# LEAKY GUT SYNDROME

## Nuovi Protocolli per lo Studio delle Disbiosi nella Medicina di Segnale

RanfiDiagnostics®
Innovation BioMolecular Testing For Life

**Relatori:**
**Dott. Marini Guido Gastroenterologo – Medico di Segnale**

**Dott. Ranfi Filippo**
**Biologo Molecolare spec. Allergologia ed Immunologia Clinica**

**ROMA 08-09 Giugno 2019**

# Da un incontro casuale … ad un sogno da realizzare !!

SCUOLA di
FORMAZIONE PERMANENTE

## MICROBIOMA UMANO

FISIOPATOLOGIA E APPROCCI TERAPEUTICI

APRILE - NOVEMBRE 2019
TORINO - Accademia di Medicina

A. F. & S.

Provider: A.F.& S. - Torino

# METODICHE A CONFRONTO: Tests di genomica - Test Disbiosi

- Ci serve realmente conoscere il nome di 400-500 specie batteriche? Come modularle? Oggi molte mappe metagenomiche non sono validate in futuro sì. Utili in ambito di progettualità e ricerca.
- Lo studio della genomica batterica alla stato dell'arte per la nostra pratica clinica quotidiana è utile ?
- La genomica è utile per la ricerca per indagini su molte patologie coma Autismo, Sclerosi Multipla( leaky brain syndrome), Artrite Reumatide, IBD …
- Costi delle metodiche

# MICROBIOTA REVOLUTION

PRIMA CERCAVAMO LA STERILIZZAZIONE
DEI CIBI OGGI LA LORO FERMENTAZIONE!!!

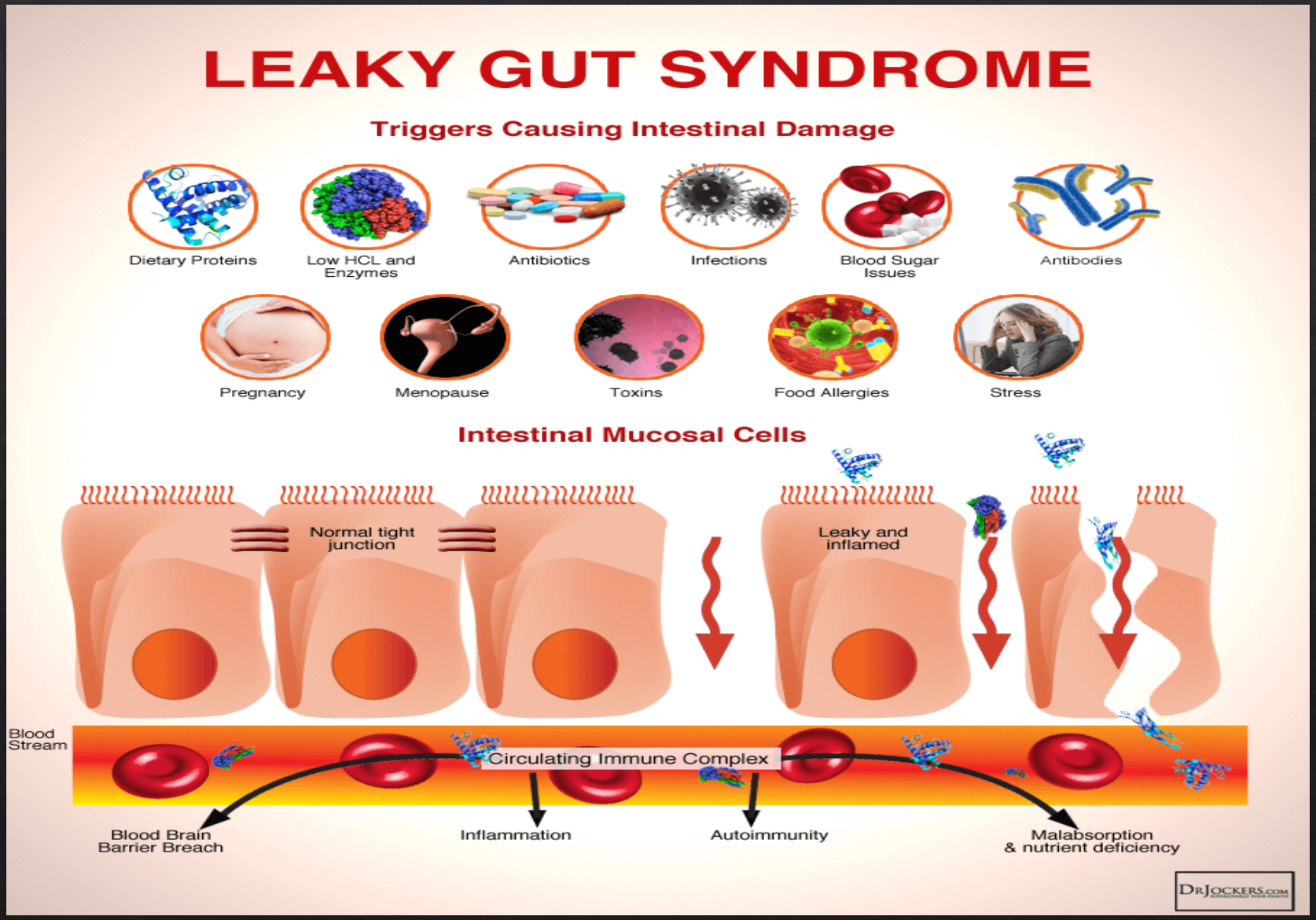
# I cibi probiotici fermentati

gustose specialità della
tradizione dell'umanità

# OBIETTIVI PROSSIMI FUTURI

- Avere uno strumento affidabile e snello per fare verifiche sulle nostre terapie.
- Avere uno strumento che ci sia di aiuto per lavori scientifici di conferma della validità del nostro approccio di Medicina di Segnale
- Avere un valido strumento di aiuto nei casi difficili e complessi

# UN APPROCCIO NON SOLO CLINICO MA ANCHE DIAGNOSTICO

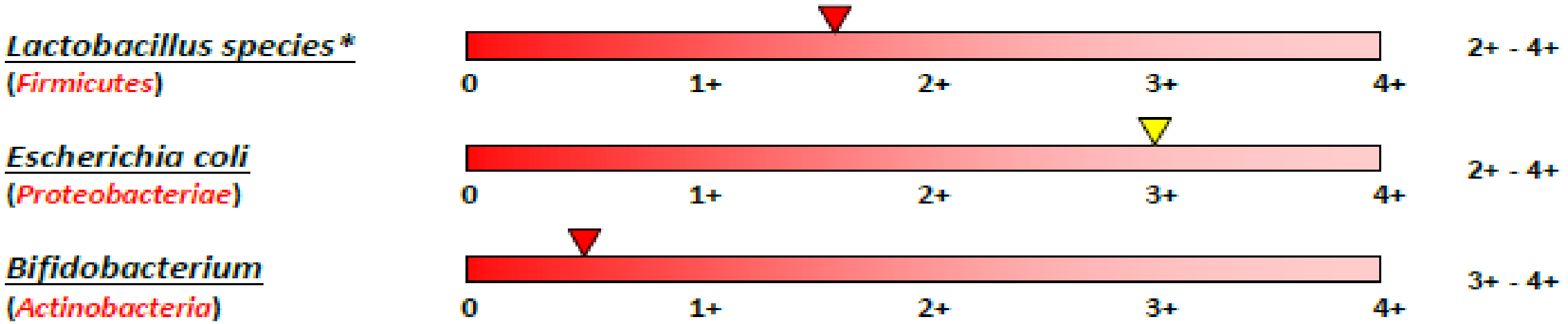


# Disbiosi Fecal-CandiTest (DFC-CheckTest™)

## RICERCA Lieviti, Muffe, Funghi,Lattobacilli, Bifidobacterium in campioni Fecali

| ANALISI RICHIESTA | RISULTATO | V.N. INDEX C.B. |
|---|---|---|

**FLORA SAPROFITICA BATTERI BENEFICI** Metodo: Colturale




**Microbiologia**
I marcatori in questa sezione riflettono lo stato batteriologico dell'intestino.
**Batteri benefici**
La flora benefica controlla potenzialmente organismi patogeni, influenza la produzione di nutrienti, rimuove tossine dall'intestino e stimola il sistema immunitario intestinale (GALT). La composizione della flora del colon è influenzata da dieta, tempo di transito, pH delle feci, età, interazioni microbiche, colon disponibilità di nutrienti, acidi biliari, solfato e capacità del microbi per metabolizzare questi substrati. Idealmente, i livelli di **Lactobacilli*** (L. casei, L. deldrueckii, L. bulgaris, L. indicus, L. sakei, L.lactis) ed E. coli dovrebbero essere **2+** (INDEX crescita colonie) o più. I **Bifidobatteri** essendo un anaerobo predominante dovrebbe essere recuperato a livelli di **4+**.

## RICERCA LIEVITI, FUNGHI, MUFFE E ALGHE PATOGENI Metodo: Colturale

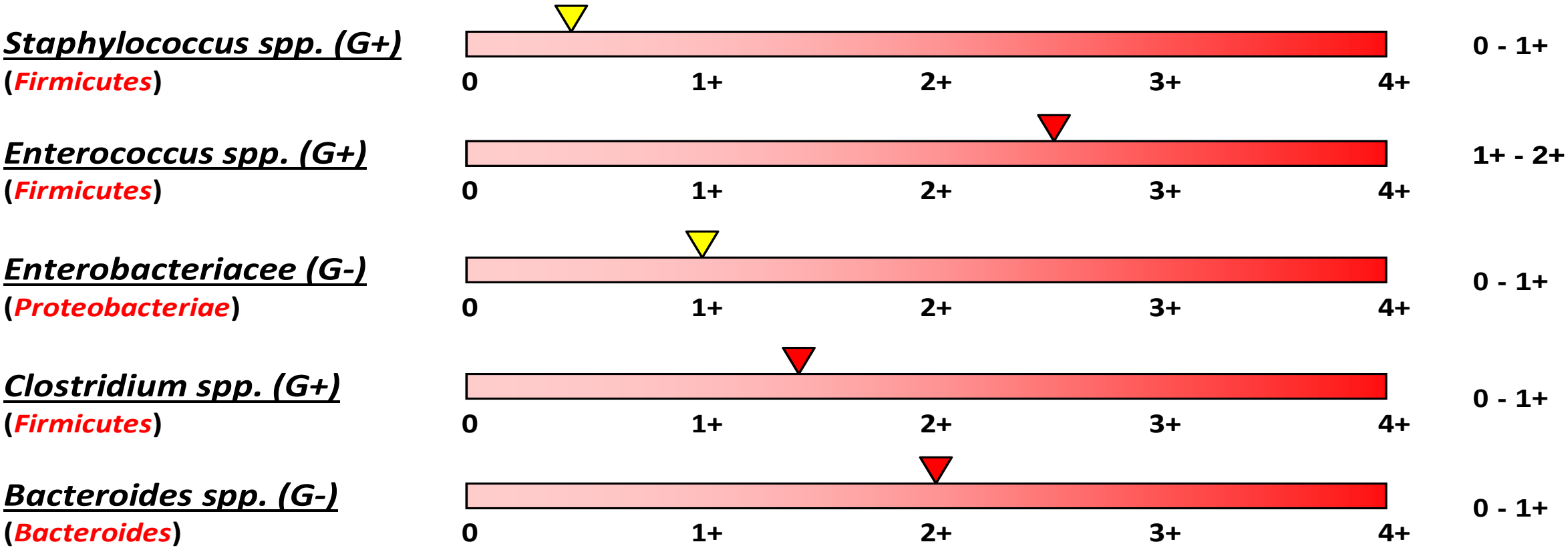
| | | | |
|---|---|---|---|
| *Saccharomyces cerevisiae** | ☐ Negativo | *Cryptococcus neoformans*** | ☐ Negativo |
| *Candida albicans*** | ☐ Negativo | *Cryptococcus albidus*** | ☐ Negativo |
| *Candida catenulata*** | ☐ Negativo | *Cryptococcus laurentii*** | ☐ Negativo |
| *Candida dubliniensis*** | ☐ Negativo | *Cryptococcus luteolus*** | ☐ Negativo |
| *Candida famata*** | ☐ Negativo | *Cryptococcus terreus*** | ☐ Negativo |
| *Candida glabrata*** | ☐ Negativo | *Cryptococcus uniguttulatus*** | ☐ Negativo |
| *Candida guillermondii*** | ☐ Negativo | *Cryptococcus gastricus*** | ☐ Negativo |
| *Candida kefyr*** | ☐ Negativo | *Rhodotorula glutinis*** | ☐ Negativo |
| *Candida krusei*** | ☐ Negativo | *Rhodotorula rubra*** | ☐ Negativo |
| *Candida lambica*** | ☐ Negativo | *Hansenula anomala*** | ☐ Negativo |
| *Candida lusitaniae*** | ☐ Negativo | *Geotrichum candidum*** | ☐ Negativo |
| *Candida parapsilosis* | ☐ Negativo | *Blastoschizomyces capitalus*** | ☐ Negativo |
| *Candida pseudotropicalis*** | ☐ Negativo | *Trichosporon capitatum*** | ☐ Negativo |
| *Candida rugosa*** | ☐ Negativo | *Trichosporon pullulans*** | ☐ Negativo |
| *Candida tropicalis*** | ☐ Negativo | *Aspergillus niger **** | ☐ Negativo |
| *Candida stellatoidea*** | ☐ Negativo | *Aspergillus brasiliensis**** | ☐ Negativo |
| *Candida zeyanoides*** | ☐ Negativo | *Prototheca wickerhamii^* | ☐ Negativo |

(LIEVITO)* - (FUNGHI)** - (MUFFE)***- (ALGA)^

Dott. Filippo Ranfi
BIOLOGO (ind. BioMolecolare)
Ord. Naz. Biol. Albo Prof. N° 044739

## INDEX MICROBIOTA COMMENSALE/PATOGENO Metodo: Colturale

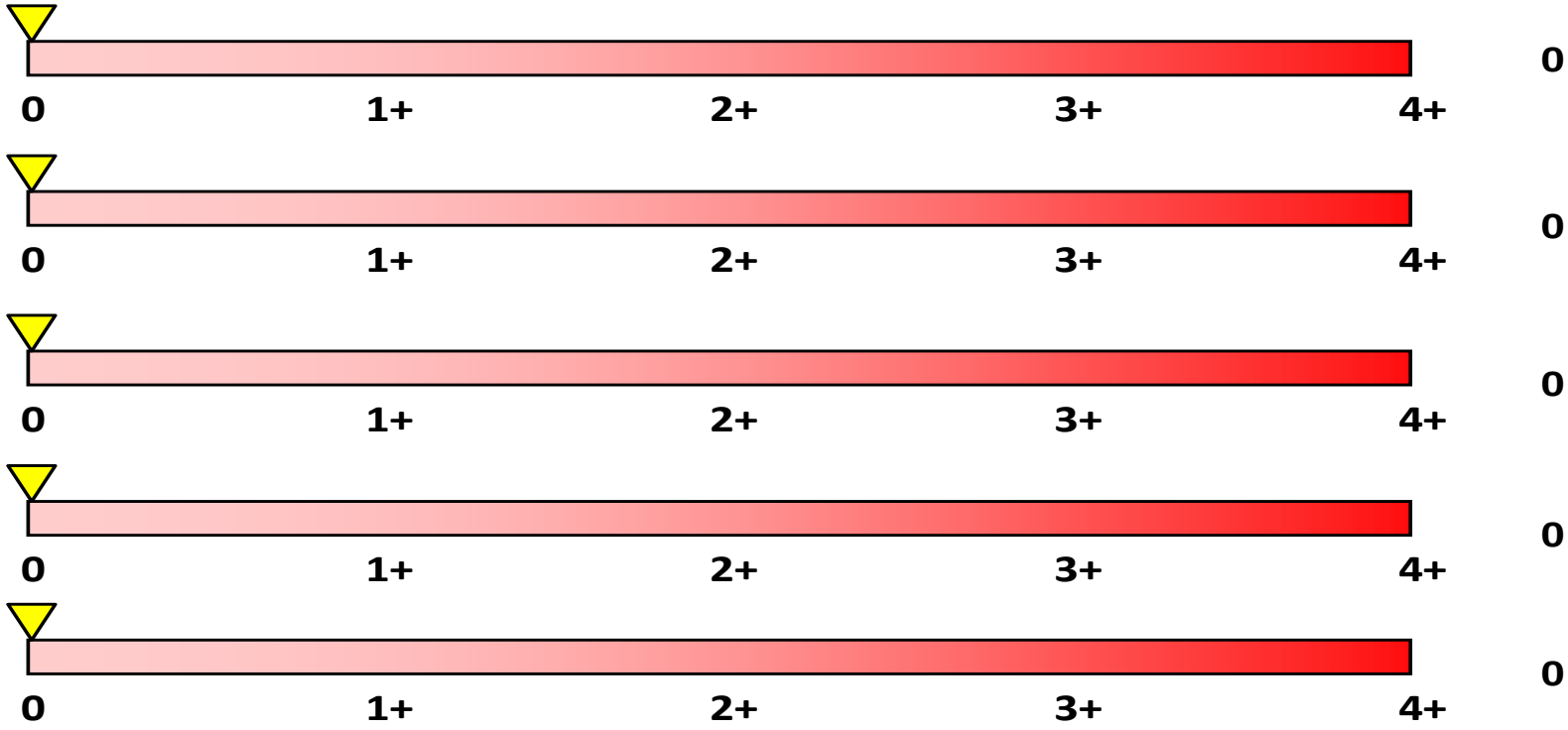
V.N. INDEX C.B.




**Microbiologia**
I marcatori in questa sezione riflettono lo stato batteriologico dell'intestino tra batteri Aerobi-Anaerobi Facoltativi-Anaerobi Obbligati.
**Batteri aggiuntivi**
**Non-patogeno:** Gli organismi che rientrano in questa categoria sono quelli che costituiscono una flora normale commensale o non sono stati riconosciuti come agenti eziologici della malattia.
**Patogeno potenziale:** Organismi che rientrano in questa categoria sono considerati patogeni potenziali o opportunisti quando presenti in forte crescita.
**Patogeno:** Gli organismi che rientrano in questa categoria sono patogeni ben noti nella letteratura clinica che hanno un chiaro meccanismo riconosciuto di patogenicità e sono considerati significativo indipendentemente dalla quantità che appare in cultura

# INDEX MICROBIOTA RESISTENZA ANTIBIOTICI **Metodo:** Colturale

V.N. INDEX C.B.




**NOTA:** L'utilizzo di terreni selettivi permette di individuare ceppi antibiotico resistenti. Utile nel monitorare eventuali abusi o prolungate terapie antibiotiche.

**MRSA** ( ceppo ***Stafilococco aureus (G+)*** meticillino/oxacillina-resistente)

**VRE** ( ceppi ***Enterococcus (G+)*** vancomicina-resistente. In questo caso si identificano ***Enterococcus faecium*** e ***Enterococcus faecalis***)

**ESBL** ( ceppi ***Enterobacteriaceae (G-)*** β-lattamasi+. In questo caso si identificano ceppi ***E.coli, Klebsiella pneumoniae***).

**CRE** ( ceppi ***Enterobacteriaceae (G-)*** carbapenemi-resistenti. In questo caso si identificano ceppi ***E.coli, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter, Serratia, Citrobacter***).

**OXA-48** ( ceppi ***Enterobacteriaceae (G-)*** produttori di carbapenemasi. In questo caso si identificano ceppi ***E.coli, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter, Serratia, Citrobacter***).

# Sugar Intestinal Fermentation Test

## Test Fermentazione Zuccheri Intestinali

(**SIFT**-*Sugar Intestinal Fermentation Test*)

**CHECK TEST™**

# *Presentazione del Test*

- **SIFT-*Sugar Intestinal Fermentation Test CHECK TEST* TM** è un test **ideato e messo a punto dal Dott. Ranfi Filippo, Biologo Molecolare-Immunologo,** che fa parte di una serie di **analisi multilevel** del ***RD-Gastrointestinal Comprehensive Digestive Stool Analysis CHECK TEST* TM (RD-GI-CDSA).**

- Lo studio **morfologico-microscopico** degli alimenti iniziato più di venti anni fa, mi ha permesso di comprendere le modalità con cui il corpo umano **“prepara, elabora, digerisce e assorbe gli alimenti”.** In molte **situazioni patologiche** gli alimenti ingeriti durante i pasti e **“mal digeriti”** si presentano con caratteristiche particolari. In questa fase oltre agli **enzimi** sono convolti i nostri **batteri**, che costituiscono in chiave moderna il **Microbiota Intestinale**. Utilizzando colorazioni particolari, e terreni di coltura specifici sono riuscito a osservare, caratterizzare e documentare numerose specie batteriche che sono coinvolte con il **metabolismo digestivo energetico**, come la ***Candida albicans, Clostridi, Stafilococchi, Streptococchi, Enterobacteriaceae, Lactobacilli, Bifidobatteri, Bacteroides.***
- **I batteri zucchero/saccarolitici** sono in genere i **Bifidobatteri**, **Lactobacilli**, **Batteroidi** ed **Eubatteri.**
- Così ho potuto identificare e classificare diversi tipi di **disbiosi intestinale** in **base al tipo di microrganismo** che ha preso il sopravvento sugli altri

- la **disbiosi intestinale fermentativa** con un’accentuata flora batterica del tipo saccarolitico. Si riconosce dai sintomi come gonfiori addominali, flatulenza, diarrea alternata con stitichezza.
- La **disbiosi intestinale putrefattiva** con un’accentuata flora batterica di tipo proteolitico
- La **disbiosi intestinale da funghi** con eccessiva presenza di saccaromiceti come la Candida. Si riconosce da diarrea, astenia e prurito anale.
- In qualsiasi sia il tipo di **disbiosi intestinale**, l’eccessiva presenza di batteri, induce l’attivazione del **sistema immunitario** che per difendere l’epitelio dell’intestino ne causa **l’infiammazione**.

# CLASSIFICAZIONE ZUCCHERI

- **Monosaccaridi(problema del tenue)**
- **Disaccaridi(problema del tenue)**
- **Polisaccaridi**
- **Alditoli :** sono dei polioli prodotti per riduzione di zuccheri.

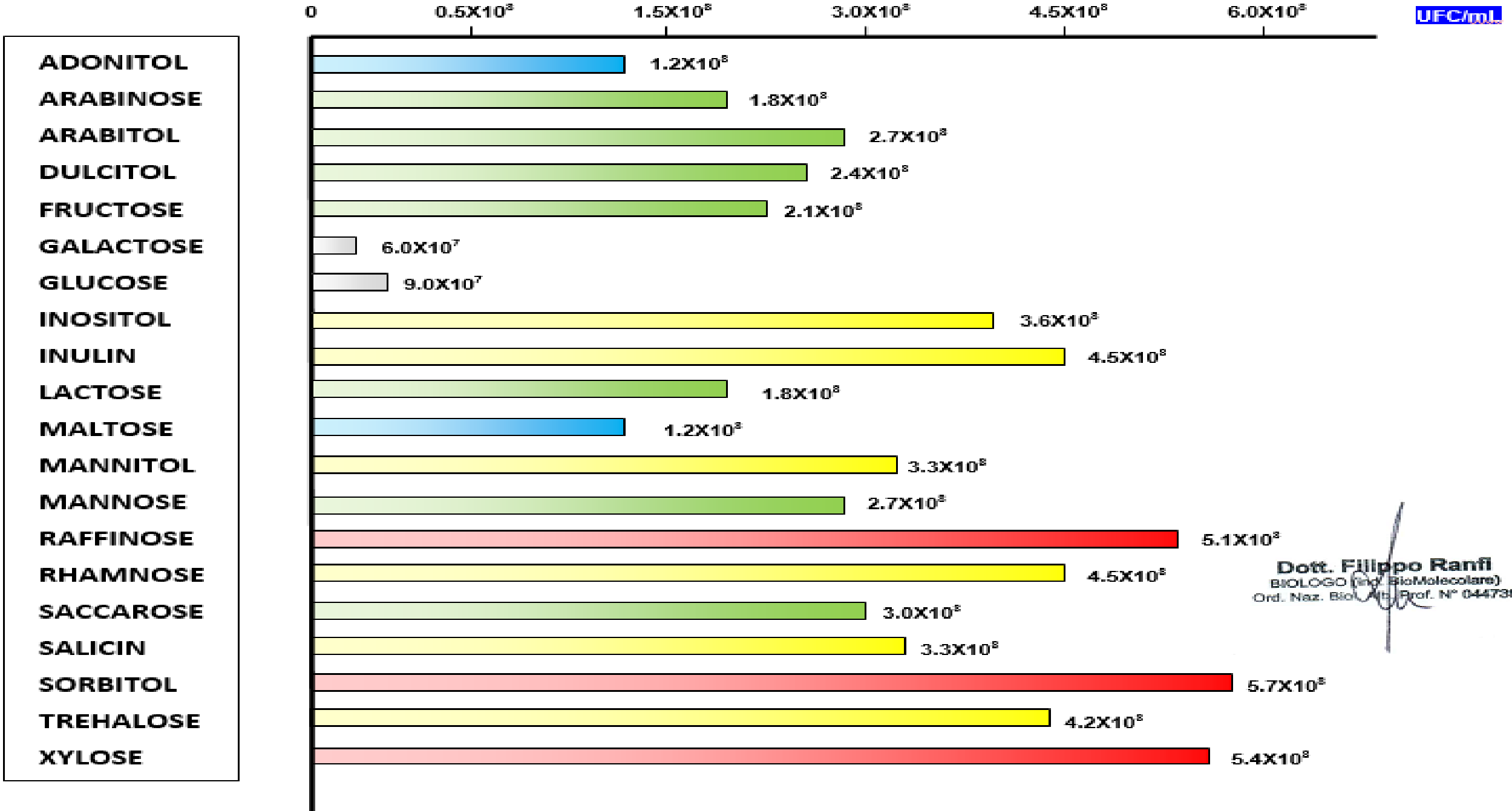
Possono derivare sia monosaccaridi sia disaccaridi, aldosi o chetosi, per riduzione del gruppo aldeidico o carbonilico.

Sono sostanze dotate di sapore dolce e non tossiche. Possono essere estratte da fonti vegetali (frutti e bacche) ma industrialmente vengono prodotti per sintesi.

## Polioli (zuccheri alcolici)

| In rapporto alla loro complessità vengono classificati in: | |
|---|---|
| **Monosaccaridi** | Contengono da 3 a 9 atomi di carbonio e sono le strutture più semplici dei glucidi. I monosaccaridi di importanza biologica comprendono il **glucosio** , il **fruttosio** ed il **galattosio** . Il glucosio è scarsamente presente in natura a parte piccolissime quantità nella frutta e nella verdura. Il fruttosio è presente come tale nella frutta e nel miele. |
| **Disaccaridi** | Si possono considerare come l'unione di due molecole di monosaccaridi legati tra loro da legami glucosidici. I disaccaridi di importanza biologica comprendono il saccarosio, il lattosio e il maltosio. Il saccarosio è composto da glucosio e fruttosio e si trova nella frutta, specialmente nella barbabietola e nella canna, da cui viene estratto per produrre lo zucchero da tavola. Il lattosio è contenuto nel latte ed è formato da glucosio e galattosio. Il maltosio (glucosio e glucosio) deriva dalla fermentazione (o dalla digestione) dell'amido. |
| **Oligosaccaridi** | Il termine oligosaccaridi è usato generalmente per i composti formati da 3 a 10 monosaccaridi. Esso comprende zuccheri quali il raffinosio, lo stachiosio ed il verbascosio non digeribili dall'uomo, composti da galattosio, glucosio e fruttosio e contenuti soprattutto nei legumi. La produzione di gas a seguito della fermentazione di questi zuccheri nell'intestino crasso spiega il meteorismo provocato soprattutto in alcuni soggetti dal consumo di prodotti leguminosi. |
| **Polisaccaridi** | Il termine polisaccaridi è usato generalmente per i composti formati da più di 10 monosaccaridi. |
| **L'amido** | Costituisce la riserva energetica del mondo vegetale. Le principali sorgenti di amido sono i cereali (pane, pasta, riso) e le patate. E' presente sotto forma di granuli a struttura semicristallina: la cottura dei cibi altera tale struttura (processo di gelatinizzazione), rendendo l'amido digeribile. Il raffreddamento dei cibi, che conduce a parziali fenomeni di ricristallizzazione dell'amido, ne riduce parzialmente la digeribilità. |
| **Il glicogeno** | E' di origine animale. Negli alimenti (carne, fegato) il suo contenuto tuttavia è privo di significato nutrizionale essendo presente in minime quantità: dopo la morte dell'animale il glicogeno a causa dell'anossia si trasforma in acido lattico. |

# INDEX CRESCITA BATTERICA-FERMENTAZIONE ZUCCHERI




Dott. Filippo Ranfi
BIOLOGO (ind. BioMolecolare)
Ord. Naz. Biol. Uff. Prof. N° 044738

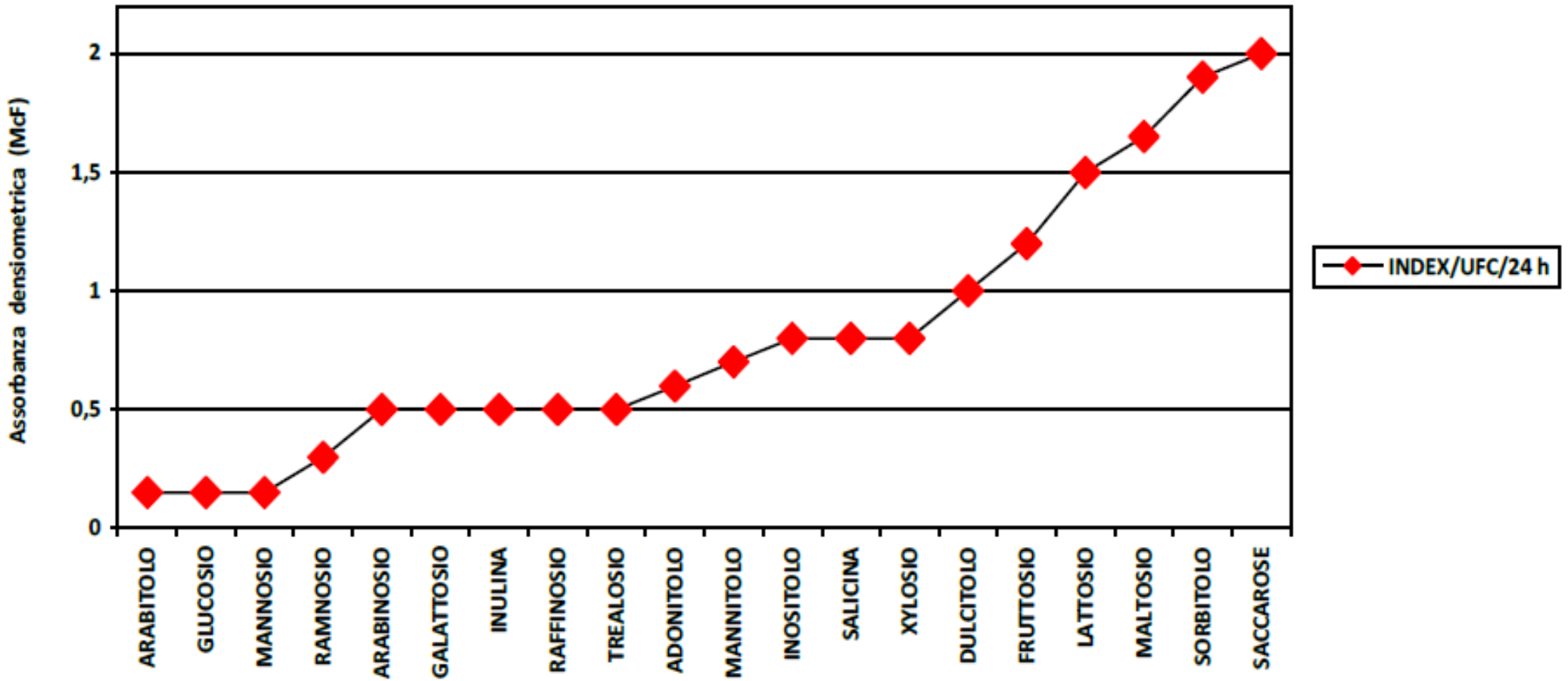
CentroAnalisi FALISCO
laboratorio analisi cliniche

RanfiDiagnostics®
Innovation BioMolecular Testing For Life

LABORATORIO ANALISI CHIMICO-CLINICHE E MICROBIOLOGICHE
SETTORI SPECIALIZZATI: Biologia Molecolare, Nutrizione Molecolare, Immunologia, Allergologia, Autoimmunità, Gastroenterologia, Microbiologia, Parassitologia. Microbioma-Microbiota Intestinale, Biochimica Cellulare, Enzimologia, Microscopia Digitale

SIFT-Sugar Intestinal Fermentation Test CHECK TEST™
FODMAPs (Fermentable Oligo, Di, Monosaccharides And Polyols)
ABS (Auto-Brewery Syndrome)
Test Fermentazione Zuccheri CHECK TEST™
MICROBIOTA INTESTINALE

## GRAFICO: CINETICA DI CRESCITA BATTERICA



## **METODO UTILIZZATO:** COLTURALE/INDEX COLONIE BATTERICHE

## LEGENDA:

| | | |
|---|---|---|
| **Crescita batterica BASSA :** | **< $0.5X10^8$** | **UFC/ml** |
| **Crescita batterica LIEVE:** | **$0.5X10^8$ – $1.5X10^8$** | **UFC/ml** |
| **Crescita batterica MEDIA:** | **$1.5X10^8$ – $3.0X10^8$** | **UFC/ml** |
| **Crescita batterica AUMENTATA:** | **$3.0X10^8$ – $4.5X10^8$** | **UFC/ml** |
| **Crescita batterica NOTEVOLE:** | **>$4.5X10^8$** | **UFC/ml** |

**NOTA: SIFT-*Sugar Intestinal Fermentation Test* CHECK TEST ™** è un test **ideato e messo a punto dal Dott. Ranfi Filippo, Biologo Molecolare-Immunologo,** finalizzato allo **studio delle fermentazioni batteriche** con substrati noti di zuccheri per evidenziare particolari stati patologici di anomala crescita batterica. come **nella Sindrome della fermentazione intestinale**, nota come **ABS** (Auto-Brewery Syndrome) e nella **FODMAPs** (Fermentable Oligo, Di, Monosaccharides And Polyols)

I risultati di questo test devono essere valutati da **personale Medico, Nutrizionisti e Dietisti** altamente qualificato e specializzato nel campo della **Gastroenterologia**, **Nutrizione Clinica** e **Dietologia Funzionale**.

# RISULTATI

Lo studio effettuato sulla cinetica di crescita batterica con substrati di zuccheri noti ha evidenziato una maggior fermentazione per **SORBITOL, XYLOSE e RHAMNOSE** (Monosaccaridi). Significativa anche la crescita per il metabolismo a carico del **TREHALOSE, INULIN** e **INOSITOL** (Disaccaride, Polisaccaride e Poliolo). Questi dati devono essere utilizzati per verificare sul paziente una stima di assunzione di questi zuccheri dalla dieta in corso o da alimenti quotidianamente consumati che li contengono in modo "nascosto". Attraverso una anamnesi accurata verificare e correlare eventualmente lo stato fisiologico del paziente. Nelle pagine seguenti è riportata una guida dove è possibile consultare le tabelle con le caratteristiche di tutti gli zuccheri testati, natura chimica, fonte alimentare ma soprattutto specificità fermentativa batterica.

La carica batterica del campione esaminato è stata stimata a **12X10$^{10}$batteri/gr. feci** (utile dato per eventuali successivi controlli).

In base alle caratteristiche di questi zuccheri si potrebbe sospettare una **disbiosi di tipo fermentativa.**

---

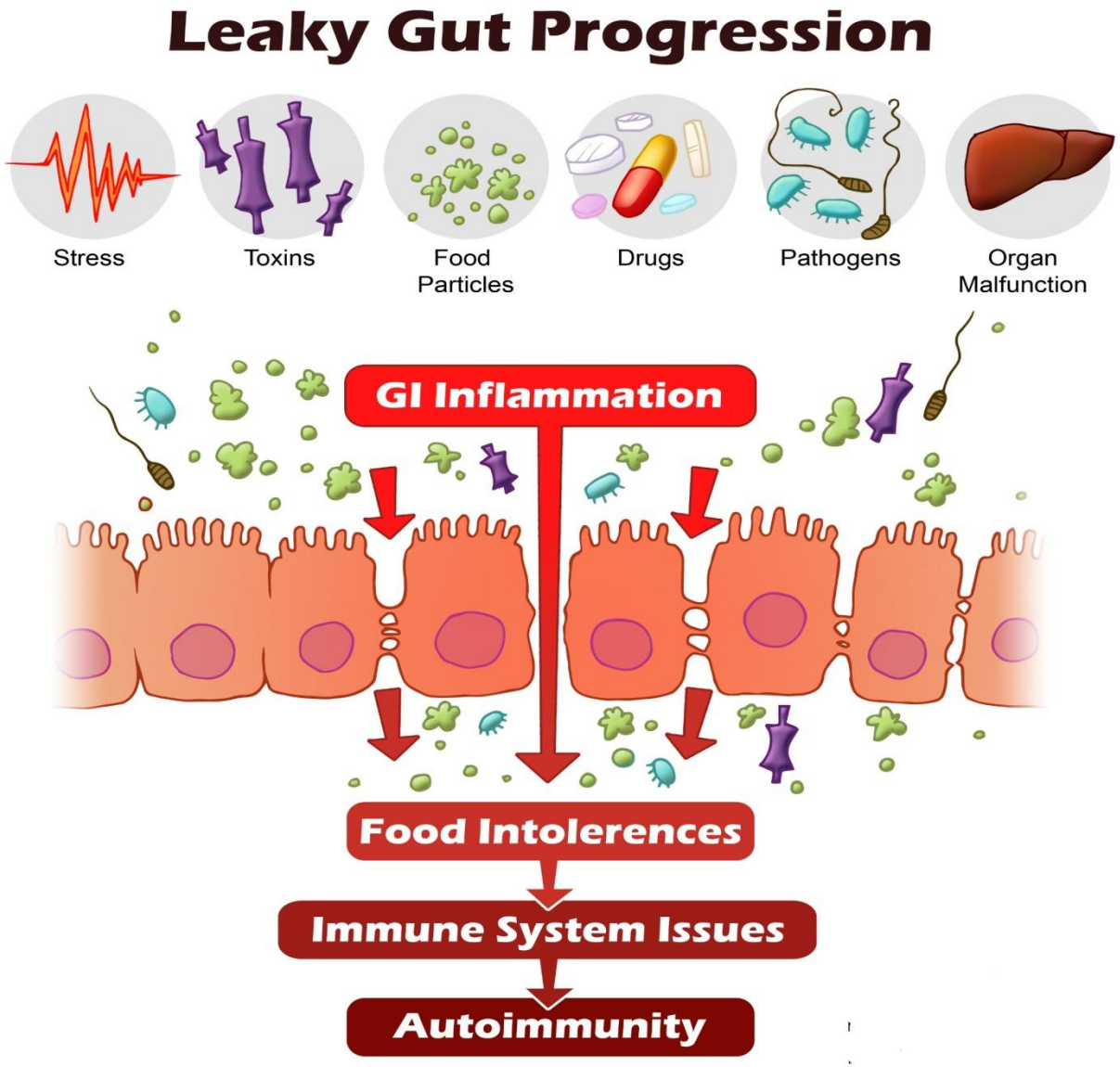
**Il Direttore**
**Dott. Filippo Ranfi**

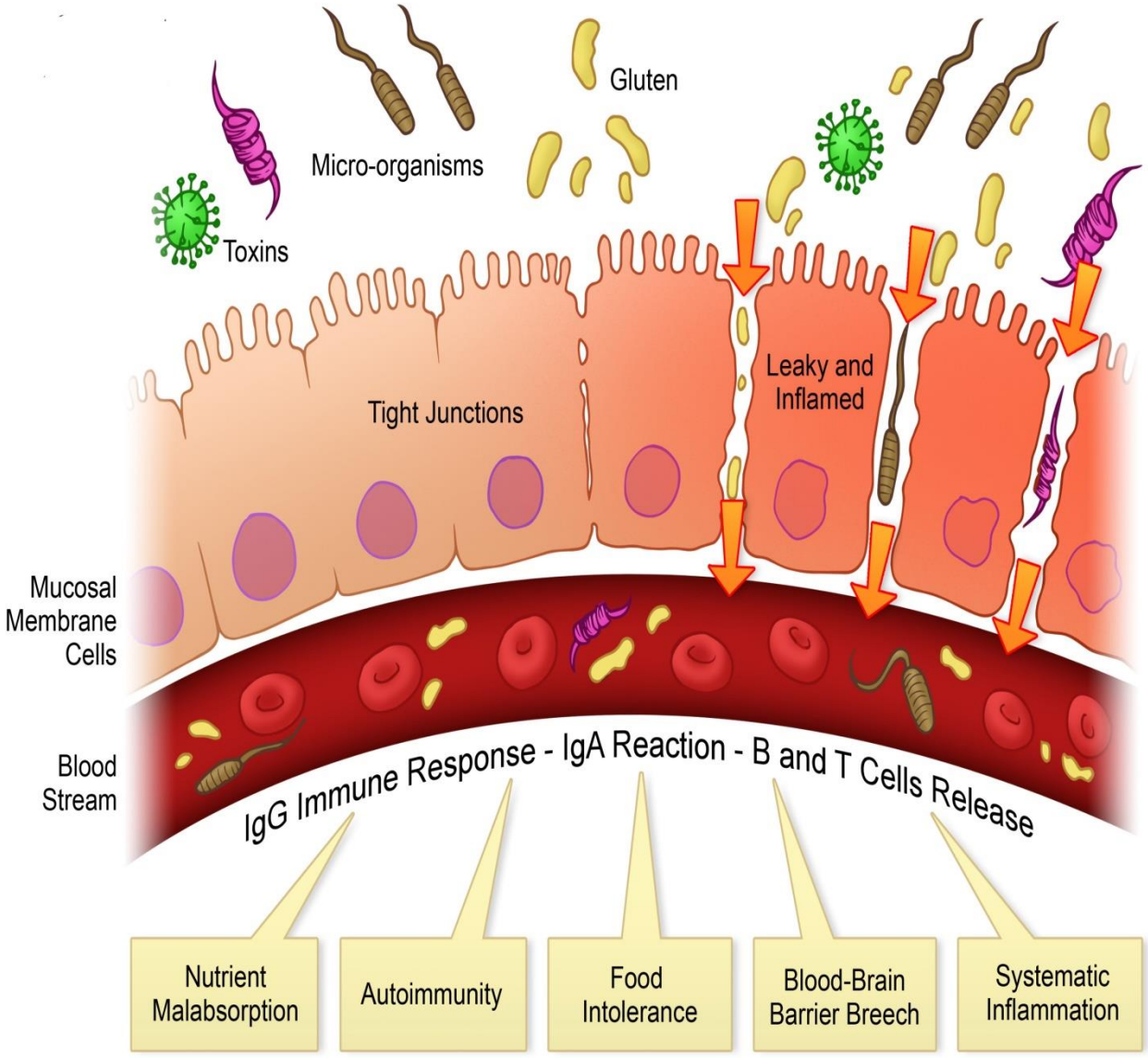
Dott. Filippo Ranfi
BIOLOGO (Ind. BioMolecolare)
Ord. Naz. Biol. Albo Prof. N° 044739

**Esame eseguito da**
**Dott. Filippo Ranfi**
BIOLOGO MOLECOLARE-IMMUNOLOGO
Spec. Allergologia e Immunologia Clinica
Diagnostica Clinica di laboratorio

**Fabrica di Roma 04/03/19**

# Leaky gut alla base di quasi tutte le patologie sistemiche



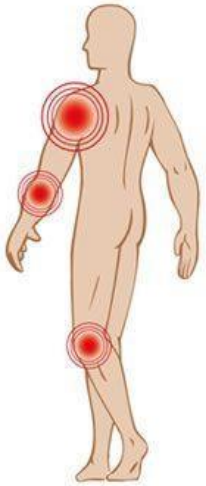
SIGNS & SYMPTOMS OF

# LEAKY GUT SYNDROME

Top10 Home Remedies

CHRONIC FATIGUE AND TIREDNESS

INFLAMMATORY SKIN CONDITIONS



PAIN IN MULTIPLE JOINTS

INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

MOOD ISSUES

To explore more, visit www.Top10HomeRemedies.com

# CORREZIONE LEAKY GUT

- Corretta alimentazione
- Attività fisica quotidiana
- Gestione dello stress
- Terapie mirate : Probiotici, Prebiotici , Acido butirrico , L-glutammina, Caprilato di calcio, Oli essenziali …

ZICKY Check'Test™

Linea Immunology

# ZICKY (Zonulina Immuno CytoKines) CHECK TEST™

## Valutazione Permeabilita' Intestinale - Leaky Gut Syndrome (LGS)

| ANALISI RICHIESTA | RISULTATO | U.M. | VALORI RIFERIMENTO |
|---|---|---|---|
| ZONULINA (quantitativo sierico metodo: ELISA) | --- | ng/mL | <30 |
| TNF-α* (quantitativo sierico metodo: ELISA) | ---- | pg/mL | <40 |
| INF-γ** (quantitativo sierico metodo: ELISA) | ----- | ng/mL | <10 |
| TGF-β1*** (quantitativo sierico metodo: ELISA) | ----- | ng/mL | 20 - 70 |
| Interleuchina-6 (IL-6) (quantitativo sierico metodo: ELISA) | ---- | pg/mL | <20 |
| Interleuchina-21 (IL-21) (quantitativo sierico metodo: ELISA) | ----- | pg/mL | <50 |

*(Tumor Necrosis Factor), **(Interferon gamma), ***(Transforming growth factor-beta1),

# VALUTAZIONE PERMEABILITA' INTESTINALE *CHECK TEST*™

# Leaky Gut Syndrome (LGS)

## *Dosaggio ZONULINA Plasmatica*

| ANALISI RICHIESTA | RISULTATO | UNITA' | VALORI NORMALI |
|---|---|---|---|
| ***ZONULINA (ZON)*** (metodo EIA) | 50 * | ng/ml | < 30 |

## *Dosaggio OCCLUDINA Plasmatica*

| ANALISI RICHIESTA | RISULTATO | UNITA' | VALORI NORMALI |
|---|---|---|---|
| ***OCCLUDINA (OCL)*** (metodo EIA) | 15.30 * | ng/ml | < 5 |

## *Dosaggio LPS Batterico*

# INTERPRETAZIONE ESAMI

- **ZONULINA** : PARTE FUNZIONALE, PLASTICA, REVERSIBILE
- **OCCLUDINA** : INIZIA DANNO STRUTTURALE
- **ACTINA** : PRESENZA DI GRAVE DANNO STRUTTURALE
- **LPS** : CONFERMA LA PRESENZA DI TRASLOCAZIONE ED ENTITA’ DEL DANNO

# IL NOSTRO OBBIETTIVO:

- Confrontarci con la comunità scientifica con dati obiettivabili a conforto della clinica per poter portare avanti la filosofia vincente della Medicina di Segnale

# WE ARE THE CHAMPIONS MY FRIENDS, NO TIME FOR LOSERS !!!