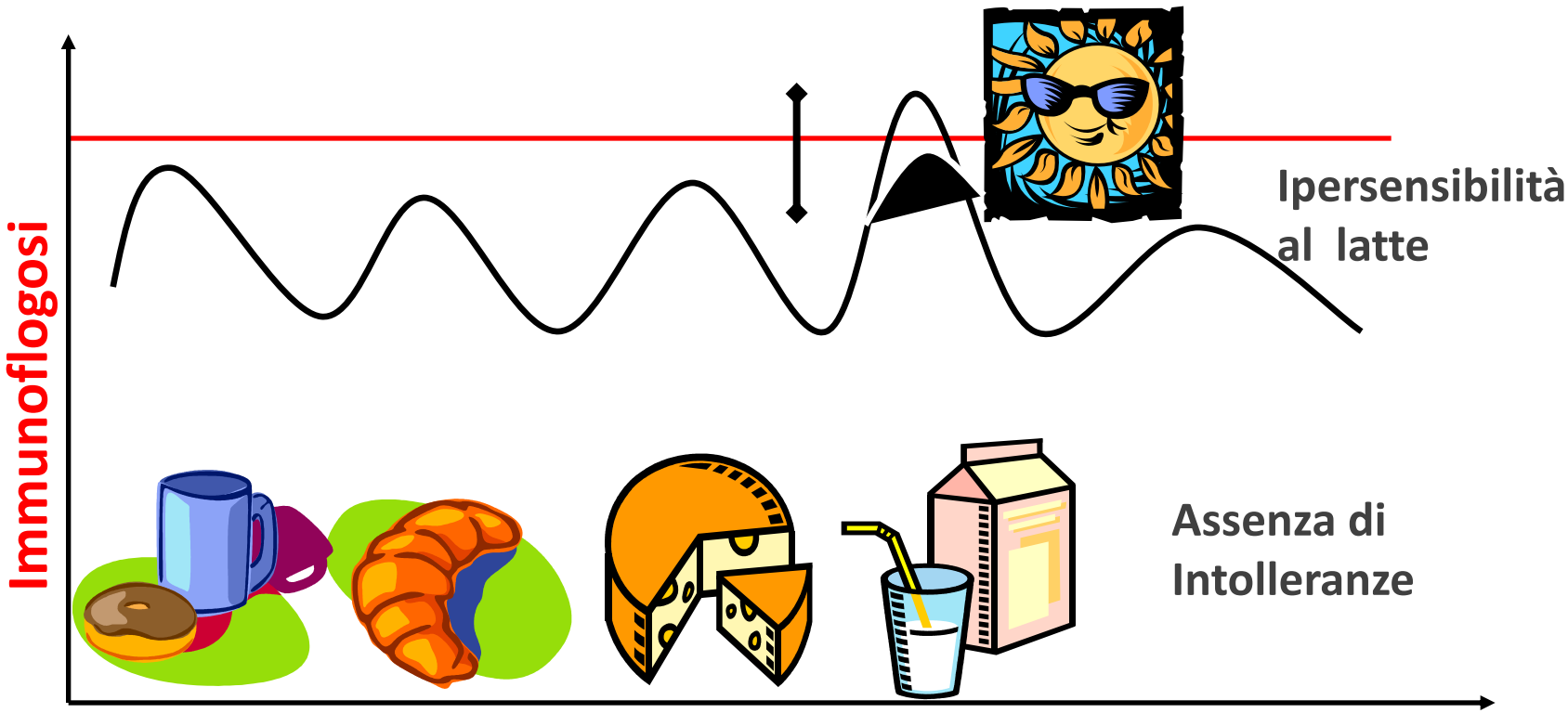
- NEGATIVITA' di ANA**, IgE**, ENA, TGA, EMA, ANCA, Reuma Test, Waaler Roose.

Livello di soglia




IL CONCETTO DI INFIAMMAZIONE
MINIMA PERSISTENTE
Sintomi
Soglia dei sintomi
Infiammazione
stimolo

INFIAMMAZIONE: CONCAUSA DI ALLERGIA E IPERSENSIBILITÀ O INTOLLERANZA



IMBIO Lab

Istituto di Medicina Biologica S.r.l. - Dir. San. Prof. Giuseppe Di Fede
Via Molino delle Armi 3, Milano. www.imbio.it e-mail: segreteria@imgep.com

IMBIO Istituto di Medicina Biologica

MODULAZIONE DEL LIVELLO DI SOGLIA

- Felicità- Benessere
- Mn, Zn, Cu, Li
- attività fisica moderata

SOGLIA

- Inquinamento
- Virus
- Farmaci
- Rabbia/delusione
- Assenza di Zn e Cu
- Intake di Calcio
- Attività fisica assente o eccessiva

- Intolleranze
- Danger of vitality
- allergie
- cibi ricchi di istamina

Nessun cibo è cattivo in sé ad eccezione dei **«cibi spazzatura»** di cui l'uomo occidentale troppo spesso si ciba.

È l'**assunzione reiterata di certe sostanze** (spesso presenti a nostra insaputa in cibi diversi) a causare quel sovraccarico alla base dell'insorgenza delle intolleranze.

I TEST SULLE INTOLLERANZE SONO TUTTI UGUALI?

Professor W.T. Kniker, Direttore della Clinica Immunologica, Dipartimento di Pediatria dell'Università del Texas Health Science Center di San Antonio

Il test diagnostico ideale per individuare le reazioni verso gli alimenti dovrebbe possedere alcune caratteristiche:

- **Dovrebbe essere semplice, conveniente, non traumatico e fornire i risultati in tempi brevi.**

- **Dovrebbe individuare i soggetti reattivi ad in modo affidabile, con pochi risultati "falsi positivi" o "falsi negativi".**

- **Dovrebbe virtualmente identificare per ogni paziente tutti i principali alimenti positivi e la maggior parte di quelli secondari.**

THE ALCAT®
DIAGNOSTIC SYSTEM

ANTIGEN LEUKOCYTE CELLULAR ANTIBODY TEST

IMBIO Lab

Istituto di Medicina Biologica S.r.l. - Dir. San. Prof. Giuseppe Di Fede
Via Molino delle Armi 3, Milano. www.imbio.it e-mail: segreteria@imgep.com

IMBIO
Istituto di Medicina Biologica

DIAGNOSI INTOLLERANZE

INTOLLERANZE ALIMENTARI:

casi in cui, eliminando completamente

un cibo si verifica la remissione del sintomo o della malattia.

GOLD STANDARD

Lo standard diagnostico “per eccellenza”, l’ unico scientificamente validato, è quello della stimolazione sistemica orale dopo una dieta di eliminazione, utilizzando sia la tecnica a singolo cieco, sia quella a doppio cieco.

ALCAT TEST® ITALIA

- APPROVATO FDA, MARCHIO CE
- POLICLINICO SAN MATTEO DI PAVIA
- SEMPLICE, INTUITIVO, RAPIDO
- AUTOMATIZZATO, NO ERRORE
- CORRELAZIONE Gold Standard

ANTIGEN LEUCOCYTE CELLULAR ANTIBODY TEST THE ALCAT DIAGNOSTIC SYSTEM

L' INDAGINE DI LABORATORIO

AUTOMATIZZATA E

STANDARDIZZATA

PER **L' INDIVIDUAZIONE DELLE**

REAZIONI AVVERSE AGLI

ALIMENTI

NON IgE MEDIATE

IMBIO Lab

Istituto di Medicina Biologica S.r.l. - Dir. San. Prof. Giuseppe Di Fede
Via Molino delle Armi 3, Milano. www.imbio.it e-mail: segreteria@imgep.com

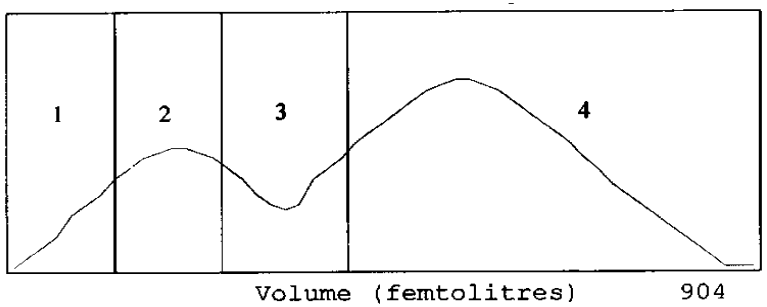
IMBIO
Istituto di Medicina Biologica

IL SISTEMA DIAGNOSTICO ALCAT
L'ELABORAZIONE DEI DATI

Robocat II ha in dotazione un software dedicato per il controllo, l'elaborazione e l'archiviazione dei dati.

Per ciascun analita viene costruito uno specifico istogramma che viene confrontato con l'istogramma di controllo derivato dagli standards.

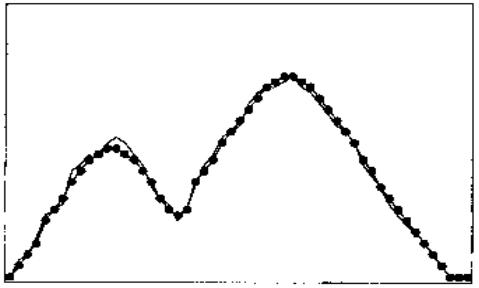
Istogramma di controllo



Conta cellulare di controllo: 4529

1. Area della curva in cui si può osservare un'AGGREGAZIONE PIASTRINICA
2. Regione del LINFOCITI
3 .Regione della popolazione a CELLULE MISTE
4 .Regione dei GRANULOCITI

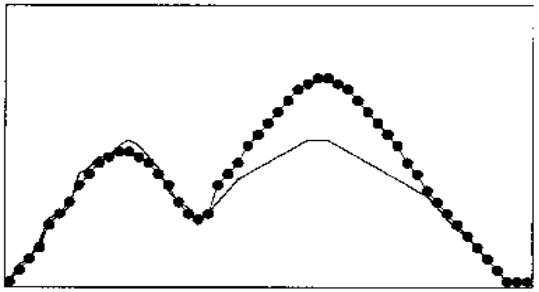
Negativo



Conta controllo:4529
Conta campione:4552

Nessuna reazione

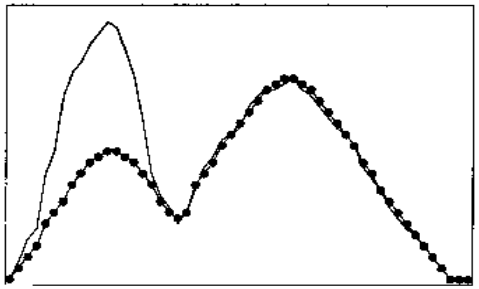
Perdita cellulare



Conta controllo:4529
Conta campione:4012

Riduzione numero granulociti

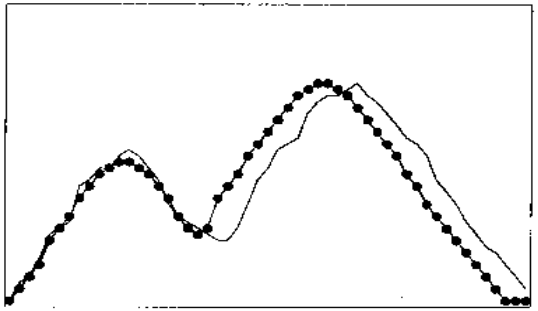
Picco piastrinico



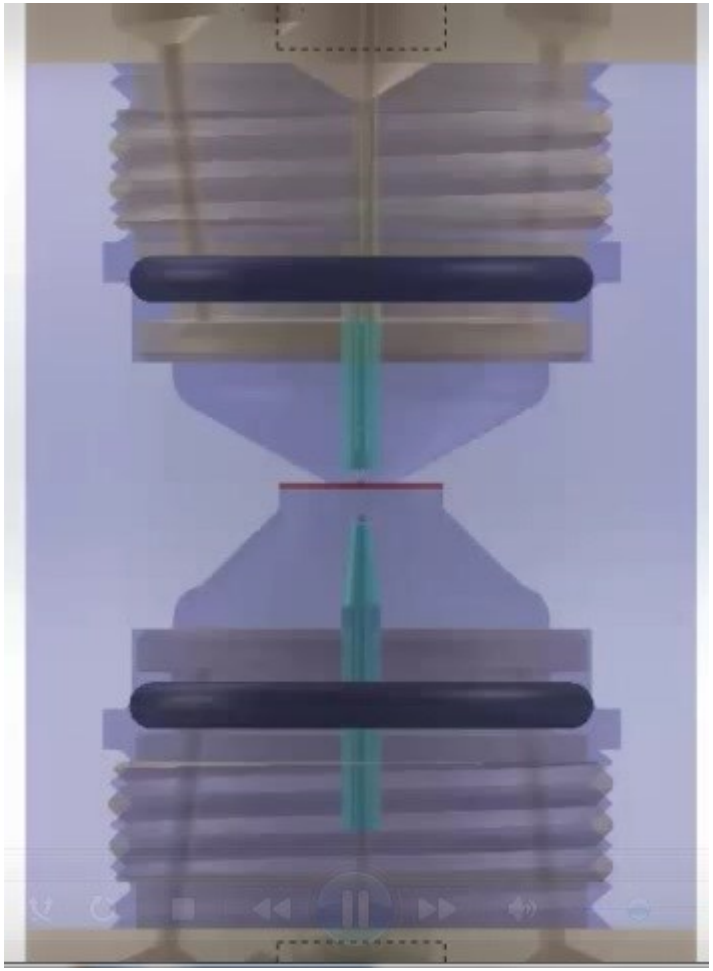
Conta controllo:4529
Conta campione:5439

Aggregazione piastrinica

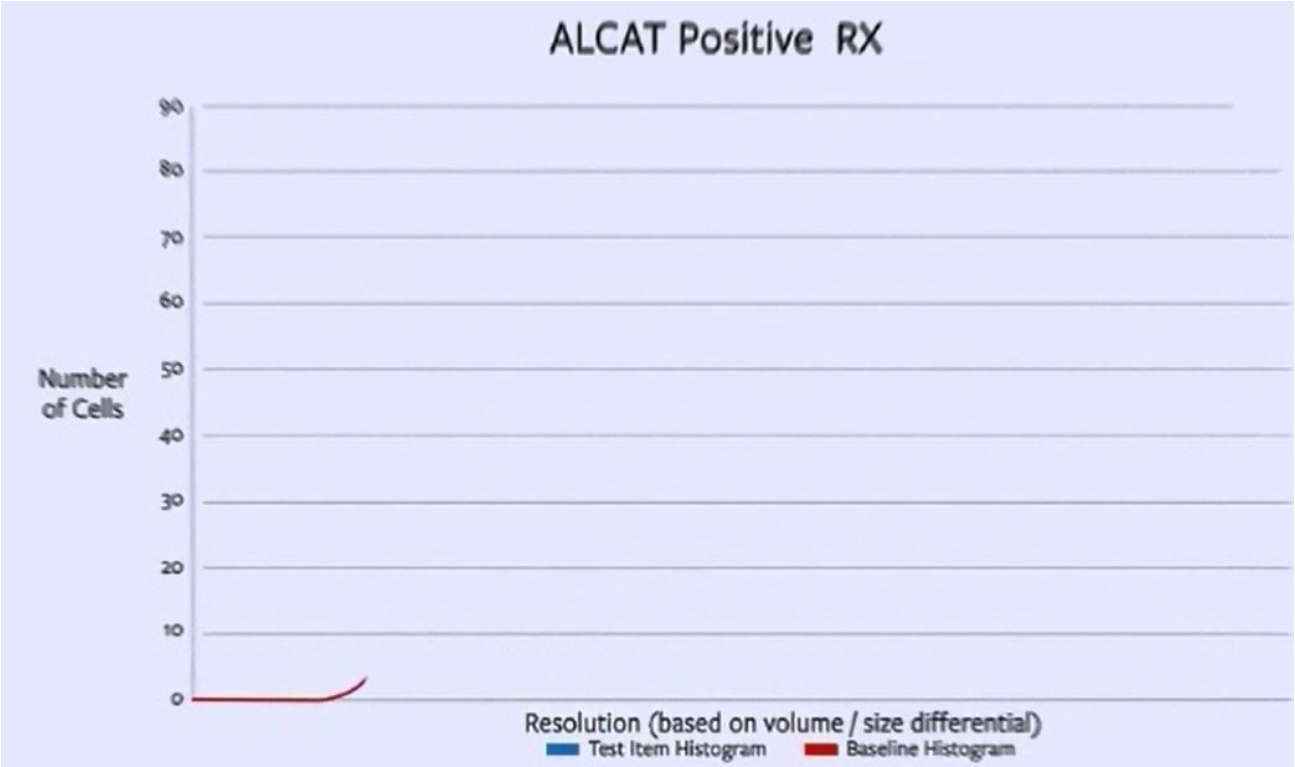
Positivo



Conta controllo:4529
Conta campione:4512
Spostamento picco granulociti
(variazione del volume/forma)



flowcell.wmv

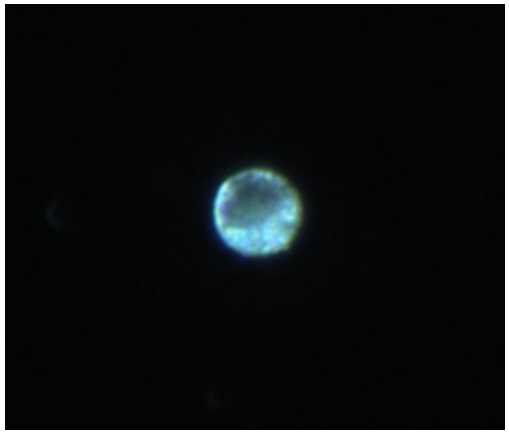


histogramBuild.wmv

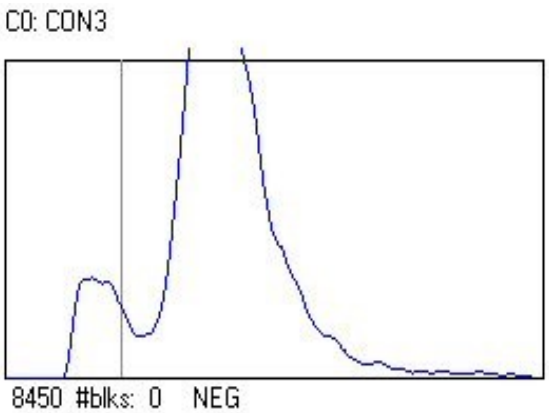
POLYMORPHONUCLEAR CELLS (PMN) REACTIVITY WHEN EXPOSED TO ALCAT TEST AGENT

Following are images showing some examples of the changes seen for PMN cells when exposed to an ALCAT Test agent. (Control, Barley and Lamb). All cell images were taken at the same magnification

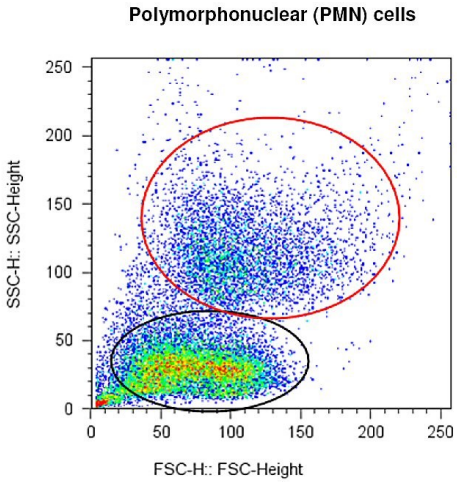
IN THE CONTROL WELL (ABOVE), THE CELLS STAYED ROUND, NON-REACTIVE AND WERE SIZED AND COUNTED TO FORMULATE THE CONTROL GRAPH – CON3



PMN Cell observed in the Control Well by CytoViva Microscopy



CONTROL GRAPH (Analyzed with the Robocat II)



PMN Cells in the Control Well analyzed by FACSCalibur flow cytometry

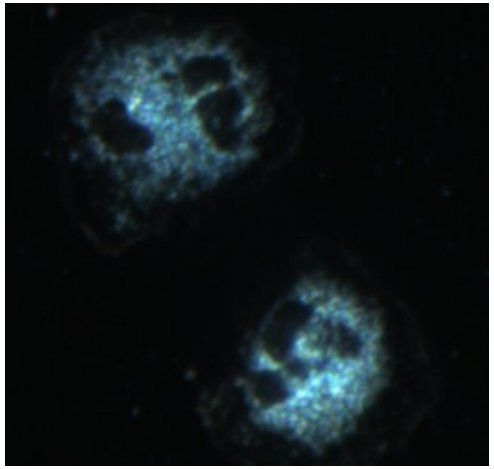
IMBIO Lab

Istituto di Medicina Biologica S.r.l. - Dir. San. Prof. Giuseppe Di Fede
Via Molino delle Armi 3, Milano. www.imbio.it e-mail: segreteria@imgep.com

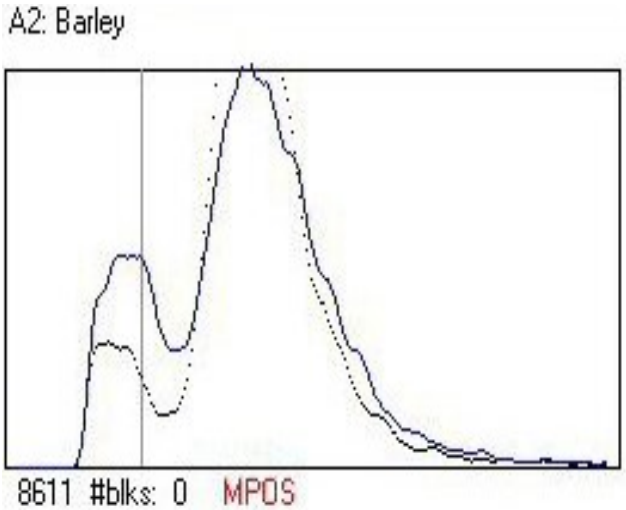
IMBIO Istituto di Medicina Biologica

POLYMORPHONUCLEAR CELLS (PMN) REACTIVITY WHEN EXPOSED TO ALCAT TEST AGENT

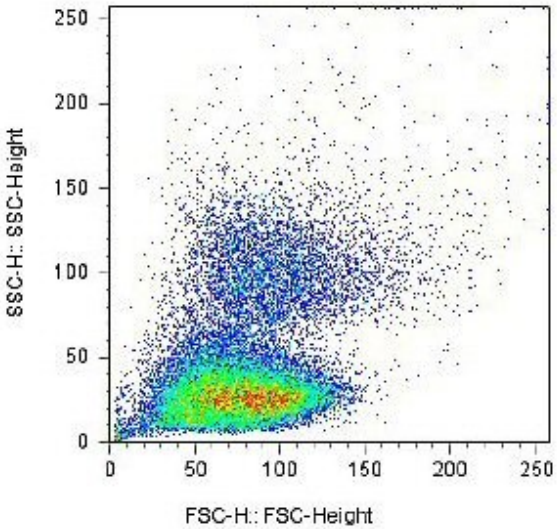
IN THE BARLEY TEST WELL (ABOVE), THE PMN CELLS BECAME ENLARGED AND ADHERENT TO THE SLIDE. THERE WAS SIGNIFICANT MOVEMENT OF GRANULES IN THE PMN CELLS EXPOSED TO ANTIGEN.



Pmn cells observed in the barley well using cytoviva microscopy



BARLEY RX GRAPH (Analyzed with the Robocat II) plotted against the CONTROL GRAPH



PMN Cells in the Barley Well analyzed by FACSCalibur flow cytometry

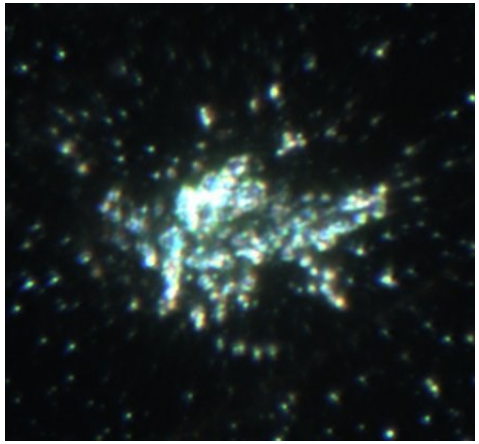
IMBIO Lab

Istituto di Medicina Biologica S.r.l. - Dir. San. Prof. Giuseppe Di Fede
Via Molino delle Armi 3, Milano. www.imbio.it e-mail: segreteria@imgep.com

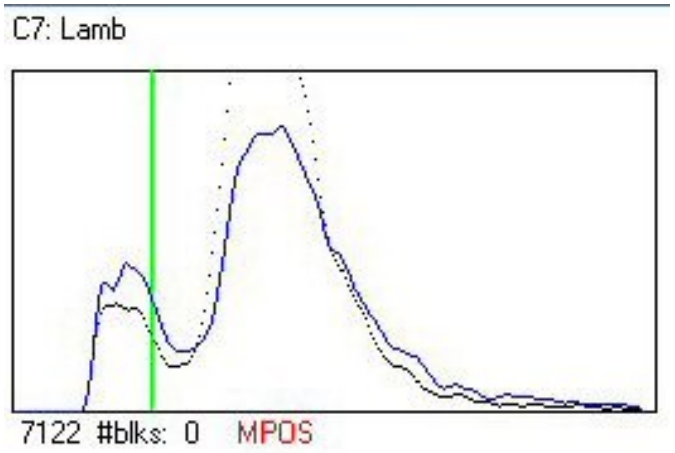
IMBIO Istituto di Medicina Biologica

POLYMORPHONUCLEAR CELLS (PMN) REACTIVITY WHEN EXPOSED TO ALCAT TEST AGENT

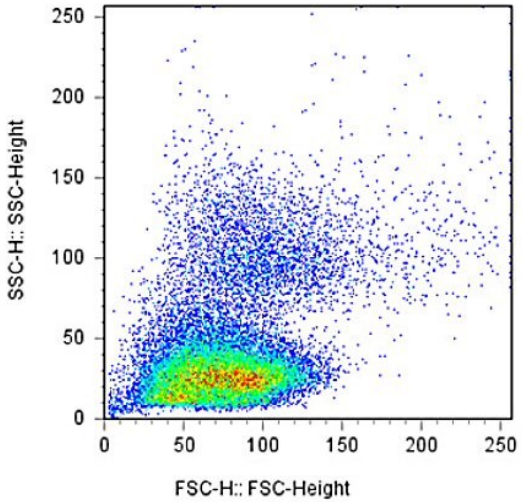
IN THE LAMB TEST WELL (ABOVE), THE PMN CELLS ALSO BECAME ENLARGED AND ADHERENT TO THE SLIDE. THERE WAS SIGNIFICANT MOVEMENT OF GRANULES IN THE PMN CELLS EXPOSED TO ANTIGEN. THE LAMB RX WAS SO EXTREME THAT IT APPEARS THAT ALL THE CELLS HAVE LYSED AND GRANULES ARE SPREAD ALL ACROSS THE SLIDE.



PMN Cells observed in the Lamb Well using CytoViva microscopy



LAMB RX GRAPH (Analyzed with the Robocat II) plotted against the CONTROL GRAPH

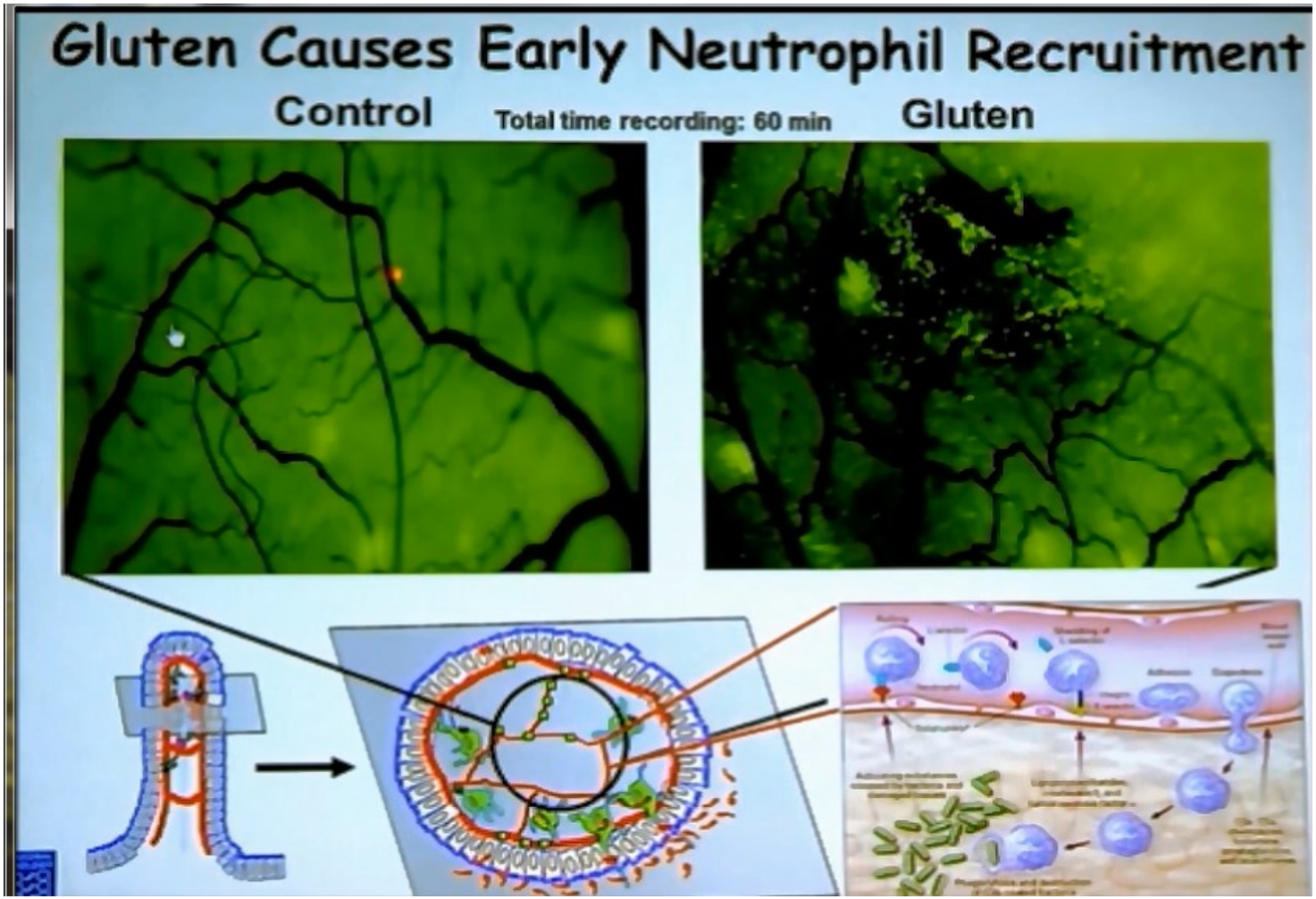


PMN Cells in the Lamb Well analyzed by FACSCalibur flow cytometry

IMBIO Lab

Istituto di Medicina Biologica S.r.l. - Dir. San. Prof. Giuseppe Di Fede
Via Molino delle Armi 3, Milano. www.imbio.it e-mail: segreteria@imgep.com

IMBIO
Istituto di Medicina Biologica



Fasabi shortened clip.wmv

GermanGutStimulation.wmv

U.S. Food and Drug Administration

CENTER FOR DEVICES AND RADIOLOGICAL HEALTH

FDA Home Page | CDRH Home Page | Search | A-Z Index

510(k) | Registration & Listing | Adverse Events | PMA | Classification | CLIA
CFR Title 21 | Advisory Committees | Assembler | Recalls | Guidance | Standards

New Search Back To Search Results

Establishment Registration Database

Establishment:
CELL SCIENCE SYSTEMS, LTD. CORP.

1239 E. Newport Center Dr.
Suite 101
Deerfield Beach, FL 33442
Registration Number: 1051901
Status: Active
Date Of Registration Status: 2008

Owner/Operator:
CELL SCIENCE SYSTEMS, LTD. CORP.

1239 E. Newport Center Dr.
Suite 101
Deerfield Beach, FL 33442
Owner/Operator Number: 9070941

Official Correspondent:
Samy Puccio
CELL SCIENCE SYSTEMS, LTD. CORP.

1239 E. Newport Center Dr.
Suite 101
Deerfield Beach, FL 33442
Phone: 954-4262304

Database Updated 02/06/2008

CDRH Home Page | CDRH A-Z Index | Contact CDRH | Accessibility | Disclaimer
FDA Home Page | Search FDA Site | FDA A-Z Index | Contact FDA | HHS Home Page

Center for Devices and Radiological Health / CDRH

U.S. Food and Drug Administration

CENTER FOR DEVICES AND RADIOLOGICAL HEALTH

FDA Home Page | CDRH Home Page | Search | CDRH A-Z Index | Contact CDRH

510(k) | Registration | Listing | Adverse Events | PMA | Classification | CLIA
CFR Title 21 | Advisory Committees | Assembler | NHRIC | Guidance | Standards

New Search Back To Search Results

Device Listing Database

Proprietary Device Name:	ROBOCAT II
Common/Generic Device Name:	HEMATOLOGY PARTICLE COUNTER
Classification Name:	COUNTER, CELL, AUTOMATED (PARTICLE COUNTER)
Device Class:	2
Product Code:	GKL
Regulation Number:	864.5200
Medical Specialty:	Hematology
Owner/Operator:	CELL SCIENCE SYSTEMS, LTD. CORP.
Owner/Operator Number:	9070941
Registered Establishment Name:	CELL SCIENCE SYSTEMS, LTD. CORP.
Establishment Registration Number:	1051901
Date of Listing:	02/23/05
Listing Status:	Active

U.S. Food and Drug Administration

CENTER FOR DEVICES AND RADIOLOGICAL HEALTH

FDA Home Page | CDRH Home Page | Search | CDRH A-Z Index | Contact CDRH

510(k) | Registration | Listing | Adverse Events | PMA | Classification | CLIA
CFR Title 21 | Advisory Committees | Assembler | NHRIC | Guidance | Standards

New Search Back To Search Results

Device Listing Database

Proprietary Device Name:	ALCAT TEST KIT
Common/Generic Device Name:	WHITE BLOOD CELL SIZE AND NUMBER TEST KIT
Classification Name:	WHOLE BLOOD PLASMA, ANTIGEN, ANTISERUM, CONTROL
Device Class:	1
Product Code:	DGQ
Regulation Number:	866.5700
Medical Specialty:	Immunology
Owner/Operator:	CELL SCIENCE SYSTEMS, LTD. CORP.
Owner/Operator Number:	9070941
Registered Establishment Name:	CELL SCIENCE SYSTEMS, LTD. CORP.
Establishment Registration Number:	1051901
Date of Listing:	02/23/05
Listing Status:	Active
Establishment Operations:	Manufacturer

Database Updated 6/06/2005

CDRH Home Page | CDRH A-Z Index | Contact CDRH | Accessibility | Disclaimer
FDA Home Page | Search FDA Site | FDA A-Z Index | Contact FDA | HHS Home Page

Center for Devices and Radiological Health / CDRH

La concordanza tra il risultato e il sintomo clinico è pari all'**83,4%** per quanto concerne i test sugli alimenti, ed è pari al **96%** per gli additivi alimentari; questi dati inquadrano

Alcat Test preciso, sensibile, specifico e affidabile.

Diagnostic Value of ALCAT Test in Intolerance to Food Additives Compared with Double-Blind Placebo-Controlled (DBPC) Oral Challenges. *March 15-20, 1996, New Orleans, Published – Journal of Allergy and Clinical Immunology, Vol. 97, No. 1, Part 3, January 1996.*

High Correlation of the ALCAT Test Results with Double-Blind Challenge (DBC) in Food Sensitivity. *Presented at 45th Annual Congress of the American College of Allergy and Immunology, Los Angeles, CA: November 12-16, 1988 Peter I. Fell, MD, Director; Oxford Allergy Centre, London Jonathon Brostoff, MA DM USc FRCP FRCPath, Dept. of Immunology, University College & Middlesex School of Medicine, London Mark I. Pasula, Ph.D., Research Director; AMTL Corp., Miami, FL*

ESEMPIO DI REFERTO

REAZIONE NEGATIVA	REAZIONE +	REAZIONE ++	REAZIONE +++
ARACHIDE	CASEINA	ALBUME	
CACAO	FRUTTOSIO	FRUMENTO	
CAFFE'	OLIVA	MAIALE	
CANDIDA A.	ZUCCHERO DI CANN/		
GLUTINE			
LATTE VACCINO			
LIEVITO CHIMICO			
LIEVITO DI BIRRA			
MAIS			
MALTO			
MERLUZZO			
ORZO			
PATATA			
PISELLO			
POLLO			
POMODORO			
RISO			
SOIA			

REAZIONE NEG
NESSUNA REAZIONE
ALIMENTI SICURI

RANGE 1+
REAZIONE MODERATA
INTOLLERANZA LIEVE

RANGE 2+
REAZIONE GRAVE
INTOLLERANZA MODERATA

RANGE 3+
REAZIONE ESTREMA
INTOLLERANZA GRAVE

La concordanza tra il risultato e il sintomo clinico è pari all' **83,4%** per quanto concerne i test sugli alimenti, ed è pari al **96%** per gli additivi alimentari;

questi dati inquadrano

Alcat Test come **preciso, sensibile, specifico** e **affidabile.**

Diagnostic Value of ALCAT Test in Intolerance to Food Additives Compared with Double-Blind Placebo-Controlled (DBPC) Oral Challenges. *March 15-20, 1996, New Orleans, Published – Journal of Allergy and Clinical Immunology, Vol. 97, No. 1, Part 3, January 1996.*

High Correlation of the ALCAT Test Results with Double-Blind Challenge (DBC) in Food Sensitivity. *Presented at 45th Annual Congress of the American College of Allergy and Immunology, Los Angeles, CA: November 12-16, 1988 Peter I. Fell, MD, Director; Oxford Allergy Centre, London Jonathon Brostoff, MA DM USc FRCP FRCPath, Dept. of Immunology, University College & Middlesex School of Medicine, London Mark I. Pasula, Ph.D., Research Director; AMTL Corp., Miami, FL*

Gruppi Alimentari

LATTE e DERIVATI

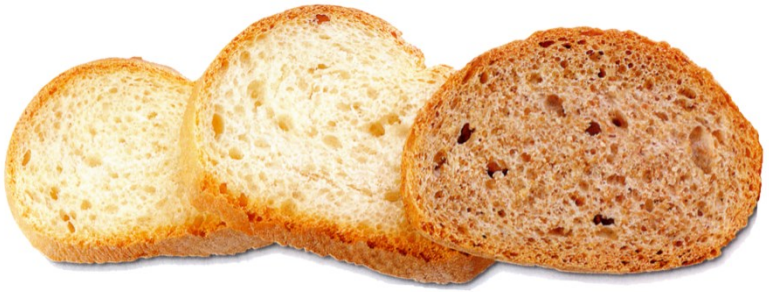
SALICILATI

NICHEL e DERIVATI

LIEVITO e DERIVATI

FRUMENTO e DERIVATI

GRANO TENERO
pane



GRANO DURO
pasta

DOPO IL RISULTATO DEL TEST ALCAT

- **Dieta personalizzata**
- **Dieta a rotazione degli alimenti**
- **Dieta bilanciata con alimenti alternativi a quelli risultati intolleranti**

GRAZIE PER L’ATTENZIONE

IMBIO Lab

Istituto di Medicina Biologica S.r.l. - Dir. San. Prof. Giuseppe Di Fede
Via Molino delle Armi 3, Milano. www.imbio.it e-mail: segreteria@imgep.com

IMBIO
Istituto di Medicina Biologica