VALUTAZIONE DISBIOSI INTESTINALE

di Giuseppe Pigoli

Per disbiosi si intende un'alterazione dell'equilibrio quali-quantitativo della flora batterica normalmente presente nell'intestino. Una flora batterica integra è in grado si svolgere molteplici funzioni, quali:

- **Fermentazione dei carboidrati**
- **Digestione proteica**
- **Cooperazione con il sistema immunitario**
- **Prevenzione delle allergie**
- **Prevenzione delle malattie infiammatorie intestinali**
- **Contrasto alla colonizzazione da parte di germi patogeni**

Da quanto esposto si capisce l'importanza della integrità della flora batterica normalmente presente nel tratto digestivo, infatti Lo stato di disbiosi è più diffuso di quanto si pensi e le sue cause sono molteplici:

- ***alimentazione scorretta***: cibi raffinati, alimentazione iperproteica
- ***farmaci***; antibiotici, antinfiammatori, cortisonici
- ***inquinanti ambientali***: pesticidi, conservanti, metalli pesanti
- ***fattori anatomici e patologici***: ostruzione delle vie biliari, stenosi, sequele di interventi chirurgici, malattie infiammatorie croniche intestinali, patologie epatiche e pancreatiche, malattie metaboliche
- ***infezioni e parassiti***
- ***stress psico-fisico***

Fisiopatologia dei principali germi intestinali

Candida spp*:* I funghi e i lieviti non fanno parte della normale flora microbica e devono essere considerati come microrganismi passeggeri. Notevoli quantità possono essere introdotte attraverso il consumo di frutta, verdura o cibo di scarsa qualità. Essendo in parte resistenti ai succhi gastrici, una gran quantità di lieviti è in grado di raggiungere l'intestino. La digestione da parte degli enzimi gastrici e un effetto di diluizione fanno comunque in modo che solo pochi microrganismi possano essere ritrovati nelle feci. I lieviti competono con altri microrganismi per l'utilizzo di carboidrati, producendo CO_2 (che causa flatulenza), alcol ed altri prodotti della fermentazione che potrebbero avere come effetto un sovraccarico del fegato.
Candida albicans*:* notevoli quantità possono essere introdotte attraverso il consumo di frutta, verdura o cibo di scarsa qualità. Anche la Candia, come altri lieviti, in virtù della sua resistenza all'azione dei succhi gastrici, può raggiungere facilmente l'intestino e quindi nelle feci. Una alta concentrazione in particolar modo di *Candida albicans*, misurata ripetutamente, può essere osservata nei seguenti casi: terapia antibiotica, terapia con cortisonici, immunosoppressione (iatrogena, cancro), allergia, malattie mentali, nutrizione sbilanciata (alto consumo di zuccheri). Anche la *Candida albicans* compete con altri microrganismi per l'utilizzo di carboidrati, producendo CO_2 (che causa flatulenza), alcol con conseguente sovraccarico del fegato. Può anche causare un danno alla parete intestinale aderendo ad essa e sopprimendo la flora microbica autoctona. La parete intestinale può essere danneggiata tramite la produzione di enzimi quali: *proteasi, fosfolipasi e collagenasi*
Lactobacillus spp **: i lattobacilli** sono presenti in molti tipi di vegetali e vengono da sempre utilizzati nell'industria alimentare per la conservazione dei cibi. Essi appartengono alla flora microbica normale, ma non residente, nel senso che devono essere introdotti con gli alimenti, quali cibi fermentati (es.: yogurt, formaggio, crauti etc.). Anche essi sono saccarolitici e producono acidi grassi a catena corta, giocando quindi un ruolo chiave nella regolazione del pH intestinale. Tramite la produzione di sostanze battericide,

sono in grado di inibire la proliferazione della flora microbica putrefattiva e contribuiscono a ridurre la formazione di agenti cancerogeni. I valori ottimali di pH per questi germi sono intorno a 6.

Proteus spp.:Il *Proteus spp* e il *Proteus mirabilis* appartengono alla flora putrefattiva. Possono essere riscontrati nei campioni sotto forma di flora transitoria e sono per lo più di origine alimentare, soprattutto nei vegetariani. La loro attività è esclusivamente proteolitica. In particolare il *Proteus mirabilis* produce una quantità di amine biogeniche (cadaverina, putrescina) e ammoniaca; ha un effetto alcaliniìzzante, agisce ad un pH >6.5. la presenza di *Proteus* è associata ad artrite reattiva perché possiede reattività crociata con l'antigene HLA-DR.4. il Proteus non necessita sempre di antibioticoterapia, in molti casi risulta sufficiente il trattamento con alte dosi di lattobacilli, unitamente ad una riduzione dell'apporto proteico, per inibirne la proliferazione

Bacillus spp : il *Bacillus spp* appartiene alla flora transitoria e modiche quantità possono essere riscontrate nei campioni. fecali Non colonizza in modo permanente l'intestino. In particolare la sua presenza in quantità rilevanti è segnale di diminuita resistenza alla colonizzazione patogena. Il *Bacillus cereus* produce tossine termostabili e a volte risulta essere responsabile di inquinamento alimentare. In questi casi si verifica vomito e dolore addominale. Aumenti consistenti di *Bacillu spp* sono riscontrabili nei vegetariani.

***.Staphylococcus aureus*:**Lo stafilococco appartiene alla fora transitoria . non colonizza l'intestino, ma sovente proviene da regioni "alte" del tratto digerente come la gola e la bocca oppure da alimenti contaminati. (tossimfezioni alimentari) Aumenti della sua presenza sono indicativi di diminuzione della resistenza alla colonizzazione patogena e alterazione della barriera intestinale.

Escherichia coli E' stato considerato a lungo il microorganismo intestinale più importante, sebbene costituisca meno del 0.01 % della flora totale. Esso esercita vari effetti a livello intestinale, oltre ad avere proprietà antibatteriche quali: sintesi di sostanze microbicide aventi un effetto antagonista sui germi enteropatogeni, stabilizzazione della barriera intestinale, stimolazione della risposta immunitaria e della produzione di sIgA da parte dei lipopolisaccaridi della parete e di antigeni gruppo-specifici e di peptidi a basso peso molecolare. Ha inoltre proprietà metaboliche quali la formazione di acidi grassi a catena corta, (decomposizione dei carboidrat)i, formazione di gas (H2 e CO2) in presenza di alte concentrazioni di carboidrati (in caso di assorbimento ridotto o disordini della digestione). Provvede alla produzione di energia attraverso la decomposizione delle proteine (nei casi di consumo aumentato o disordini digestivi), che potrebbero dare come risultato la formazione di amine biogenichee e ammonio. Gli enzimi proteolitici hanno il loro picco di attività a valori di pH superiori a 6.5 e ciò porta ad un'alcalinizzazione del contenuto dell'intestino.

Klebsiella spp.Appartiene alla flora putrefattiva; si trova solitamente nelle feci in forma transitoria, principalmente di origine alimentare, in particolare è presente nei vegetali. L'attività metabolica è principalmente di tipo proteolitico. In particolar modo *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca* producono grandi quantità di ammine biogenichee (cadaverina, putrescina) ed ammonio, alcalinizzando in tal modo il microambiente intestinale. Il pH ottimale degli enzimi proteolotici elaborati da questi germi è superiore a 6.5. Alcuni ceppi di *Klebsiella pneumoniae e Klebsiella oxytoca* sono in grado di produrre enterotossine che causano diarrea. In particolar modo nei bambini producono una tossina termostabile, responsabile di diarrea sia acuta che persistente. Inoltre, *Klebsiella* è associata allo sviluppo di spondilite anchilosante, dal momento che si sospetta una cross reazione con l'antigene HLA-B27.

***Bacterioides spp*:** il germe rappresenta la parte più consistente della flora microbica intestinale e riveste un ruolo importante nello sviluppo della resistenza alla colonizzazione da parte di germi non residenti o patogeni. Il metabolismo del germe è principalmente di tipo proteolitico, ma ad un basso livello di attività. La crescita ottimale avviene a pH superiore a 7. Alcuni ceppi sono in grado di produrre composti mutageni.

***Pseudomona* spp:** la colonizzazione intestinale potrebbe essere temporanea, ma potrebbe anche essere un sintomo di una alterata resistenza alla colonizzazione patogena e di un danno della barriera intestinale. Il germe *Pseudomonas* appartiene alla flora putrefattiva e possiede un'alta attività proteolitica. Esso può causare diarrea nei bambini, soprattutto se presente in alte concentrazioni. Il ritrovamento di *Pseudomonas* può comunque essere causato da un campionamento scorretto, per esempio a seguito di un contatto con l'acqua dei servizi igienici.

***Clostridium spp*:** è un germe ambientale. I Clostridi non hanno effetti positivi sull'ambiente intestinale. Al contrario, questi germi possono essere potenzialmente dannosi date le loro caratteristiche metaboliche. Perciò, la sua concentrazione non dovrebbe superare la quantità di 10^5/g. Un'aumentata concentrazione di questi batteri può essere riscontrata in conseguenza di una ridotta motilità gastroenterica, una cattiva masticazione, cambiamenti nelle abitudini alimentari (bassa assunzione di fibre alimentari) e una insufficiente attività fisica. Una supplementazione regolare di probiotici previene un'eccessiva crescita di

Clostridi. L'attività metabolica è caratterizzata dall'utilizzo di proteine e grassi, con la formazione di steroidi che possono agire da promotori tumorali. il *Clostridium* trasforma gli acidi grassi attraverso processi di deconiugazione e la deidrossilazione. Diversi dati epidemiologici comprovano che, in caso di iperproliferazione, la formazione di prodotti deidrossilati, favorita dalla dieta occidentale (caratterizzata da un alto contenuto di grassi e da un basso contenuto di fibre) contribuisce all'aumento di produzione endogena di istamina.

Enterococcus spp: data la sua capacità a tollerare gli acidi biliari, il germe appartiene alla flora microbica normalmente residente nell'intestino tenue e nel colon. Alcuni ceppi si trovano anche in cibi fermentati, quali salse e formaggi. Gli Enterococchi sono saccarolitici ed usano i carboidrati quali fonte di energia. Essendo in grado di produrre acidi grassi a catena corta, sono in grado di acidificare il contenuto intestinale e contribuiscono a controllare i microrganismi patogeni attraverso la produzione di sostanze battericide e batteriostatiche, dette "enterocine".

I batteri intestinali popolano tutto il tratto digestivo anche se sono più numerosi nel colon e compongono il 60% della massa disidratata della feci . sono costituiti da circa 500 specie di batteri la maggior parte dei quali deriva da non più di 40 specie.
Le relazioni intercorrenti fra organismo e microbi intestinali è improntata su una sorta di "mutua cooperazione". Benché sia noto che l'organismo possa sopravvivere in assenza di germi, è altresì noto che il microbiota svolge funzioni utili al suo miglior funzionamento.

Composizione e localizzazione

Nella tabella 1 sono elencati i principali gruppi microbici presenti nel tratto intestinale e le rispettive localizzazioni. Il microbiota è composto principalmente da batteri anaerobi e solo in minima misura da batteri aerobi (5%).
Lattobacilli, Bifidobatteri, Batterioidi ed Enterococchi sono le specie batteriche che sono state studiate più diffusamente, mentre le funzioni di Clostridi, Lieviti ed altri sono ancora oggetto di valutazione.
Nel piccolo intestino i batteri commensali sono prevalentemente Gram positivi, mentre nel grosso intestino stazionano batteri Gram negativi. La prima parte del colon ospita germi deputati alla fermentazione dei carboidrati, il secondo tratto invece ospita germi deputati alla metabolizzazione di proteine e aminoacidi.
La proliferazione batterica è rapida nel colon ascendente, dove il pH è acido, più lenta nel tratto discendente dove il pH tende alla neutralità. Nel lume intestinale Il mantenimento e/o le variazioni del pH risultano essere un efficace meccanismo di controllo della crescita batterica.
Con il progredire dell'età, varia la composizione batterica. Durante l'allattamento l'intestino dell'infante viene colonizzato da batteri ambientali e di provenienza materna (provenienti cioè dal latte, dalla suzione e dal contatto fisico). L'allattamento al seno provoca un abbassamento dal pH e quindi un ambiente favorevole ai Bifidobatteri che stimolano le funzioni immunitarie. Al contrario il pH intestinale dei bambini allattati artificialmente risulta più elevato, ne consegue che le enterobatteriacee (e fra queste anche i germi patogeni) conoscono una crescita più spiccata a scapito dei bifidobatteri.
Con il divezzamento e l'introduzione di cibi solidi la composizione della microflora diventa simile a quella degli adulti.

Tabella 1 distribuzione fisiologica del microbiota intestinale

Tratto gastrointestinale	Batteri/mL (UFC)	Specie batteriche
Stomaco	**< 103/mL**	***Lactobacillus, Streptococcus, Candida***
Duodeno-digiuno	**< 103/mL**	***Lactobacillus, Streptococcus, Veilionella, Candida***
Ileo	**103-108/mL**	***Bacterioides, Bifidobacterium, Enterobacteriacee, Veillonella, Enterococcus, Lactobacillus, Streptococcus***
Colon	**1010/gr**	***Bacterioides, Clostridium, Eubacterium, Fusobacterium, Bifidobacterium, Peptostreptococcus, Enterobacteriacee, Lactobacillus, Enterococcus, Streptococcus, Veillonella, Propionibacterium, Actinomyces***

Funzioni fisiologiche

Le funzioni del microbiota intestinale sono molteplici ed articolate. In prima istanza si può dire che, producendo acido lattico e perossido di idrogeno (H2O2), la prima azione esplicata è quella di difesa nei confronti di germi patogeni, inoltre esiste una attività sinergica tra probiotici e sistema immunitario a livello della mucosa intestinale: alcuni batteri - come i lattobacilli acidofili - svolgono un'attività diretta contro gli antigeni virali, altri hanno un' attività indiretta che permette una modulazione della risposta immune da parte del "filtro" probiotico. Questa cooperazione si concretizza tramite:

- stabilizzazione del trasporto transmucosale
- armonizzazione della funzione difensiva mediata dalle citochine
- attenuazione delle reazioni eccessive (IgE)

Altre, importanti funzioni sono di seguito elencate:

- *fermentazione e assorbimento dei carboidrati*: vi sono carboidrati (alcuni amidi, fibre e oligosaccaridi) che l'organismo non sarebbe in grado di metabolizzare se non vi fossero i batteri intestinali. Questi carboidrati vengono trasformati in acidi grassi a catena corta che sono importanti mediatori di funzioni nutritive ed energetiche. Questo processo di fermentazione è chiamato fermentazione saccarolitica.
- *fermentazione proteolitica*: questo è un tipo di fermentazione meno favorevole e deriva dalla proteolisi di frammenti batterici, fibre collagene ecc, e può produrre tossine e carcinogeni, ecco perché un eccesso di proteine nella dieta non risulta, nel tempo, salutare.
- *Contrasto della crescita di germi patogeni*: questa funzione si esplica principalmente tramite la competizione fra microflora e germi patogeni, sia da un punto di vista nutrizionale, sia nel raggiungimento dei siti d'attacco sull'epitelio intestinale. La produzione di acidi grassi (da fermentazione saccarolitica) e la produzione di acido lattico

contribuiscono ad abbassare il pH che, a sua volta, è un mezzo efficace di contrasto dei germi patogeni oltre che a fungere da stimolo per la crescita dei microrganismi "amici".
- *Interazioni con il sistema immunitario*: la microflora promuove la maturazione del tessuto linfoide intestinale. Il sistema immunitario "si abitua" al microbiota sin dalla prima infanzia . Questo fenomeno, oltre a consentire di tollerarne la presenza, permette al sistema immunitario di contrastare l'ingresso e la proliferazione dei germi patogeni. Recenti scoperte hanno chiarito che la microflora promuove l'espressione di recettori (Toll-like receptors) che hanno la funzione di riparare i danni tessutali e di liberare mediatori dell' infiammazione.
- *Funzioni metaboliche*: la flora normalmente residente controlla la differenziazione cellulare

- *Prevenzione delle allergie*: l'allergia è una reazione "esagerata" del sistema immunitario. Nei pazienti allergici è stata notata una composizione della microflora diversa dai non allergici: nei primi infatti prevalqono germi quali *Cl. Difficile* e *St. aureus*, mentre basse sono le concentrazioni di bifidobatteri e lattobacilli. Tuttavia non è ancora chiaro se queste differenze rappresentino una causa o un effetto della patologia allergica.
  - *Prevenzione delle malattie infiammatorie intestinali*: alcuni autori ritengono che gli acidi grassi a catena corta derivanti dalla fermentazione saccarolitica siano in grado di prevenire l'infiammazione intestinale. Le malattie infiammatorie croniche (m. di Crohn, Colite Ulcerosa) conoscono un'alta incidenza nei Paesi industrializzati dove si consumano grassi animali e proteine in quantità maggiori che in altre latitudini, dove l'allattamento al seno è in diminuzione e dove l'assunzione di antibiotici (anche di derivazione ambietale come ad esempio le carni da allevamento) è diffusa. L'impiego di probiotici sembra dare risultati confortanti nel contenimento dei sintomi legati a queste malattie.

Principali tipi di disbiosi

Si possono distinguere cinque forme principali di disbiosi:

1. *disbiosi carenziale*: una alimentazione priva o carente di fibre solubili oppure caratterizzata dall'assunzione di alimenti precedentemente sottoposti a processi di sterilizzazione, unitamente all'assunzione di antibiotici, sono all'origine dello stato carenziale
2. *disbiosi putrefattiva*: favorita e promossa da una dieta ricca di grassi e proteine
3. *disbiosi fermentativa*: un sovraccarico/intolleranza ai carboidrati favorisce la proliferazione batterica "fermentante"
4. *disbiosi da sensibilizzazione*: secondaria a deficit dell'immunità intestinale (IgA secretorie, sIgA) o ad aumento della permeabilità intestinale, il fenomeno porta ad una reazione immunologica rivolta contro la flora fisiologica
5. *disbiosi fungina*: dovuta a proliferazione di saccaromiceti e/o Candida, a sua volta favorita da assunzione in eccesso di zuccheri e povera di fibre

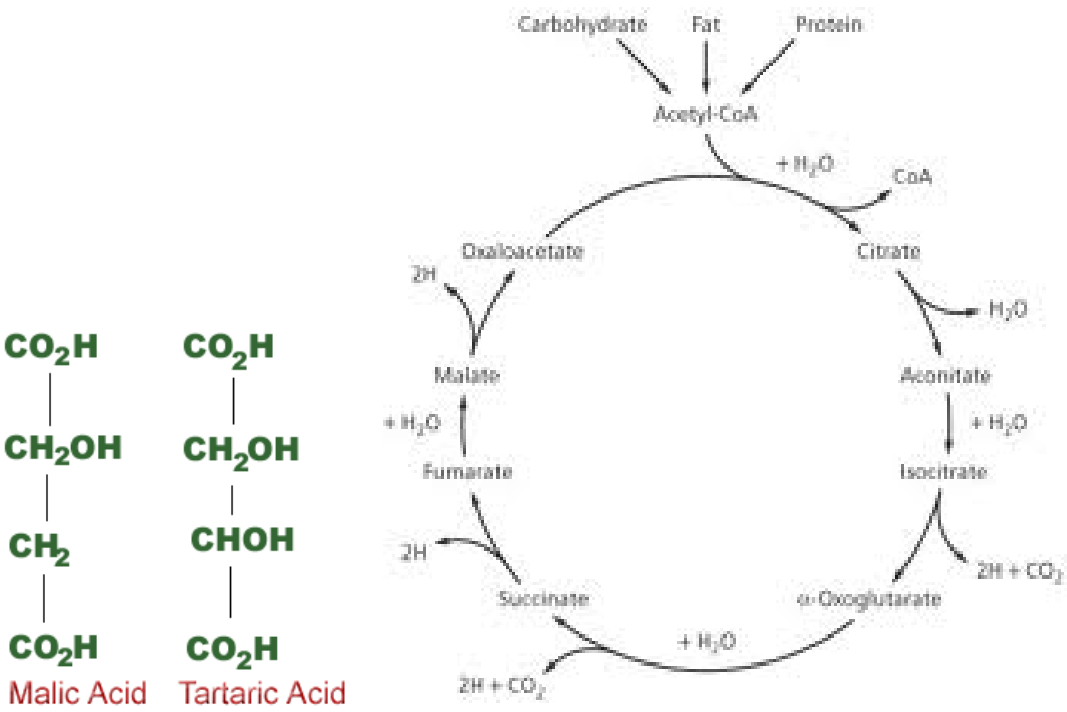
Aspetti clinici

La sintomatologia può conoscere tratti comuni ai vari tipi di disbioisi (stanchezza mattutina, cattiva digestione, disturbi del sonno, nervosismo, turbe dell'alvo) e segni che sono più tipici di alcuni tipi di disbiosi:

- *fermentativa*: gonfiori, flatulenza, diarrea alternata a stipsi, malessere generalizzato
- *fungina*: diarrea, prurito anale, sfoghi orticarioidi, dermatiti, cistiti ricorrenti abatteriche, micosi genitali e ungueali, intolleranza ai lieviti, astenia e voglia di zuccheri.

Nel caso di disbiosi fungina il sintomo *astenia* è determinato dalla presenza di acido tartarico (prodotto dal micete) che, avendo struttura molecolare simile all'acido malico, si sostituisce a questo nel ciclo di Krebs, con conseguente minore produzione di ATP. Inoltre la *voglia di zuccheri* che spinge il paziente ad assumere zuccheri semplici nelle ore più disparate della giornata, è dovuta al fatto che i miceti "sequestrano" gli zuccheri presenti nel tratto digestivo per il proprio nutrimento (figura 1).

Figura 1: struttura degli acidi tartarico e malico



Diagnosi

Oltre ai dati clinici, indispensabili per un primo inquadramento diagnostico, idoneo alla richiesta appropriata di esami, il laboratorio è in grado di fornire informazioni per la conferma diagnostica.

- ***Esami microbiologici***: consistono nella tipizzazione e quantificazione delle UFC presenti in un campione di feci delle principali specie batteriche; un decremento della flora lattobacillare e/o un aumento di ceppi patogeni (stafilococchi, pseudomonas, salmonelle, …) rappresentano un indice affidabile di stato disbiotico. L'esame è indaginoso e richiede tempo e personale addestrato; la stessa indagine può essere eseguita mediante tecniche di biologia molecolare che risulta più affidabile e richiede tempi brevi; i costi di quest'ultimo esame non sono ancora competitivi.

NB: nel caso in cui la clinica risulti suggestiva di infezione fungina, la ricerca di miceti nel campione fecale va eseguita su tre campioni consecutivi, in quanto la dismissione dei funghi non è regolare e la negatività di un campione non esclude la presenza di lieviti intestinali.

- ***Altri esami***: il dosaggio urinario (campione estemporaneo) di indolo e scatolo (metaboliti del triptofano) indicano una disbiosi nel tenue (indolo) o nel grosso intestino (scatolo), ma non tipizzano la disbiosi. Altro esame urinario oggetto di studio è il dosaggio dell'acido tartarico (vedi sopra) indicativo di disbiosi micotica.
- ***Indagine biochimica***: la biochimica fecale permette di evidenziare anomalie della permeabilità e dell'infiammazione intestinale (alfa-1 atitripsina e calprotectina), inoltre l'analisi della capacità digestiva (amidi, grassi e fibre muscolari) consente di descrivere sia un'insufficienza enzimatica (insieme al dosaggio dell'elastasi pancreatica) che un sovraccarico alimentare.
- Il dosaggio delle IgA secretorie da una misura della risposta immunologica intestinale

Bibliografia essenziale

1) Guarner F, Malagelada (2003) Gut flora in health and disease. The Lancet ,361(8):512-19
2) Beaugeire L Petit JC. (2004) Microbial gut interaction in health and disease. Antibiotica associated diarrea. Best Prac Res Clin Gastroenterlol 18: 337-42
3) Sears CL. (2005). A dynamic partnership: celabrating gut microflora: Anaerobe 11(5) 247-51.
4) Riordan SM, McIver CJ, Wakelfield D et al. (2007). Small intestinal mucosal immunity and morphometry in luminal overgrowth of indigenous gut flora. Am J Gastroenterol 96: 494-500
5) Vedantam G, Hecht DW (2007) Antibiotics anaerobes of gut origin. Cur Opin Microbiol. 6 (5) : 457-61
6) D'Antoni I, lo Piccolo A, Sidoti E et al. (2004). Il cibo come farmaco: probiotici, prebiotici,simbiotici. Acta Med Mediterranea 20: 127-30
7) Hidaka H, Eida T, Takiwasa T et al (1986). Effects of fruttooligosaccharides on intestinal flora and human health. Bifid Microflora 5:37-50
8) Gibson GR (1999) Dietary modulation of the human gut microflora using the prebiotics oligofrutctose and inulin. J Nutr 129: 1438-41
9) Shananah F (2002). The host microbe interface within the gut. Best Prac Reas Clin Gastroenterol.16 (6): 915-31
10) Gibson GR, Roberfroid MB. (1995) Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J Nutr 125: 1401-
11) Guarner F, Malagelada JR. (2003). Role of bacteria in experimental colitis. Best Pract Res Clin gastroenterol. 17 (5): 793-804.
12)Iantorno R, Lozio L, Paganelli P. Disbiosi e Immunità (2005) Tecniche Nuove, Milano
13) Kim, Namju, Geun Eog JI (2006) Modulatory activity of *Bifidobacterium sp*. BGN4 cellfractions on immune cells. J Microbiol Biotechnol, 16(4), 584-9
14)) Kim, Namju, Geun Eog JI, Jun Kunisawa etal. (2007), Oral feeding of Bifidobacterium bifidum (BGN4) prevents CD4, CD45RB, Tcell-mediated inflammatory bowel disease by inhibition of disordered T cell activation. Clinical Immunol, 123, 30-9
15) Bosscher D, Breynaert A, Pieters L, Hermans N. (2009) Food-based strategies to modulate the composition of the intestinal microbiota and their associated health effects.