

MINERVA

GASTROENTEROLOGICA  
E DIETOLOGICA

V O L . 5 7 · S U P P L . I · N . I · M A R Z O 2 0 1 1

**LE INTOLLERANZE ALIMENTARI: CARATTERISTICHE E  
ATTENDIBILITÀ DEI TEST DIAGNOSTICI ALTERNATIVI**

B. PALMIERI, S. CAPONE, A. ESPOSITO, G. FISTETTO, T. IANNITTI

*Si ringrazia la ditta Ganbon s.n.c. di Zuffo Adriano E Matteo & C.  
per la realizzazione di questa stampa*



E D I Z I O N I · M I N E R V A · M E D I C A

# Le intolleranze alimentari: caratteristiche e attendibilità dei test diagnostici alternativi

B. PALMIERI <sup>1</sup>, S. CAPONE <sup>1</sup>, A. ESPOSITO <sup>2</sup>, G. FISTETTO <sup>2</sup>, T. IANNITTI <sup>3\*</sup>

FOOD INTOLERANCE: AN UPDATE OF DIFFERENT ALTERNATIVE DIAGNOSTIC TESTS

The expression “food intolerance” dates back to the ancient Greece and can be generally defined as a sum of unpleasant symptoms of varying etiology that can onset in some patients after the ingestion of various food products. Adverse reactions to food can be divided into toxic and non-toxic. The last ones are classified as immunologically mediated, called “allergies”, and non-immunologically mediated, commonly defined as “intolerances”. The gut wall is directly involved in these adverse reactions to some foods, since it plays a key role in food absorption and in the regulation of the immunitary system. In this paper we discuss food intolerances and allergies, evaluating the available diagnostic methods and their scientific reliability and focusing on IgG analysis based immunoenzymatic test which is the most relevant test for intolerance diagnosis.

Key words: **Food hypersensitivity - Diagnostic tests, routine - Allergy and immunology.**

Le intolleranze alimentari fanno parte di un vasto gruppo di disturbi definiti come

*Conflitto d'interesse.*—Nessuno.

*Finanziamenti.*—Questo articolo non è stato supportato da fondi di alcun tipo.

\*Tutti gli Autori hanno contribuito in ugual misura.

Ricevuto il 17 gennaio 2011.

Accettato il 17 gennaio 2011.

Autore di contatto: T. Iannitti, Dipartimento di Scienze Biologiche e Biomediche, Glasgow Caledonian University, Glasgow, UK. E-mail: tommaso.iannitti@gmail.com.

<sup>1</sup>Dipartimento di Chirurgia Generale e Specialità Chirurgiche  
Università di Modena e Reggio Emilia  
Clinica Chirurgica, Modena, Italia

<sup>2</sup>Poliambulatorio del Secondo Parere  
Modena, Italia

<sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Biologiche e Biomediche, Glasgow Caledonian University  
Glasgow, UK

“reazioni avverse al cibo”, ovvero sintomi o segni clinici dati dall’assunzione di uno o più alimenti. Le reazioni avverse al cibo possono essere tossiche o non tossiche. Queste ultime dipendono dalla suscettibilità dell’individuo e si suddividono in allergie e intolleranze (Figura 1).

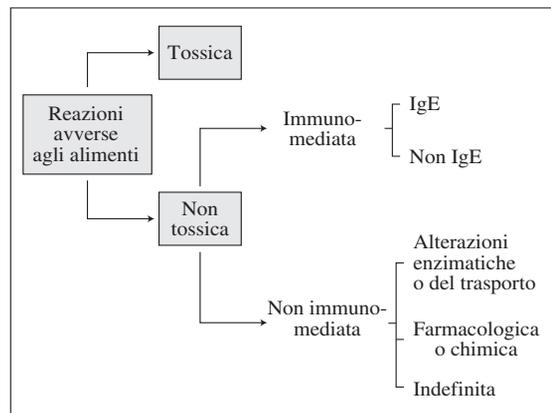


Figura 1. — Categorizzazione delle reazioni avverse agli alimenti.

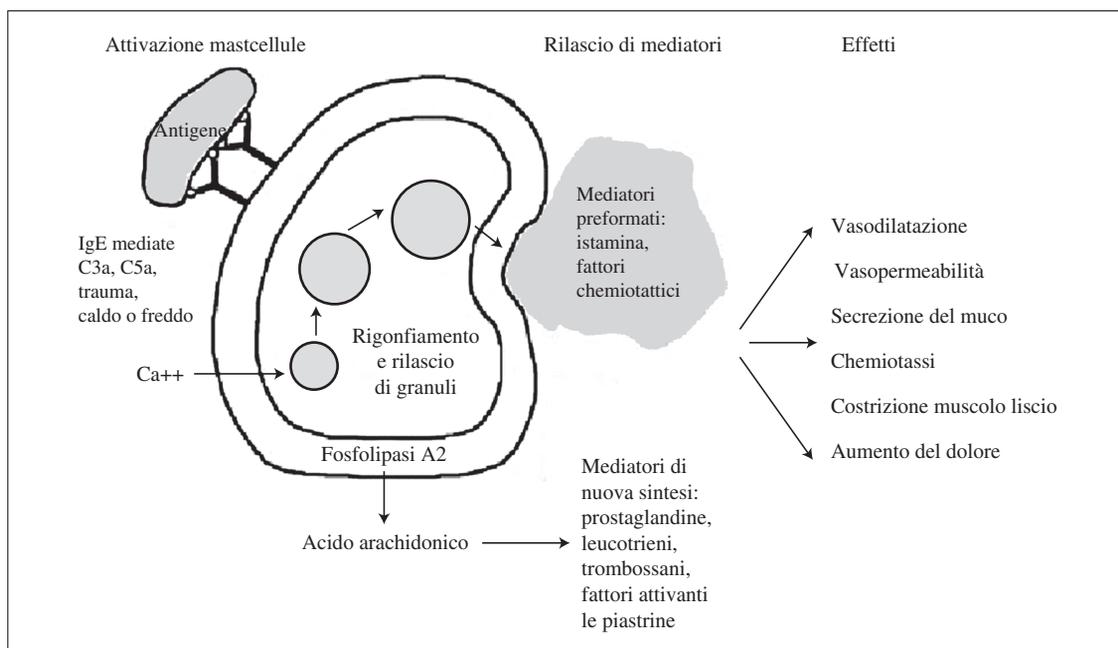


Figura 2. — Effetti dell'attivazione delle mastcellule <sup>1</sup>.

### Le allergie alimentari

Nelle allergie alimentari si ha un'ipersensibilità di tipo I, mediata dalle IgE e da componenti cellulari primari quali mastcellule o basofili. Esse sono reazioni immediate, sistemiche e intense e potenzialmente mortali.

Il meccanismo di reazione coinvolge principalmente la produzione delle IgE in risposta a determinati allergeni. Le IgE hanno un'elevata affinità per le mastcellule e, alla seconda esposizione all'allergene per cui si è sensibilizzati, si ha il legame dell'antigene con gli anticorpi IgE presenti sulle mastcellule e sui basofili sensibilizzati. Vengono così a crearsi legami crociati tra l'antigene che possiede più siti di legame Fc e più molecole di IgE, scatenando il rilascio di varie sostanze farmacologicamente attive. La degranulazione delle mastcellule è preceduta dall'aumento del Ca<sup>++</sup> intracellulare. Gli ionofori che aumentano il Ca<sup>++</sup> citoplasmatico promuovono anche la degranulazione mentre, gli agenti che esauriscono il Ca<sup>++</sup> citoplasmatico la sopprimono. Con la degranulazione delle mastcellule si ha il rilascio di mediatori primari come istamina e

fattori chemiotattici, e il rilascio di mediatori secondari sintetizzati *ex-novo* come prostaglandine, leucotrieni, trombossani e fattori attivanti le piastrine (Figura 2).

Ne risulta una completa vasodilatazione (rossore), vasopermeabilità (edema), secrezione di muco, chemiotassi, costrizione del muscolo liscio (bronicocostrizione) e aumento del dolore <sup>1</sup>.

La terapia di base dell'allergia alimentare è l'esclusione dalla dieta dell'alimento verso cui la persona è allergica, mentre alcuni farmaci possono essere utilizzati come calmanti della manifestazione allergica.

### Le intolleranze alimentari

Si stima che il 20% della popolazione sia affetto da intolleranze alimentari che sono spesso individuate con grande difficoltà, poiché possono manifestarsi dopo un certo periodo di tempo dal consumo dell'alimento responsabile.

La sintomatologia associata alle intolleranze alimentari è piuttosto variabile e i sintomi più comuni sono: colon irritabile <sup>2, 3</sup>,

mal di testa, emicrania, affaticamento, problemi comportamentali <sup>4</sup>, orticaria <sup>5</sup>. Questi sintomi, al contrario di quelli causati dalle allergie, sono dose-dipendente, meno acuti, con la tendenza a ripetersi nel tempo e sono difficilmente collegabili all'assunzione di un determinato alimento.

Esistono diverse tipologie di intolleranze alimentari e i test messi a punto sono numerosi. Le intolleranze enzimatiche sono determinate dall'incapacità, per difetti congeniti, di metabolizzare alcune sostanze presenti nell'organismo. L'intolleranza enzimatica più frequente è quella al lattosio, seguita dalla celiachia che è la forma più comune di intolleranza al grano. Di seguito elenchiamo alcuni test utili per la diagnosi delle intolleranze alimentari.

Il Breath Test al lattosio è una metodica rapida, semplice, riproducibile ed economica per diagnosticarne l'intolleranza. Questa metodica si basa sul fatto che normalmente, in presenza di lattasi, il lattosio viene scisso nell'intestino tenue in glucosio e galattosio, due monosaccaridi che vengono rapidamente assorbiti dalla mucosa intestinale senza produzione significativa di idrogeno. Quando esiste un deficit di lattasi, il lattosio arriva indigerito al colon dove la flora batterica intestinale lo sottopone a reazioni di fermentazione con produzione significativa di idrogeno, metano e anidride carbonica. Questi gas vengono assorbiti nel sangue e, una parte, viene espirata dai polmoni. Il Breath Test al lattosio misura proprio la quantità di idrogeno che viene espirata prima e dopo la somministrazione di lattosio e quindi permette di evidenziare la carenza di lattasi responsabile dell'intolleranza.

La diagnosi della malattia celiaca, invece, si basa sulla ricerca nel sangue, attraverso metodiche di laboratorio ormai validate, di particolari anticorpi prodotti dall'organismo:

— verso la gladiina (anticorpi anti-gladiina);

— verso tessuti intestinali (anticorpi anti-tiendomisio);

— verso enzimi intestinali (anticorpi anti-transglutaminasi).

In caso di positività degli anticorpi la

TABELLA I. — *Test e affidabilità diagnostica.*

Nessuna affidabilità	Bassa affidabilità	Alta affidabilità
Iridiologico	Test Citotossico	York Foodscan
Test del capello	Prime test	Natrix Food Intolerance test
Dria Test	Alcat test	Cerascreen Rapid IgG4
Vega test		Cytotossico FAST

conferma viene solo dalla biopsia intestinale che serve per valutare eventuali modificazioni della mucosa indotte dalla malattia.

Per le intolleranze alimentari non-IgE mediate, nel corso degli anni sono stati utilizzati diversi test (Tabella I) e, a differenza dei test per le intolleranze enzimatiche, si discute ancora sulla loro affidabilità.

Il Dria Test si basa sul principio che si possa verificare una riduzione della forza di contrazione muscolare quando il soggetto entra in contatto con sostanze nocive o allergizzanti. Questo test kinesiologico, associato a un sistema computerizzato, misura la forza di contrazione muscolare del quadricipite femorale prima e dopo il contatto con l'alimento sospetto. Una diminuzione della forza muscolare è ritenuta indice di intolleranza nei confronti di quell'alimento. Bisogna evidenziare che non è mai stato documentato un coinvolgimento dell'apparato muscolo scheletrico con le reazioni a un cibo e l'ipotetico deficit si realizzerebbe in tempi ben più brevi del tempo di circolo <sup>6</sup>. Inoltre, questo test non è applicabile ai bambini di età inferiore ai 4-5 anni, poiché è necessaria la collaborazione del paziente per mantenere costante lo sforzo.

Il Vega Test è un test elettrodermico che si basa sul presupposto che la resistenza elettrica della pelle misurata in un determinato punto subisca delle variazioni quando la cute entra in contatto con cibi allergizzanti.

Attraverso un particolare strumento viene misurata la resistenza elettrica della pelle, su punti specifici dell'agopuntura, prima e dopo il contatto con l'alimento.

Nel caso ci siano variazioni di resistenza elettrica cutanea, l'alimento è ritenuto danno-

TABELLA II. — *Kit alimenti.*

N. Vetrino	Sostanza	Sostanza	Sostanza
0	Soluzione veicolante	Soluzione veicolante	Soluzione veicolante
1	Grano	Grano controllo	Lievito
2	Riso	Mais	Soia
3	Latte	Latte controllo	Bovino
4	Uova	Uova controllo	Pollo
5	Maiale	Coniglio	Zucchero
6	Pomodoro	Patata	Carciofo
7	Fagiolo	Pisello	Oliva
8	Tonno	Gambero	Carota
9	Caffè	Tè	Cacao
10	Mela	Banana	Arancia
11	Limone	Ananas	Uva
12	Fragola	Ciliegia	Pesca
13	Mandorla	Noce	Camomilla
14	Orzo	Grano saraceno	Lenticchia
15	Aglio	Trota	Salmone
16	Merluzzo	Tacchino	Cipolla
17	Peperone	Cavolfiore	Cicoria

so per la persona. I risultati sono influenzati da diverse variabili come presenza di gioielli, pelle secca o sudore, campi magnetici e atmosfera del luogo dove viene fatto il test <sup>7,8</sup>.

L'iridologia è basata sull'analisi dell'iride e delle variazioni della motilità pupillare. Il movimento pupillare è determinato dall'attività antagonista del muscolo sfintere e del muscolo dilatatore dell'iride, stimolati rispettivamente dal sistema nervoso parasimpatico e simpatico. Il movimento della pupilla è, pertanto, un indicatore del tono simpatico-parasimpatico: nessuna variazione fisiologica, determinata dalla variazione del tono simpatico-parasimpatico è, infatti, così facilmente osservabile e misurabile come la dinamica pupillare, che può essere un mezzo per studiare la reattività dell'organismo, la presenza di ipersensibilità e di reattività abnorme ai più vari stimoli. Il test iridologico per individuare la presenza di intolleranze alimentari consiste nell'individuare l'abnorme risposta pupillare all'alimento, sebbene non ci sia alcuna validità diagnostica della metodica <sup>9</sup>.

Il test del capello determina la presenza

TABELLA III. — *Kit additivi.*

N. Vetrino	Sostanza	Sostanza	Sostanza
0	Soluzione veicolante	Soluzione veicolante	Soluzione veicolante
1	Glutine di grano	Acido acetil salicilico	Acido L-ascorbico
2	Potassio sorbato E 202	Sodio benzoato E 211	Paraossi-benzoato di metile E 418
3	Etilvanillina	Ammonio carbonato	Cremortartaro
4	Lecitina di soia E322	Pirofosfato di sodio E 331	Alginato di sodio E 401
5	Solfato di nichel	Tartrazina E 502	Eritrosina E 127
6	Farina di semi di carrube E 410	Farina di semi di guar E 412	Pectina E 440
7	Lattosio	Sodio metabisolfito	Acido citrico

di livelli anormali o tracce di metalli a livello dei capelli, che possono essere responsabili di intolleranze o allergie alimentari. È importante sottolineare che per questo test si è riscontrato un elevato numero di falsi positivi o risultati discordanti su campioni presi dallo stesso soggetto <sup>10</sup>.

Il test delle biointolleranze, o biotricotest, si basa sul principio della biorisonanza. Gli strumenti utilizzati effettuano una verifica di risonanza tra il campione di capelli e le frequenze che contengono le informazioni spettrali degli alimenti. La misura viene effettuata ponendo contemporaneamente in un circuito il campione dei capelli, opportunamente trattato, e ciascuna frequenza di interesse.

Quando gli strumenti forniscono l'indicazione di interferenza, si comprende se è presente una sovrapposizione di fase tra il campione e la sostanza inserita in circuito. Ciò consente di ricavare informazioni puntuali sui segnali con cui il sistema biologico è in dissonanza, cioè con gli alimenti che creano dei disturbi. Il biotricotest non è un esame diagnostico convalidato e riconosciuto scientificamente.

Il pulse test si fonda sul fatto che un'intolleranza può modificare la frequenza cardiaca ed essa viene monitorata in presen-

TABELLA IV. — *Kit alimenti e additivi.*

N. Vetrino	Sostanza	Sostanza	Sostanza
0	Soluzione veicolante	Soluzione veicolante	Soluzione veicolante
1	Grano	Grano controllo	Lievito
2	Riso	Mais	Soia
3	Latte	Latte controllo	Bovino
4	Uova	Uova controllo	Pollo
5	Maiale	Coniglio	Zucchero
6	Pomodoro	Patata	Carciofo
7	Fagiolo	Pisello	Oliva
8	Tonno	Gambero	Carota
9	Caffè	The	Cacao
10	Mela	Banana	Arancia
11	Glutine di grano	Acido acetil salicilico	Acido L-ascorbico
12	Potassio sorbato E 202	Sodio benzoato E 211	Paraossi-benzoato di metile E 418
13	Etilvanillina	Ammonio carbonato	Cremortartaro
14	Lecitina di soia E322	Pirofosfato di sodio E 331	Alginato di sodio E 401
15	Solfato di nichel	Tartrazina E 502	Eritrosina E 127
16	Farina di semi di carrube E 410	Farina di semi di guar E 412	Pectina E 440
17	Lattosio	Sodio metabisolfito	Acido citrico

za dell'allergene <sup>11</sup>. La dose test allergenica può essere somministrata per iniezione, per bocca o per inalazione. Non è mai stato standardizzato l'intervallo di tempo fra l'applicazione dell'allergene e la successiva modificazione del polso. Tuttavia, una modificazione di almeno 10 battiti/minuto è considerata una risposta positiva, anche se non c'è un accordo unanime fra gli esaminatori riguardo alla significatività di un incremento, una diminuzione o di entrambe. Un test affine è il test cardio-auricolare, secondo cui l'alimento posto a 1 cm dalla cute, se mal tollerato, dovrebbe provocare un riflesso auricolare-cardiaco che determina una modificazione del polso radiale. Anche per questa tipologia di test mancano prove scientifiche che ottemperino a criteri

di riproducibilità e ripetibilità.

Il test citotossico si basa sul principio che i globuli bianchi del soggetto intollerante, quando posti a contatto con gli alimenti che causano intolleranze, subiscono una modificazione più o meno grave, fino ad arrivare alla rottura <sup>12, 13</sup>. Non esiste nessuna dimostrazione che l'allergia o intolleranza alimentare sia sostenuta da meccanismi di citotossicità e non è mai stato dimostrato che questo test sia in grado di individuare reazioni immunologiche. In uno studio in doppio cieco, Benson *et al.* hanno identificato un elevato numero di risultati falsamente positivi e negativi che tolgono al test la validità clinica <sup>14</sup>. Inoltre, la ripetibilità dei risultati dipende dall'osservatore e quindi è condizionata pesantemente dalla soggettività dell'esaminatore <sup>15</sup>. Questa metodica è stata importata in Italia, modificata, ottimizzata e brevettata con il nome di Cytotest®. La composizione dei kit è la seguente (Tabelle II-IV):

— il kit per alimenti è composto da 51 sostanze;

— il kit per le sostanze chimiche (additivi, conservanti, coloranti) è composto da 21 sostanze;

— il kit alimenti+sostanze chimiche è composto da 30 alimenti e 21 sostanze chimiche.

Per ogni sostanza la lettura deve prevedere l'osservazione di più campi <sup>4, 5</sup>.

Si può parlare di reazione positiva solo qualora l'osservazione evidenzia un danneggiamento cellulare con una frequenza superiore al 60-70%.

Il Prime Test è una recente metodica del test citotossico in cui la soluzione è iniettata lateralmente e non dall'alto e crea uno strato uniforme d'antigeni. Questa fase controllata fa in modo che lo strato d'antigeni sia uniforme e che si possano ottenere dei risultati più precisi. Questo tipo di test è stato il primo ad includere un controllo positivo ed uno negativo per poterne verificare la validità. Inoltre, si possono valutare anche anomalie di altri elementi cellulari del sangue, quali piastrine e una minima quantità di eritrociti. Considerando quattro livelli di reazione positiva e sempre in base alla per-

centuale di leucociti danneggiati rispetto al controllo negativo, l'alimento viene eliminato dalla dieta per un periodo di tempo proporzionale alla gravità della reazione stessa. È stata proposta anche una versione automatizzata del test citotossico: l'ALCAT Test<sup>16</sup>, che utilizza uno strumento in grado di evidenziare la reazione avversa agli alimenti attraverso la valutazione del numero e delle dimensioni dei granulociti neutrofili.

Infatti, una variazione del numero e delle dimensioni dei granulociti neutrofili è segnale di una reazione avversa a quel determinato alimento. Questa metodica automatizzata ha dato luogo a diversi risultati controversi<sup>17</sup>.

L'unico test citotossico certificato su sangue, brevettato e notificato dal Ministero della Salute con marchio CE è il CytoTest della Italian Cytotoxic di Roma in collaborazione con la Natural S.r.l.

Per la riuscita del test è fondamentale la concentrazione di ogni materia prima che viene specificatamente diluita in acqua distillata (ogni alimento è diluito in modo diverso) per poi essere sottoposta ad elettroforesi e spettrofotometria delle proteine.

Ciascun vetrino è sottoposto a sette lavaggi con specifici catalizzatori e relativi fissaggi; il tutto avviene in un sistema automatizzato di produzione con una macchina realizzata appositamente e che è in grado di eseguire anche la sterilizzazione del campione grazie a un'esposizione di dodici ore ai raggi ultravioletti. Il campione viene comunque sottoposto ad analisi microscopica per valutare l'eventuale presenza di batteri. Questo test è utilizzato da medici e strutture ospedaliere per la cura di diverse patologie come cefalee, colon irritabile, dermatiti, iperattività, ma anche per valutare la performance fisica nello sport agonistico ottenendo risultati significativamente positivi. La lettura dei risultati è ancora soggettiva e dipende dall'esperienza dell'osservatore<sup>17</sup>.

### **Test immunoenzimatico IgG**

Tra le diverse modalità usate da molti professionisti tradizionali e alternativi, il

test più promettente si è dimostrato quello basato sull'analisi delle immunoglobuline G (IgG) con risultati clinicamente significativi.

Esso è stato utile come guida per la dieta di eliminazione, con impatto clinico per diverse malattie. Ripetute esposizioni a un antigene possono produrre risposte simil allergiche o ipersensibilità. Queste reazioni tardive sono determinate dalle IgG e compaiono dopo ore, o anche giorni, dall'esposizione iniziale.

L'ipersensibilità ritardata al cibo scatena una risposta immune producendo anticorpi IgG e, a differenza delle reazioni dovute alle IgE, non scatenano direttamente la degranulazione delle mastcellule. Gli anticorpi IgG sono elaborati circa un mese dopo il riconoscimento dell'antigene, così la presenza di anticorpi specifici IgG generalmente corrisponde ad una "maturazione" della risposta anticorporea. In particolare i sottotipi IgG1 e IgG4 sono associati alla risposta immunitaria al cibo<sup>18, 19</sup>.

### **Le IgG**

La classe delle immunoglobuline IgG ha un'elevata emivita (21 giorni) e costituisce circa il 75% del pool delle immunoglobuline del siero totale.

Sulla base di differenze strutturali, antigeniche e funzionali nella regione costante della catena pesante, in particolare CH1 e CH3, sono stati identificati 4 sottoclassi di IgG: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Gli anticorpi IgG sono numerati in ordine di concentrazione sierica, IgG1(67%), IgG2(22%), IgG3 (7%), IgG4 (4%).

Le differenze nei domini CH influenzano la flessibilità e l'affinità funzionale degli anticorpi, la mobilità o flessibilità delle porzioni F(ab) e Fv dell'anticorpo sono controllate principalmente dal dominio CH1. Le sottoclassi di IgG hanno diverse attività funzionali. L'attivazione della cascata del complemento è un mezzo importante per l'eliminazione dei patogeni opsonizzati. La sottoclasse IgG4 è la sola che non riesce a fissare il complemento, non ha affinità per C1q che è il primo componente della via

TABELLA V. — *Proprietà delle immunoglobuline.*

	Siero %	Struttura	Attacco al complemento	Opsonizzante	Attraversa la placenta	FcγR
IgG1	67%	Monomero	Si	Si	Si	I, II
IgG2	22%	Monomero	Si	Si	Si	III
IgG3	7%	Monomero	Si	Si	Si	I, II, III
IgG4	4%	MONOMERO	No	No	Si	I, II

del complemento e si lega al dominio CH2 delle IgG (Tabella V) <sup>20</sup>.

Sono stati condotti studi sul dosaggio delle IgG4 su pazienti asintomatici e pazienti con sintomi da reazioni avverse al cibo. I livelli di IgG4 nei pazienti sintomatici sono maggiori rispetto ai controlli, quindi il loro dosaggio assume un ruolo importante nell'escludere l'intolleranza alimentare grazie al suo soddisfacente valore predittivo negativo <sup>21</sup>. Lo York Foodscan utilizza la metodica standardizzata ELISA per dosare le IgG, offrendo un alto grado di ripetibilità (>90%). Questo test si basa sul prelievo di sangue venoso o capillare e determina la presenza delle IgG prodotte verso 113 antigeni alimentari. Il Natrix Food Intolerance Test dosa le IgG per un numero di alimenti pari a 184. L'esito completo del test è riportato poi in una tabella dove sono elencati tutti gli alimenti analizzati e la percentuale di reattività.

Il Cerascreen Rapid IgG4, anch'esso test qualitativo basato su metodo Elisa, è un test rapido per lo screening dei 13 alimenti e mix riconosciuti come i principali responsabili di intolleranze alimentari. Si effettua con una sola goccia di sangue capillare ed il risultato è disponibile in trenta minuti.

È stato evidenziato, recentemente, che, almeno in prima analisi, è poco indicativo indagare su un elevato numero di alimenti. Infatti, uno studio condotto su 6 880 pazienti in base a 163 alimenti testati, ha indicato che solo 44 alimenti generano intolleranza con un'incidenza del 10% e solo 14 hanno superato la soglia del 20% <sup>22</sup>. Tra questi alimenti figurano il latte di capra, vaccino e di pecora, l'albume, il lievito e vari formaggi. Tutti questi alimenti, noti per il loro ruolo potenzialmente allergizzante, possono essere testati con Cerascreen Rapid G4.

Il dosaggio immunoenzimatico delle IgG4 specifiche e il test di citotossicità sono stati messi a confronto e dai risultati preliminari si è visto che c'è una buona concordanza (92-97%) tra le metodiche, facendo riferimento ad alcuni particolari allergeni come latte, albume e avena. Inoltre, dall'osservazione della casistica totale, inoltre si è visto come alcuni degli allergeni risultino più ampiamente rappresentati <sup>23</sup>. La citometria a flusso è una tecnica che analizza le caratteristiche fisiche e biologiche delle cellule quando sono marcate con anticorpi associati a fluorocromi o altri coloranti. Il flow-cytometric allergen stimulation test (FAST), commercialmente conosciuto come Flow Cast (Bühlmann Laboratories, Allschwil, Svizzera) o Basotest (Beckton-Dickinson), è basato sull'attivazione *in-vitro* dei basofili allergene-indotta da speciali allergeni che usano l'espressione sulla superficie del CD63 come mezzo di rilevazione <sup>24, 25</sup>.

Infatti, quando i basofili sono stimolati *in vitro* dall'incubazione con l'allergene, la risultante espressione del CD63 sulla superficie cellulare è rilevata tramite un anticorpo monoclonale marcato con FITC fluorescente <sup>26, 27</sup>.

Questa tecnica viene utilizzata per individuare allergie agli additivi presenti negli alimenti che sono largamente utilizzati come coloranti, conservanti e che conferiscono alcune caratteristiche al cibo come struttura, gusto, durata e profumo.

Il sodio benzoato (E211) è un acido benzoico che viene comunemente utilizzato nelle bibite, nei succhi di frutta e nelle paste piccanti.

I benzoati hanno proprietà anti batteriche e antimicotiche e possono causare sintomi quali orticaria, asma e angioedema.

I sodio solfiti come meta-bisolfito di po-

tassio (E224) sono coloranti del gruppo E220 (E220-E227) contenuti tipicamente in birra, bibite, frutta disidratata, succhi, vino aceto, derivati delle patate. Vengono utilizzati per conservare carni trattate e affumicate e insalate. I solfiti possono causare sindromi allergiche orali, orticaria e angioedema.

Il nitrito di sodio (E250) è utilizzato come additivo nella produzione di carne e pesce prevenendo la crescita batterica come quella del *Clostridium botulinum* e causare anch'esso orticaria, talvolta cronica.

Il sodio salicilato (E218) può indurre orticaria, asma e polipi nasali. Si trova nella polvere di curry, paprika, frutta e nella buccia della frutta, tè e miele. Gli individui sensibili ai salicilati tendono anche ad avere reazioni avverse a benzoato e tartrazina.

Il test viene eseguito stimolando il sangue EDTA separato, con questi allergeni più comuni in tre diverse concentrazioni.

Il cut off utilizzato dal Flow Cast test è: espressione del CD63 >5%; SI (Indice di Stimolazione) >2 per tutte le concentrazioni di allergeni.

Il Flow2 Cast® (Bühlmann Laboratories) di ultima generazione combina 2 markers di espressione dei basofili attivati su campione di sangue intero, oltre al CD63 valuta anche l'espressione di CCR3, recettore per l'eotossina costitutivamente espresso sui basofili<sup>28</sup>.

Il CCR3 è rilevato tramite un anticorpo monoclonale marcato con PE (fosfatidil etanolamina) fluorescente. Con l'introduzione di questo marker, il gating dei basofili è significativamente più facile da effettuare rispetto al precedente Cast®, e in questo modo si evita anche la contaminazione dei basofili da parte dei monociti.

Al fine di individuare anche la popolazione di potenziali non responders alle IgE (circa il 5%), il Flow2 Cast® contiene fLMP (N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine) come controllo positivo aggiuntivo, che reagisce in modo indipendente dalle IgE.

I due metodi sono stati confrontati, risultando entrambi attendibili, dimostrando la stessa sensibilità e specificità<sup>29</sup>.

## Discussione

La parete intestinale ha un compito fondamentale nell'assorbimento del cibo e nella regolazione del sistema immunitario, quindi l'alterato assorbimento e la sensibilizzazione al cibo sarebbero le cause che stanno alla base delle intolleranze alimentari. Tra le diverse modalità di test utilizzati per le intolleranze alimentari, il più attendibile è quello basato sull'analisi delle IgG, con risultati clinicamente significativi. In particolare il dosaggio delle IgG4 ha un ruolo importante nell'escludere l'intolleranza alimentare grazie al suo alto valore predittivo negativo.

Questo test sensibile e specifico può essere utilizzato come guida per la dieta di eliminazione, con un impatto clinico per diverse malattie o sintomatologie.

Gli anticorpi IgG possono essere essi stessi patogeni; per esempio, è stato dimostrato sperimentalmente che anticorpi IgG aumentano la permeabilità della parete dell'intestino tenue e portano ad allergia alimentare.

Inoltre, l'im maturità dello sviluppo dei componenti della barriera intestinale, che porta a iperpermeabilità, potrebbe spiegare la prevalenza delle allergie alimentari nella prima infanzia<sup>30</sup>. La diminuzione della funzione della barriera intestinale porta a una maggiore circolazione dell'antigene alimentare a livello sistemico e a una sensibilizzazione immunocitica. La produzione di IgG è una risposta protettiva del corpo contro un antigene estraneo. Quando il test risulta indicativo di una sensibilità IgG per un grande numero d'alimenti, esso si associa a un aumento della permeabilità intestinale piuttosto che a intolleranze alimentari. Molti pazienti con la sindrome del colon irritabile spesso hanno segnalato qualche forma d'intolleranza alimentare e Atkinson *et al.* furono i primi a studiare gli anticorpi IgG associati alla dieta d'eliminazione per la sindrome del colon irritabile<sup>31</sup>.

Essi conclusero che l'eliminazione alimentare sulla base degli anticorpi IgG può essere efficace nel ridurre i sintomi del colon irritabile ed è degna di ulteriore ricer-

ca biomedica. Anche Zar, sulla base dello studio precedente, condusse ulteriori esperimenti che evidenziarono un aumento delle IgG sieriche, ma non gli anticorpi IgE, nella sindrome del colon irritabile per alimenti comuni come frumento, manzo, maiale e agnello <sup>32</sup>.

Yang *et al.* hanno confermato questi studi dimostrando che i livelli degli anticorpi IgG del siero sono aumentati nei pazienti affetti dalla sindrome del colon irritabile rispetto ai controlli <sup>33</sup>. Studi futuri esamineranno i risultati dell'associazione del test delle IgG4 e dell'idrocolonterapia la quale viene proposta, da alcuni, come trattamento complementare, integrativo e naturale per eliminare gli apteni, gli allergeni o le sostanze tossiche, responsabili del danno leucocitario, in quanto favorisce la detossinazione, insieme alla rimozione di scorie dal lume intestinale.

### Conclusioni

Sotto questo profilo, modernamente, anche la ricerca di eventuali reazioni di leucociti basofili a eccipienti e conservanti, completa l'indagine conoscitiva nutrizionale, approfondendo, in modo adeguato, la fisiopatologia dei processi di intolleranza agli alimenti.

### Riassunto

L'espressione "intolleranza alimentare" risale all'antica Grecia e si può generalmente definire come un insieme di sintomi spiacevoli con svariata etiologia che può scatenarsi in alcuni pazienti dopo l'ingestione di prodotti alimentari di vario genere. Le reazioni avverse al cibo si possono distinguere in tossiche e non tossiche. Queste ultime sono a loro volta suddivise in mediate dal sistema immunitario, chiamate "allergie", e non mediate dal sistema immunitario, comunemente definite "intolleranze". La parete intestinale è direttamente coinvolta in queste reazioni avverse ad alcuni cibi, poiché essa gioca un ruolo chiave nell'assorbimento del cibo e nel controllo del sistema immunitario. In questo articolo discutiamo le intolleranze alimentari e le allergie e valutiamo i metodi diagnostici attualmente disponibili e la loro affidabilità. In particolare analizziamo il

test immunoenzimatico basato sull'analisi delle IgG che è attualmente il più importante per la diagnosi sulle intolleranze.

Parole chiave: Cibo, ipersensibilità - Test diagnostici - Allergie e immunologia.

### Bibliografia

- Mullin GE, Swift KM, Lipski L, Turnbull LK, Rampertab SD. Testing for food reactions: the good, the bad, and the ugly. *Nutr Clin Pract* 2010;25:192-8.
- Jones VA, McLaughlan P, Shorthouse, Workman E, Hunter JO. Food intolerance: A major factor in the pathogenesis of irritable bowel syndrome. *Lancet* 1982;8308:1115-7.
- Nanda R, James R, Smith H, Dudley CR, Jewell DP. Food intolerance and the irritable bowel syndrome. *Gut* 1989;30:1099-104.
- Pelsser LMJ, Frankena K, Toorman J, Pelsser LM, Frankena K, Toorman J *et al.* A randomized controlled trial into the effects of food and ADHD. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2009;18:12-9.
- Di Lorenzo G, Pacor ML, Mansueto P, Martinelli N, Esposito-Pellitteri M, Lo Bianco C *et al.* Food-additive-induced urticaria: A survey of 838 patients with recurrent chronic idiopathic urticaria. *Int Arch Allergy Immunol* 2005;138:235-42.
- Skopp AL. An experimental evaluation of kinesiology in allergy and deficiency diseases diagnosis. *J Orthomolecular Psychiatry* 1978;17:137-8.
- McEvoy RJ. Vega testing in the diagnosis of allergic conditions. *Med J Aust* 1991;155:350.
- Lewith GT, Kenyon JN, Broomfield J, Prescott P, Goddard J, Holgate ST. Is electrodermal testing as effective as prick test for diagnosing allergies? A double-blind randomized block design study. *BMJ* 2001;322:131-4.
- Ernest E. Iridology: a systematic review. *Forsch Komplementarmed* 1999;6:7-9.
- Sethy TJ, Lessof MH, Kemeny DM, Lambourn E, Tobin S, Bradley A. How reliable are commercial allergy tests? *Lancet* 1987;1:92-4.
- Coca AF. The pulse test. New York, NY: L. Stuart; 1956.
- Black AP. A new diagnostic method in allergic diseases. *Pediatrics* 1956;17:716.
- Bryan WTK, Bryan MP. Diagnosis of food allergy by cytotoxic reactions. *Trans Am Soc Ophthal Otolaryngol Allergy* 1967;8:14.
- Benson TE, Arkins JA. Cytotoxic testing for food allergy: evaluations of reproducibility and correlation. *J Allergy* 1976;58:471-6.
- Lieberman P, Crawford L, Bjelland J, Connell B, Rice M. Controlled study of the cytotoxic food test. *JAMA* 1975;231:728-30.
- Pastula MJ. The ALCAT test: in vitro procedure for determining food sensitivities. *Folia Medical Cravoviensia* 1993;34:153-7.
- Bindslev JC, Poulsen LK. What do we at present know about the ALCAT test and what is lacking? *Monogr Allergy* 1996;32:228-32.
- Lauletta E, Ferri MC. Oltre l'evidenza. Mitologia e verità sulle intolleranze alimentari. Montespertoli, FI: M.I.R. Edizioni; 2007.
- Potter PC, Mullineux J, Weinberg EG, Haus M, Ireland P, Buys C *et al.* The ALCAT test inappropriate in testing for food allergy in clinical practice. *S Afr Med J* 1992;81:384.
- Schroeder HW Jr, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. *J Allergy Clin Immunol*

- 2010;125(Suppl 2):S41-52.
21. Bernardi D, Borghesan F, Faggian D, Bianchi FC, Favero E, Billeri L *et al.* Time to reconsider the clinical value of immunoglobulin G4 to foods? *Clin Chem Lab Med* 2008;6:687-90.
  22. Volpi N, Maccari F. Serum IgG responses to food antigens in the Italian population evaluated by highly sensitive and specific ELISA test. *J Immunoassay Immunochem* 2009;30:51-69.
  23. De Pità O, Ruffelli M. La diagnosi delle intolleranze alimentari a confronto: metodica citotossica e IgG4. *Lavori scientifici, Natural Srl*, 2005.
  24. Sanz ML, Maselli JP, Gamboa PM, Oehling A, Diéguez I, de Weck AL. Flow cytometric basophil activation test: a review. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2002;12:143-54.
  25. Moneret-Vautrin DA, Kanny G, Frémont S. Laboratory tests for diagnosis of food allergy: advantages, disadvantages and future perspectives. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2003;35:113-9.
  26. Erdmann SM, Heussen N, Moll-Slodowy S, Merk HF, Sachs B. CD63 expression on basophils as a tool for the diagnosis of pollen-associated food allergy: sensitivity and specificity. *Clin Exp Allergy* 2003;33:607-14.
  27. Moneret-Vautrin DA, Sainte-Laudy J, Kanny G, Frémont S. Human basophil activation measured by CD63 expression and LTC4 release in IgE-mediated food allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999;82:33-40.
  28. Hausmann OV, Gentinetta T, Fux M, Ducrest S, Pichler WJ, Dahinden CA. Robust expression of CCR3 as a single basophil selection marker in flow cytometry. *Allergy* 2010 [Epub ahead of print].
  29. Sampson HA. Food allergy. Part 1: immunopathogenesis and clinical disorders. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:717-28.
  30. Nowak-Węgrzyn A, Bloom KA, Sicherer SH, Shreffler WG, Noone S, Wanich N *et al.* Tolerance to extensively heated milk in children with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:342-7.
  31. Atkinson W, Sheldon TA, Shaath N, Whorwell PJ. Food elimination based on IgG antibodies in irritable bowel syndrome: a randomised controlled trial. *Gut* 2004;53:1459-64.
  32. Zar S. Food-specific serum IgG4 and IgE titers to common food antigens in irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2005;100:1558-9.
  33. Yang CM, Li YQ. The therapeutic effects of eliminating allergic foods according to food-specific IgG antibodies in irritable bowel syndrome. *Zhonghua Nei Za Zhi* 2007;46:641-3.