



Giornate Catanesi di Nutrizione Clinica - VI

COLLABORATIVE  
PROBLE SOLVING  
IN NUTRIZIONE CLINICA  
Catania, 23-24 Giugno 2022

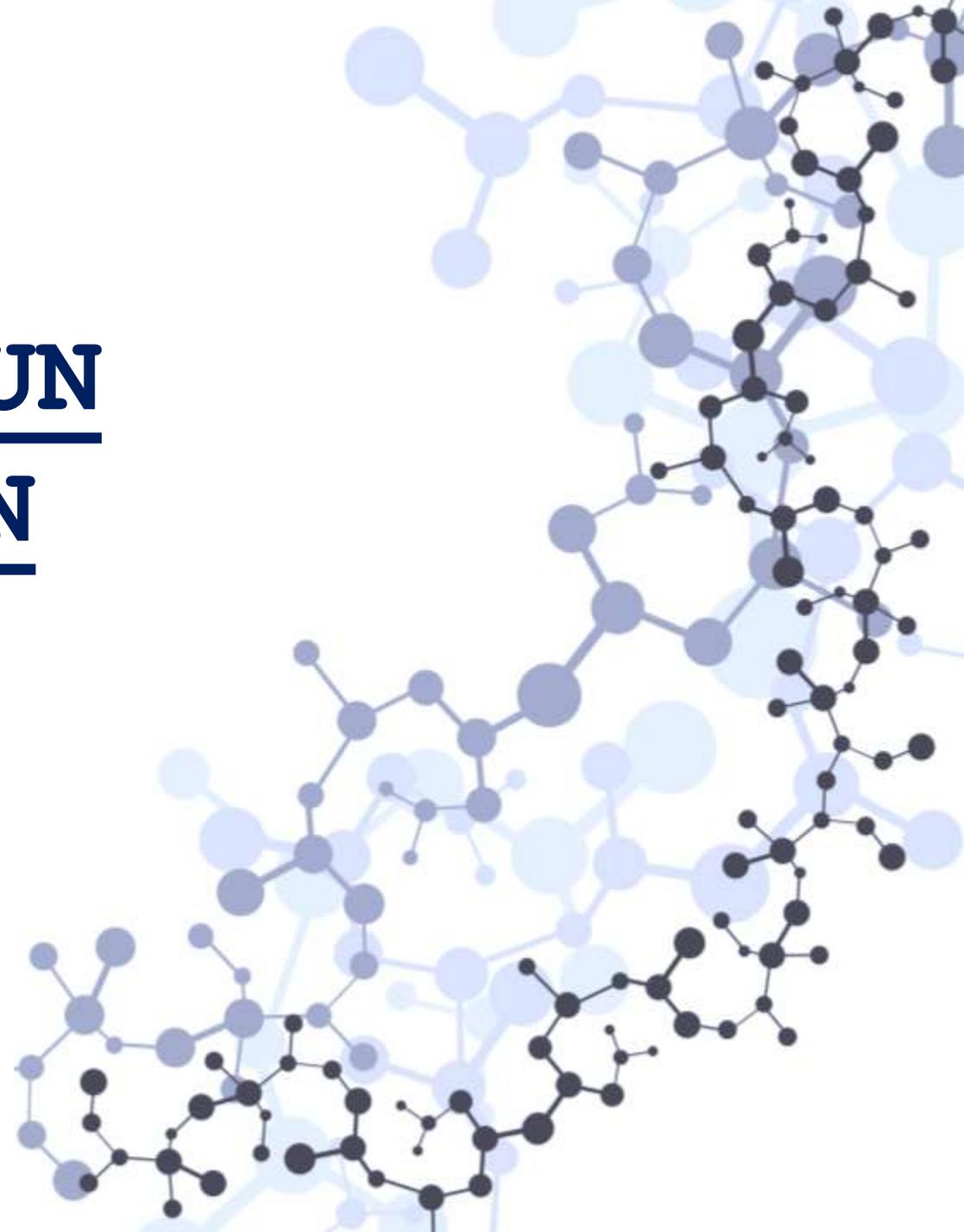
# INTERPRETAZIONE DI SPECIFICI PROFILI MICROBICI

Dr. Andrea Castagnetti, PhD

*Direttore Generale & Co-fondatore Wellmicro Srl*



**COSA SERVE A UN**  
**MICROBIOTA IN**  
**EUBIOSI?**



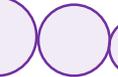
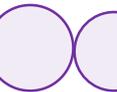
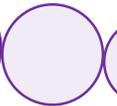
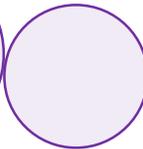
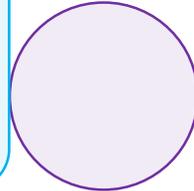
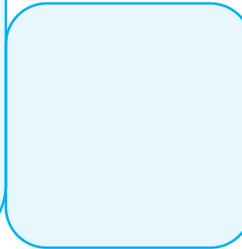
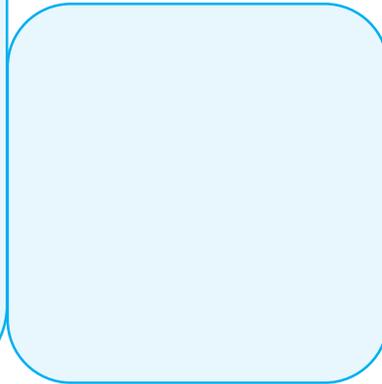
# 1. «ARCHITETTURA» DEL MICROBIOTA INTESTINALE

**EUBIO**



**TAXA**

**DOMINANTI**



**TAXA**

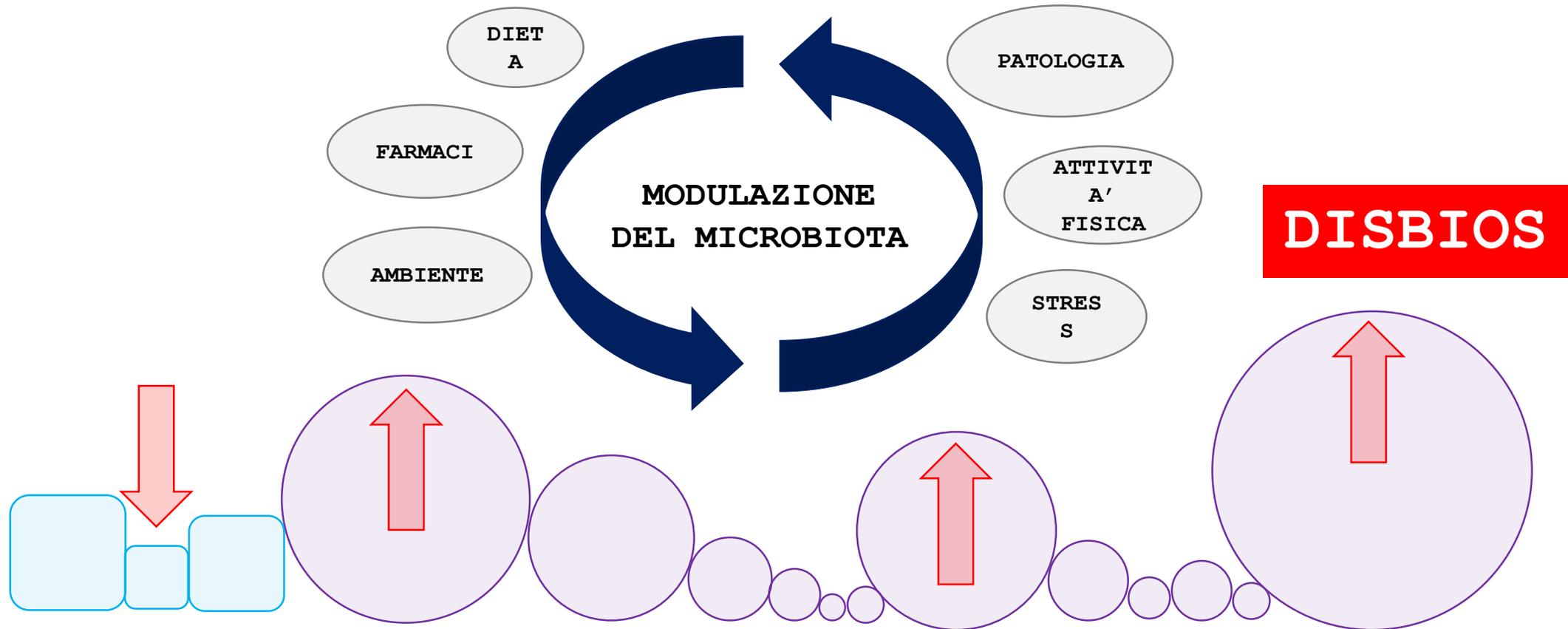
**SUB-DOMINANTI**

**DOMINANZA/ABBONDANZA RELATIVA**

# ARCHITETTURA DEL MICROBIOTA IN

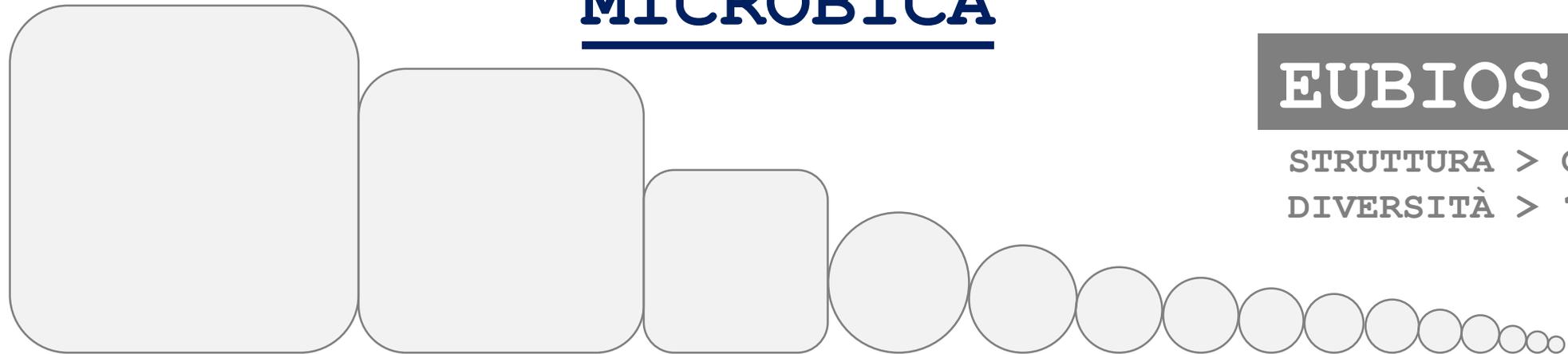
## DISBIOSI

EUBIOS



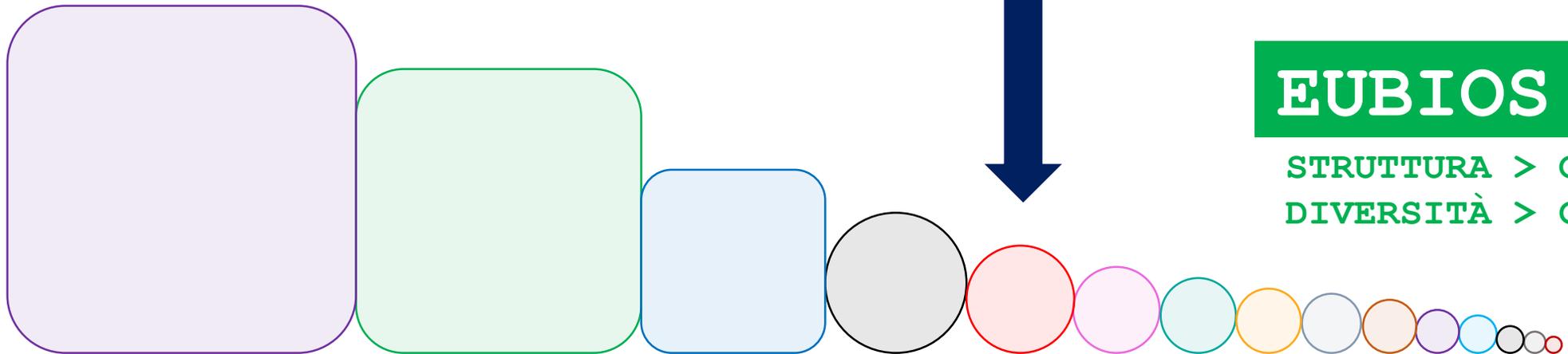
## 2. $\alpha$ -DIVERSITÀ: LA «TAVOLOZZA»

### MICROBICA



**EUBIOS**

STRUTTURA > OK  
DIVERSITÀ > ???



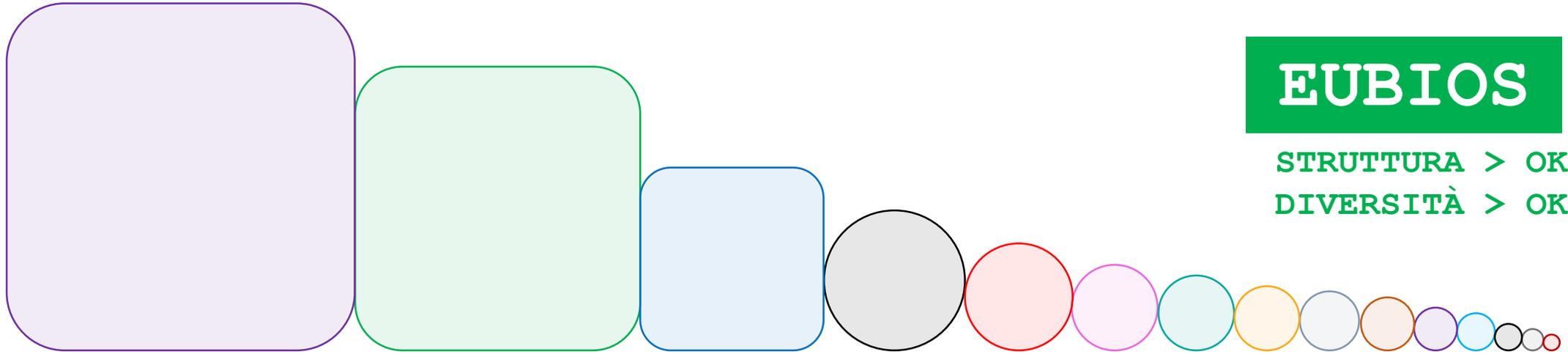
**EUBIOS**

STRUTTURA > OK  
DIVERSITÀ > OK

# $\alpha$ -DIVERSITÀ: NUMERO SPECIE

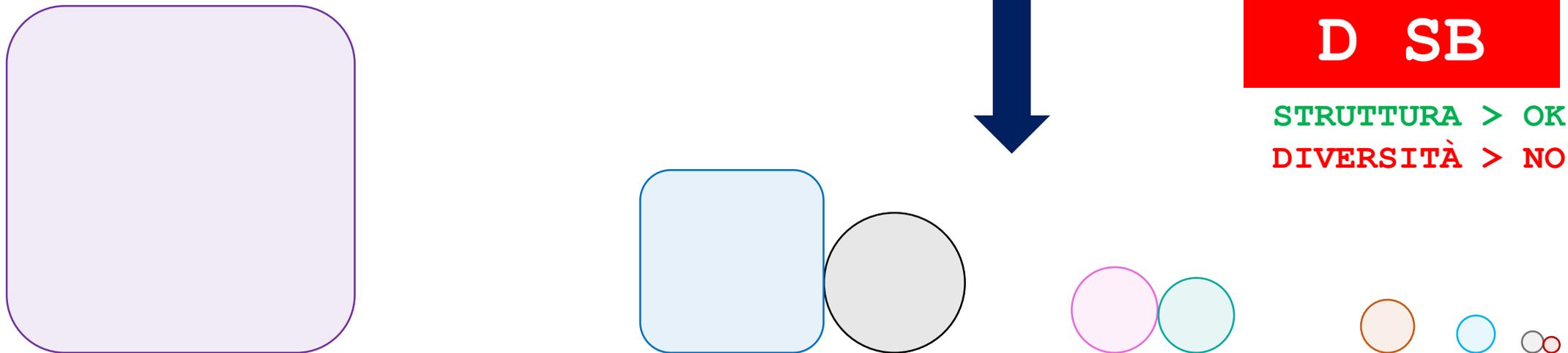
**EUBIOS**

STRUTTURA > OK  
DIVERSITÀ > OK

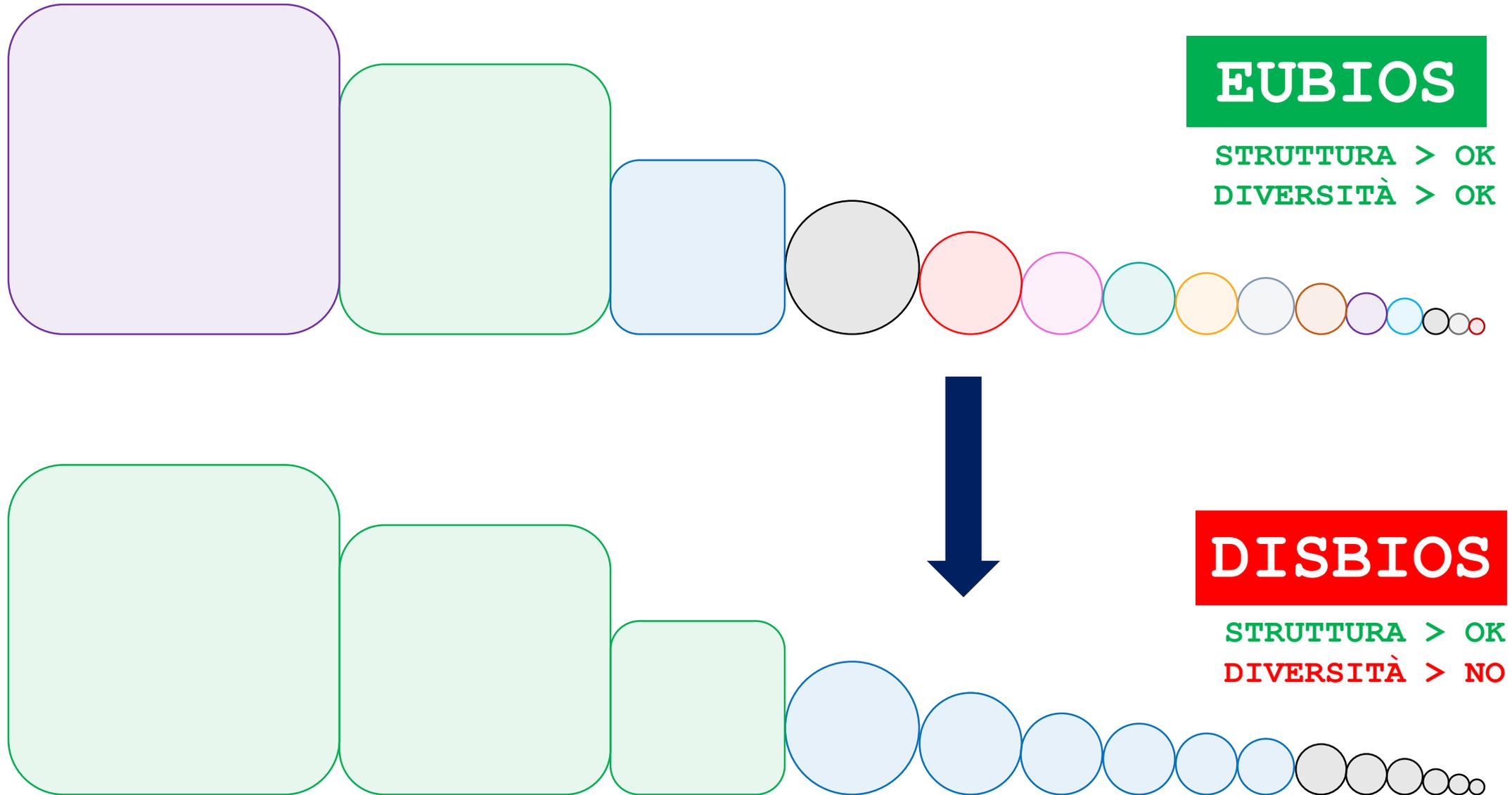


**D SB**

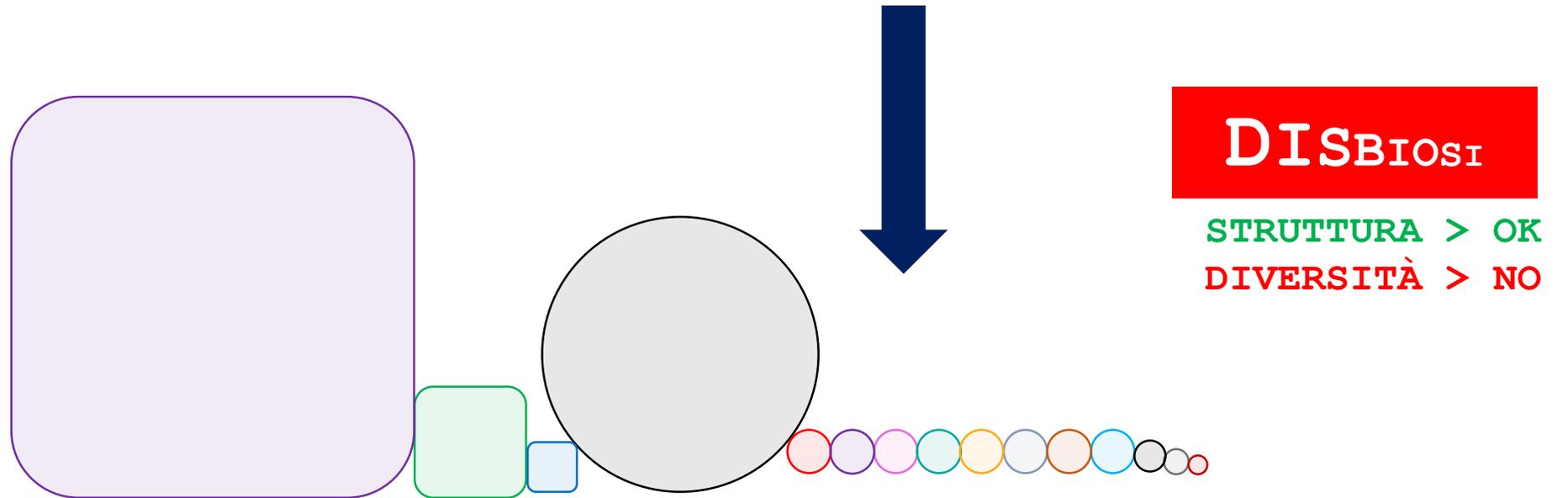
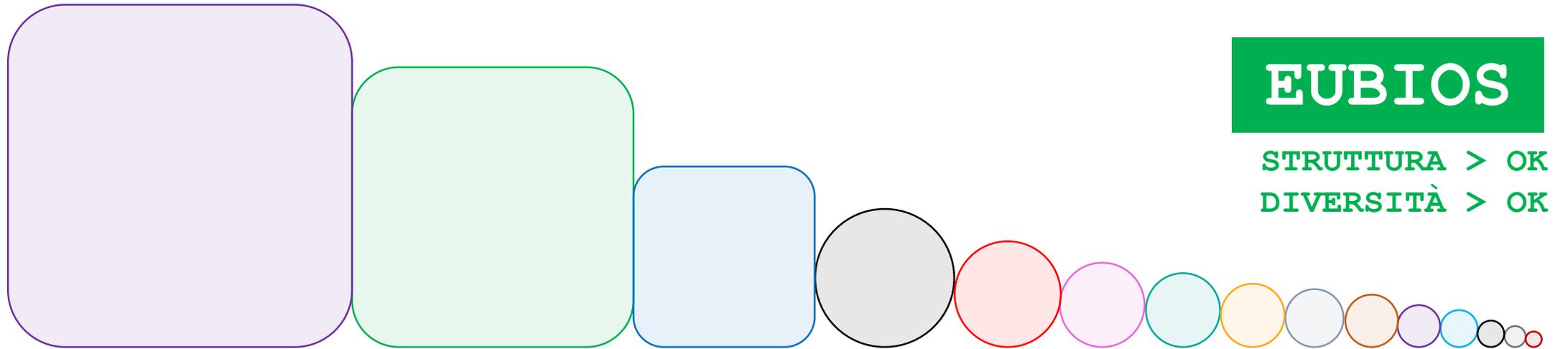
STRUTTURA > OK  
DIVERSITÀ > NO



# $\alpha$ -DIVERSITÀ: DISTANZA FILOGENETICA

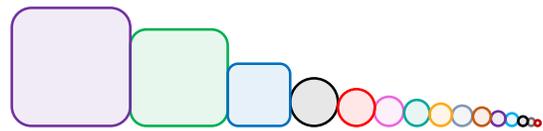


# $\alpha$ -DIVERSITÀ: DISTRIBUZIONE SPECIE

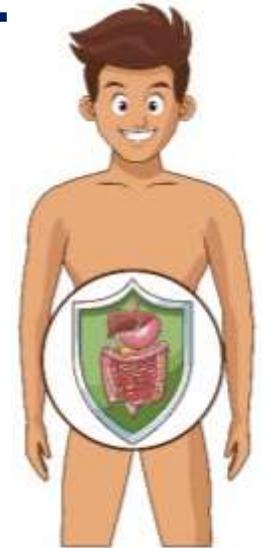


# 3. DA COMPOSIZIONE A FUNZIONE

**EUBIOSI**



**CORRETTO** PATTERN  
METABOLICO/FUNZIONALE



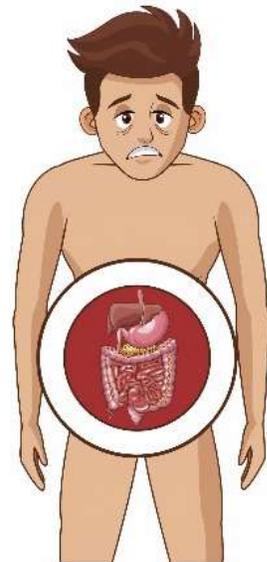
**(n) D** sBI



**S.I.**



**(n) SCORRETTI** PATTERN  
METABOLICO/FUNZIONALI



# PRINCIPI PER LA LETTURA DI UN PROFILO MICROBICO

Osservare la  
**BIODIVERSITÀ**

La  
biodiversità  
è bassa o  
assume valori  
ottimali?

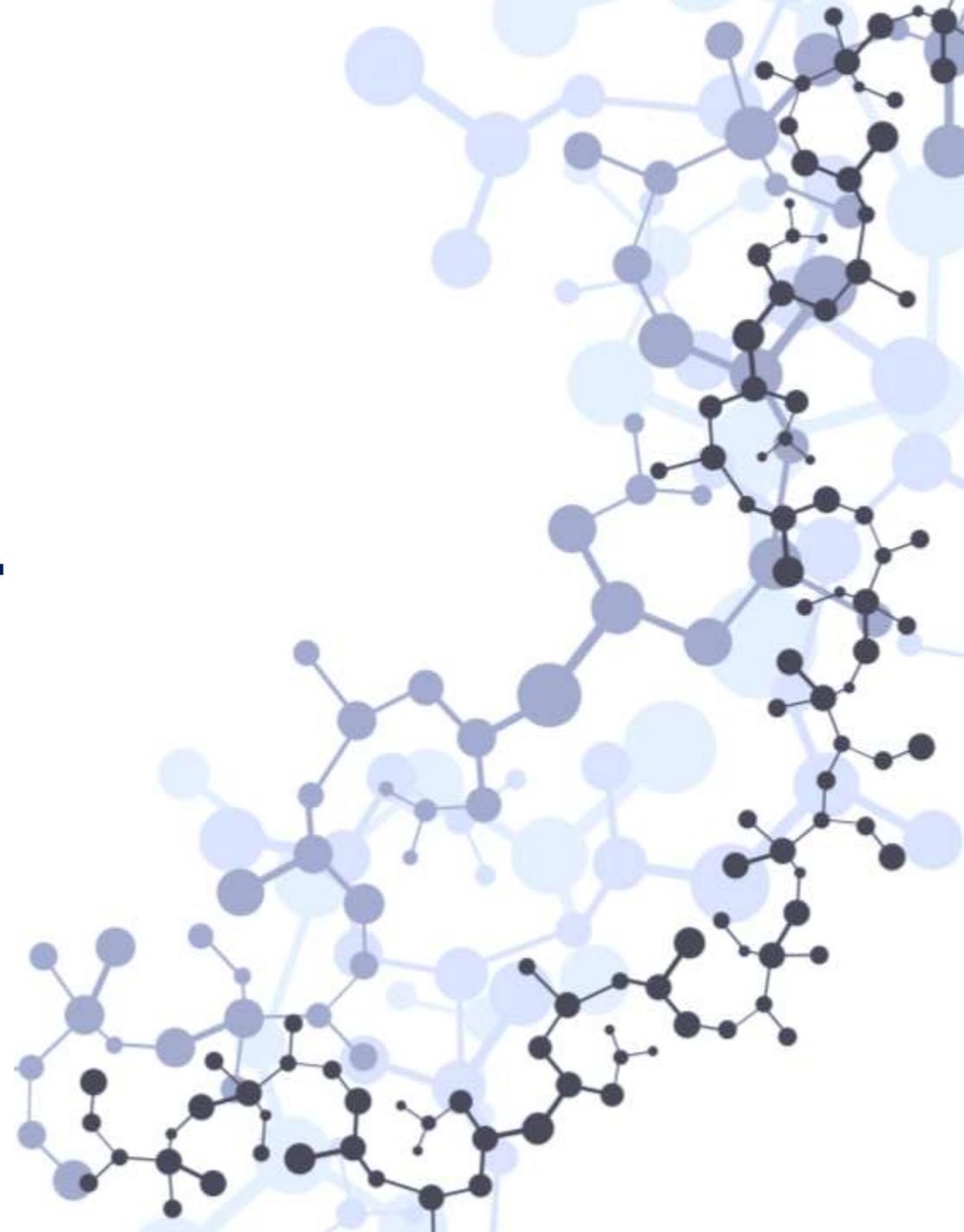
Verificare se  
c'è la corretta  
**DOMINANZA**  
composizione

microbica a  
livello di  
famiglia e genere  
e la tabella delle  
abbondanze  
relative delle  
specie (c'è uno  
squilibrio nelle  
famiglie dominanti  
o una specie  
iperproliferata?)

Osservare il  
**POTENZIALE  
METABOLICO**

In base alla  
sintomatologia  
del paziente e  
alla situazione  
microbica,  
decido su quale  
aspetto del  
metabolismo  
lavorare  
prioritariamente

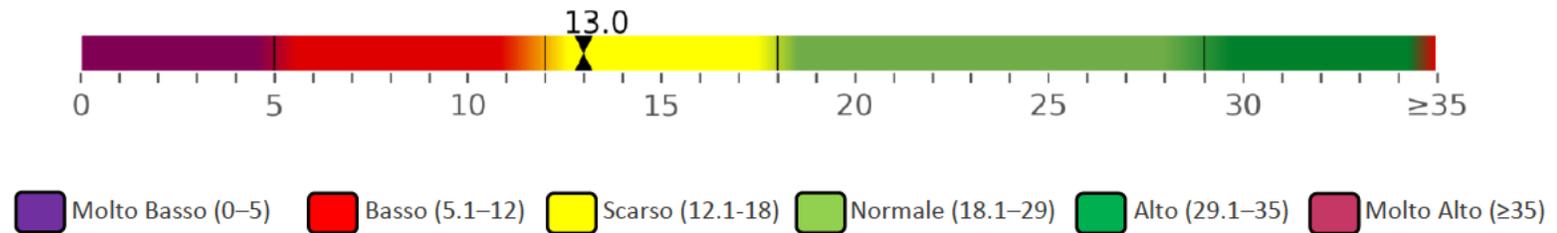
# CASI PRATICI



# CASO PRATICO 1: $\alpha$ -DIVERSITÀ

- ANAGRAFE:
  - ✓ Maschio - 61 anni
- SINTOMI:
  - ✓ diarrea
  - ✓ gonfiore addominale
- DIETA: onnivora

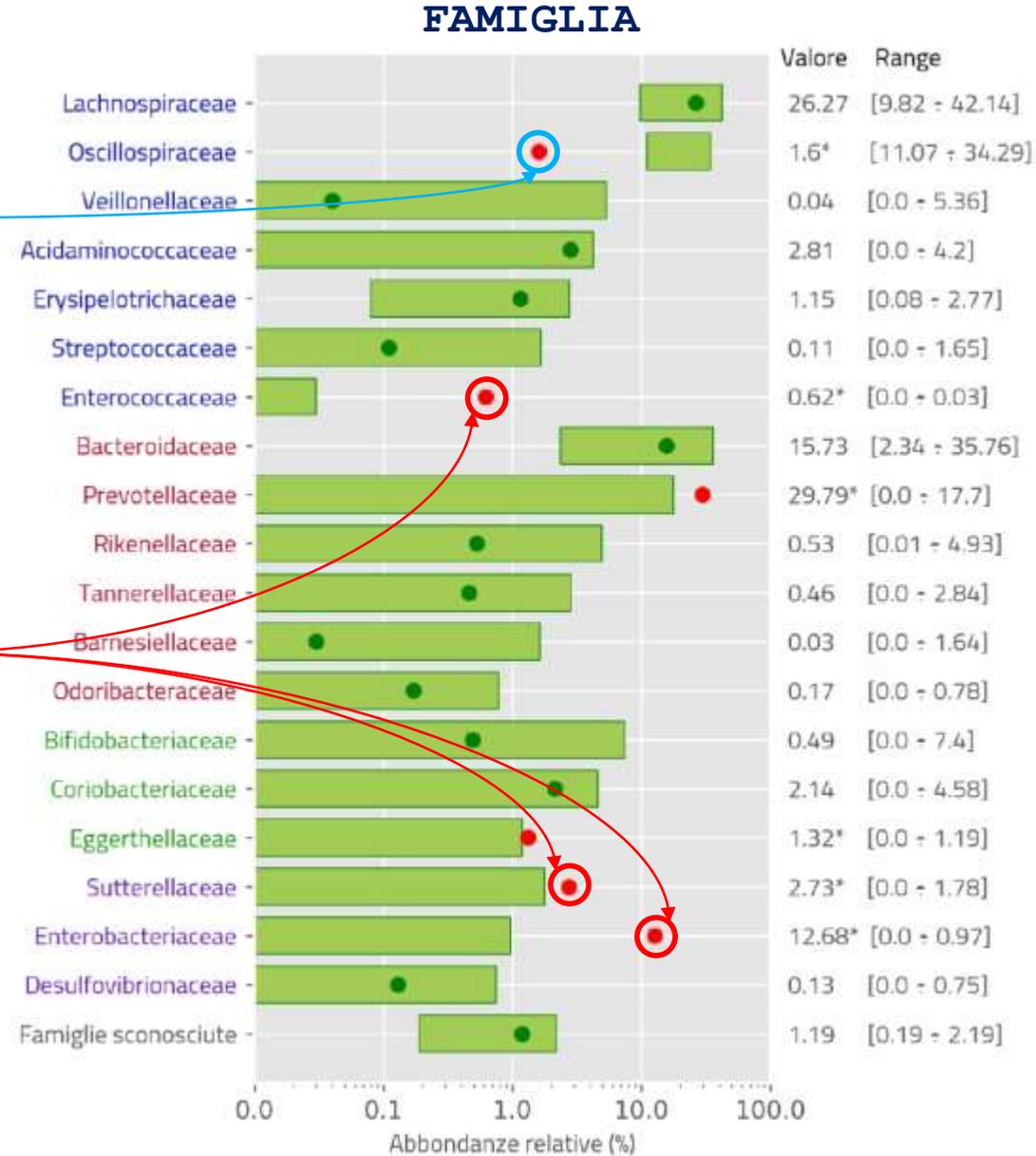
	VALORE CAMPIONE	VALORE RIFERIMENTO	VALUTAZIONE
Ricchezza ( <i>n. specie</i> )	72	80 - 235	Basso
Diversità ( <i>distanza filogenetica</i> )	6.83	6.51 - 20.03	Normale
Distribuzione ( <i>evenness</i> )	17.8	9.15 - 43.82	Normale



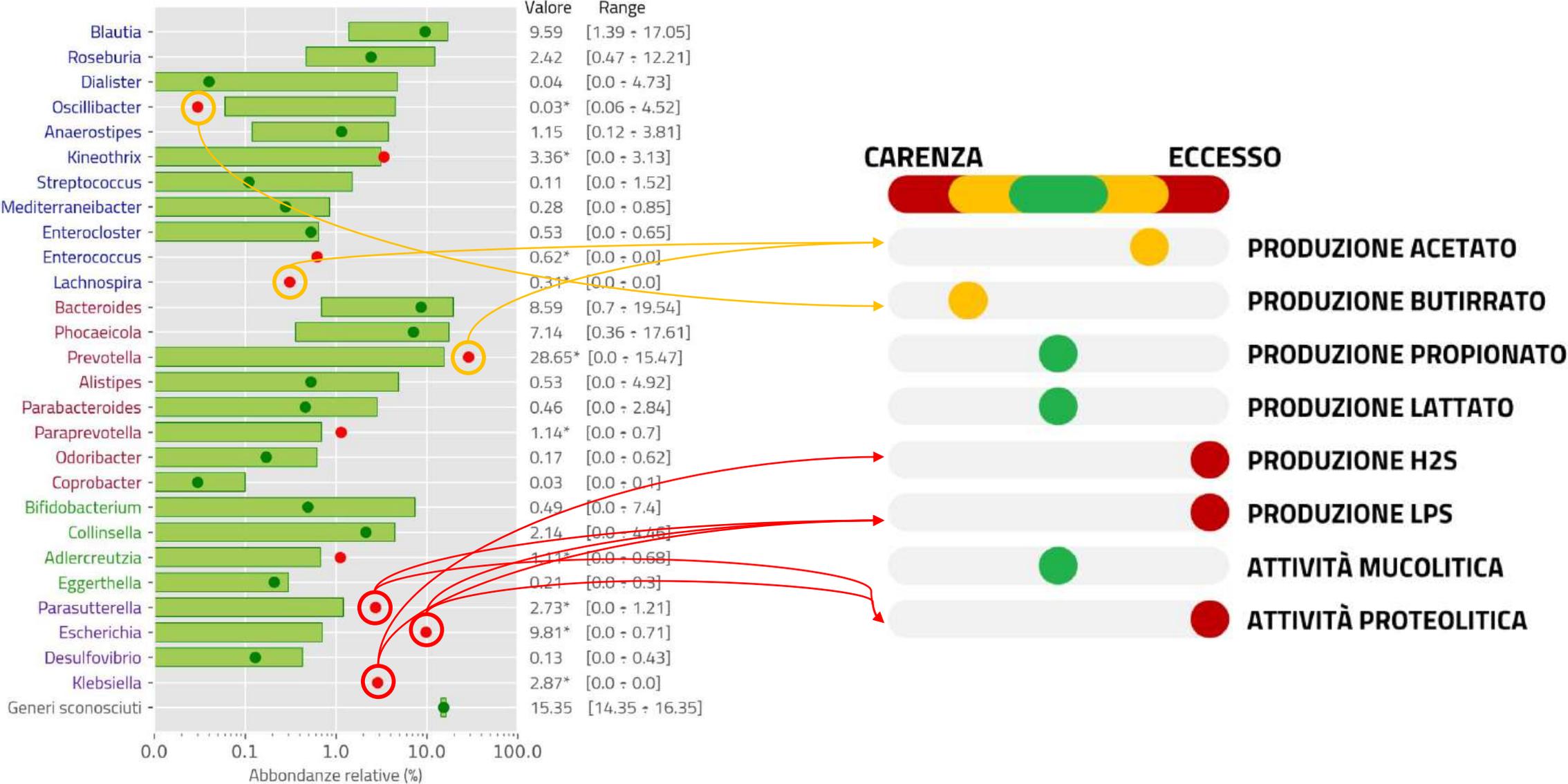
# CASO PRATICO 1: ARCHITETTURA

**Perdita** della famiglia **dominante** *Oscillospiraceae*

**Crescita** di famiglie **subdominanti**, soprattutto gruppi pro-infiammatori



# CASO PRATICO 1: POTENZIALE METABOLICO



# CASO PRATICO 1: CRITERI DI INTERVENTO

Applicare in via prioritaria i suggerimenti volti ad incrementare la **biodiversità** e il gruppo **dominante *Oscillospiraceae***.

Data la presenza di gonfiore e diarrea intervenire sui gruppi responsabili dell'eccesso di **LPS** e **H<sub>2</sub>S**.

Oltre agli interventi alimentari e integrativi per le *Enterobacteriaceae*, valutare attentamente l'elevata abbondanza di ***Escherichia*** e la presenza di ***Klebsiella pneumoniae*** (esami 2° livello e/o terapie farmacologiche?)



# CASO PRATICO 1: CRITERI DI INTERVENTO

21

GENERE O FAMIGLIA	ALIMENTAZIONE	INTEGRAZIONE	PROBIOTICI
Bifidobacteriaceae (AR $\leq$ 1%)	Amido resistente Cereali integrali	Diidrocalcone FOS GOS Inulina Isoflavoni Smallantus sonchifolius Trifolium pratense	
Bifidobacterium (AR $\leq$ 1%)	Caffè Mirtillo Prugne Cacao amaro Ribes nero	Curcumina FOS GOS Inulina Licopene Omega 3 (ricchi di DHA) Vitamina D3 XOS	Bifidobacterium lactis Lactobacillus rhamnosus GG Lactobacillus casei Shirota Lactobacillus plantarum Lactobacillus plantarum, Lactobacillus acidophilus e Bifidobacterium longum Lactobacillus rhamnosus GG, Bifidobacterium lactis e FOS Bifidobacterium animalis
Diversità (indice $\leq$ 18)	Cereali integrali Fibre Tè verde	Tannini Vitamina D3	

Enterobacteriaceae (eccesso)	Alimenti di origine vegetale Cereali integrali	FOS GOS	Bifidobacterium longum Bifidobacterium breve Lactobacillus casei DG (o paracasei) Lactobacillus rhamnosus
Klebsiella (eccesso)	Uva passa		
Oscillibacter (carenza)	Amido resistente		
Prevotella (eccesso)	Uva passa		Lactobacillus kefir
Oscillospiraceae (carenza)	Amido resistente Arancia Cara Cara Cereali integrali Fibre Noci	FOS Inulina Omega 3 (ricchi di DHA) Isoflavoni Silybum marianum Trifolium pratense Vitamina D3	Bifidobacterium bifidum Lactobacillus casei DG (o paracasei)
Enterococcus (eccesso)			Lactobacillus casei DG (o paracasei) Bifidobacterium longum e Lactobacillus johnsonii
Prevotellaceae (eccesso)			Bifidobacterium bifidum

# CASO PRATICO 2: $\alpha$ -DIVERSITÀ

- ANAGRAFE:

- ✓ Donna - 35 anni

	VALORE CAMPIONE	VALORE RIFERIMENTO	VALUTAZIONE
Ricchezza ( <i>n. specie</i> )	128	80 - 235	Normale

- SINTOMI:

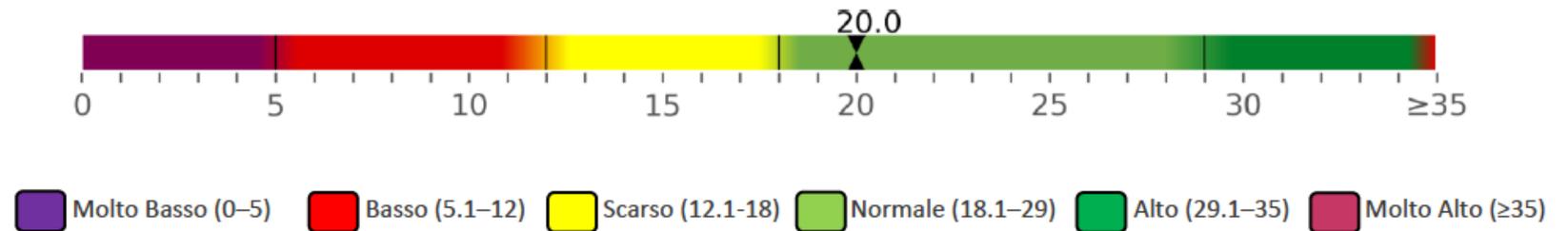
- ✓ Dolore addominale
  - ✓ Gonfiore addominale

	VALORE CAMPIONE	VALORE RIFERIMENTO	VALUTAZIONE
Diversità ( <i>distanza filogenetica</i> )	17.9	6.51 - 20.03	Normale

	VALORE CAMPIONE	VALORE RIFERIMENTO	VALUTAZIONE
Distribuzione ( <i>evenness</i> )	35.8	9.15 - 43.82	Normale

- DIETA:

- Onnivora
  - Kefir artigianale



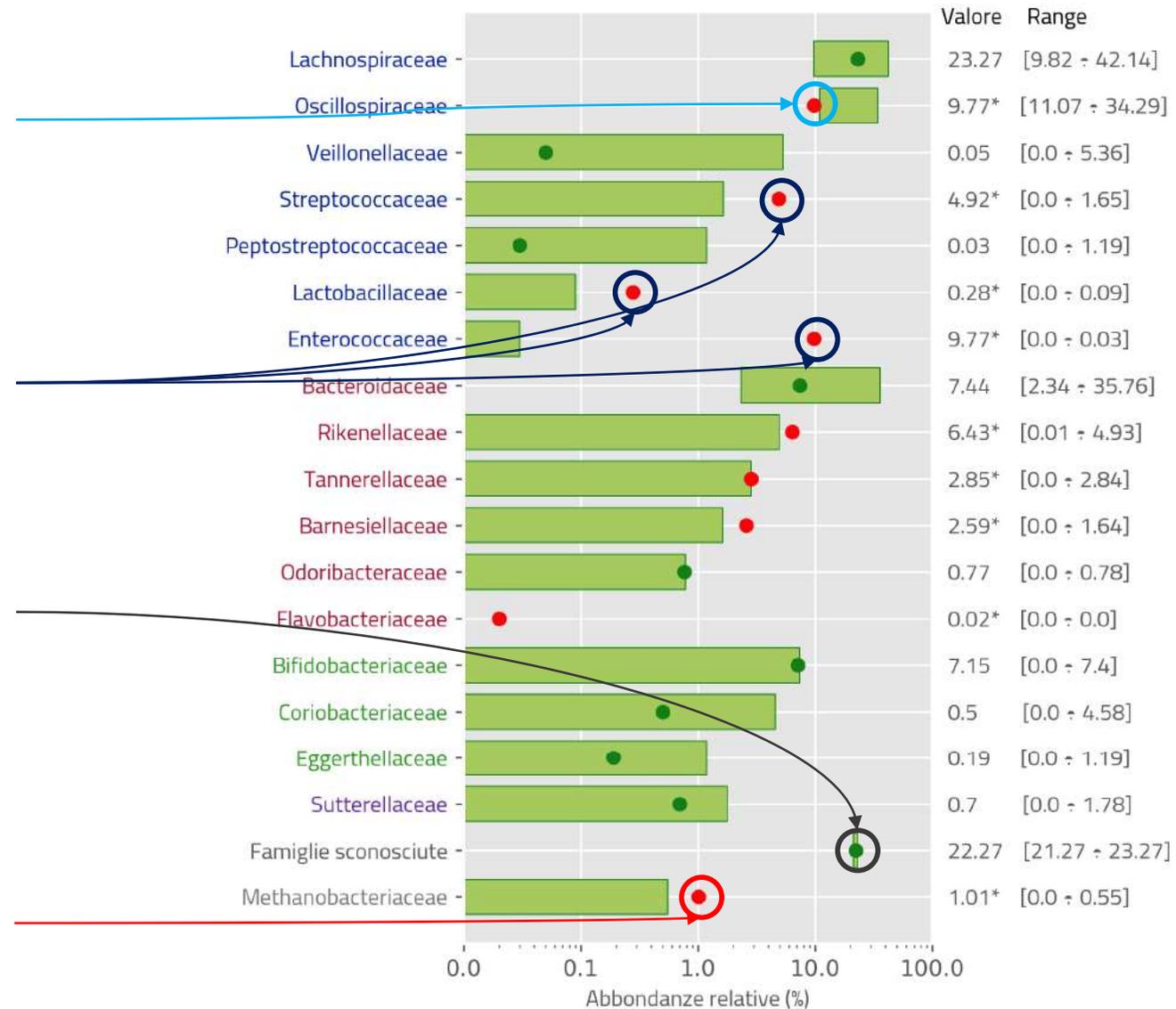
# CASO PRATICO 2: ARCHITETTURA

**Calo** della famiglia  
**dominante**  
*Oscillospiraceae*

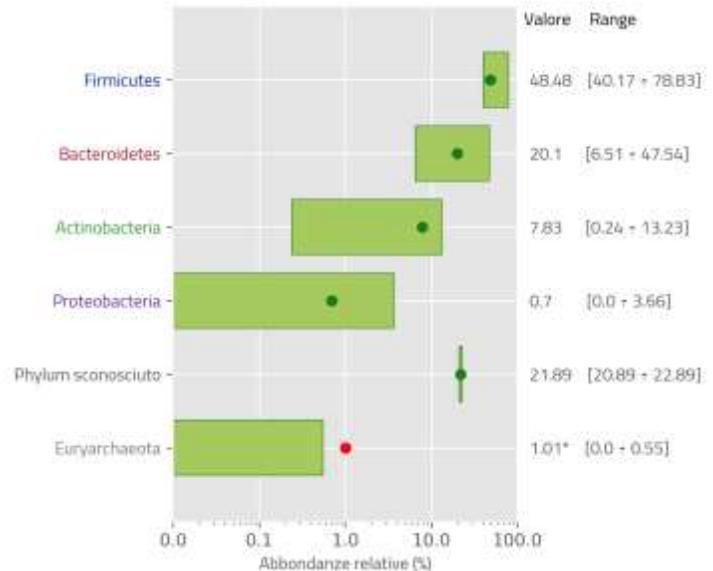
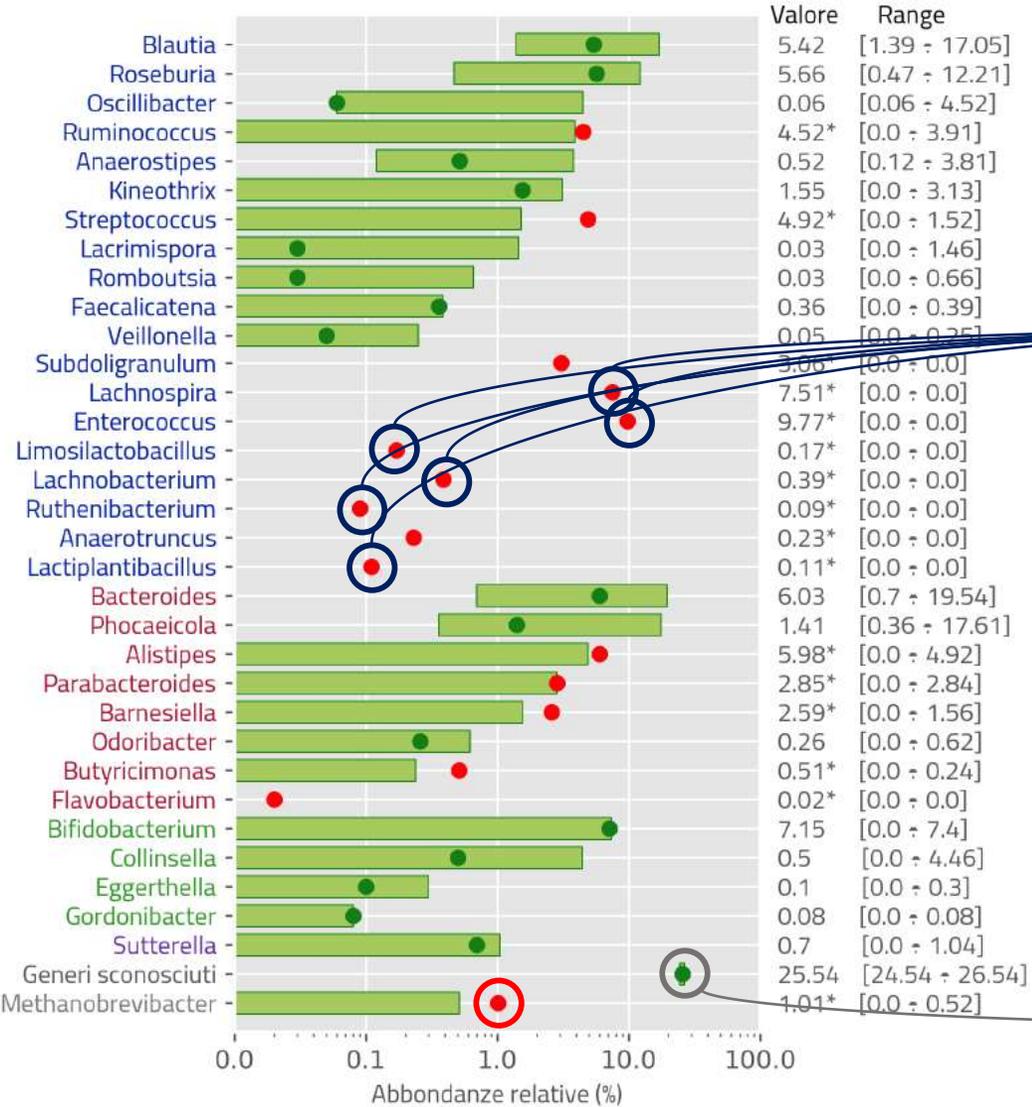
**Crescita** di  
subdominanti  
lattici

**Crescita**  
significativa di  
taxa sconosciuti

**Crescita** di  
subdominanti  
metanogeni



# CASO PRATICO 2: POTENZIALE METABOLICO



## CASO PRATICO 2: CRITERI DI INTERVENTO

L'eccessiva proliferazione di lattato produttori sbilancia il profilo metabolico e funzionale

Alla luce della sintomatologia sarebbe preferibile **sospendere** o ridurre l'assunzione di **kefir** artigianale

Concentrarsi sul ripristino del gruppo > dominante,  
***Oscillospiraceae***



# CASO PRATICO 2: CRITERI DI INTERVENTO

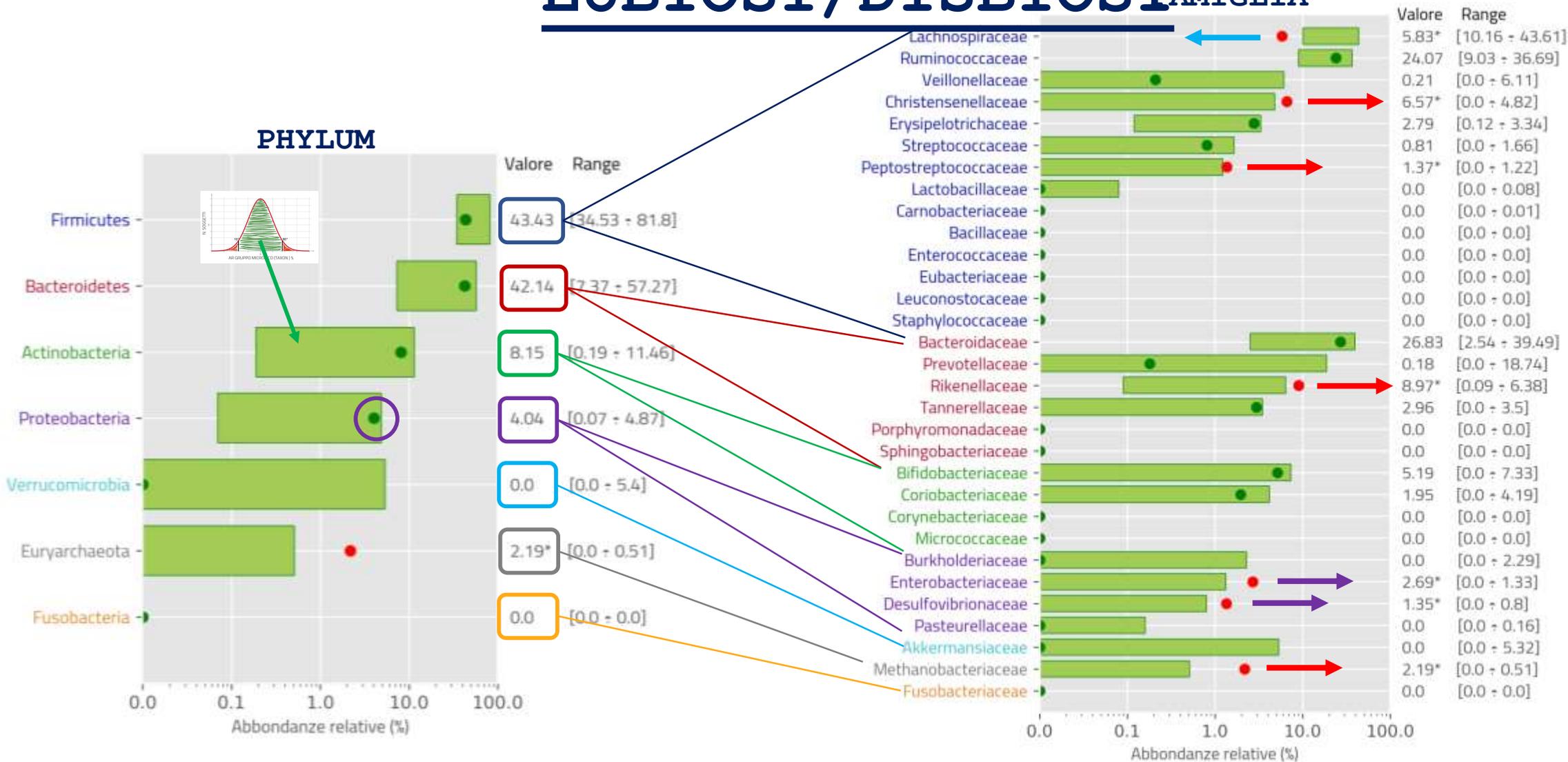
(2)

GENERE O FAMIGLIA	ALIMENTAZIONE	INTEGRAZIONE	PROBIOTICI
Parabacteroides (eccesso)	Mandorle Noci	Inulina	
Oscillospiraceae (carenza)	Amido resistente Arancia Cara Cara Cereali integrali Fibre Noci	FOS Inulina Omega 3 (ricchi di DHA) Isoflavoni Silybum marianum Trifolium pratense Vitamina D3	Bifidobacterium bifidum Lactobacillus casei DG (o paracasei)
Streptococcus (eccesso)	Tè Pu-Erh	Berberina	
Lachnobacterium (eccesso)		Inulina	
Ruminococcus (eccesso)		GOS	Lactobacillus casei DG (o paracasei)
Enterococcus (eccesso)			Lactobacillus casei DG (o paracasei) Bifidobacterium longum e Lactobacillus johnsonii

**GRAZIE !**



# ARCHITETTURA DEL MICROBIOTA: EUBIOSI/DISBIOSI

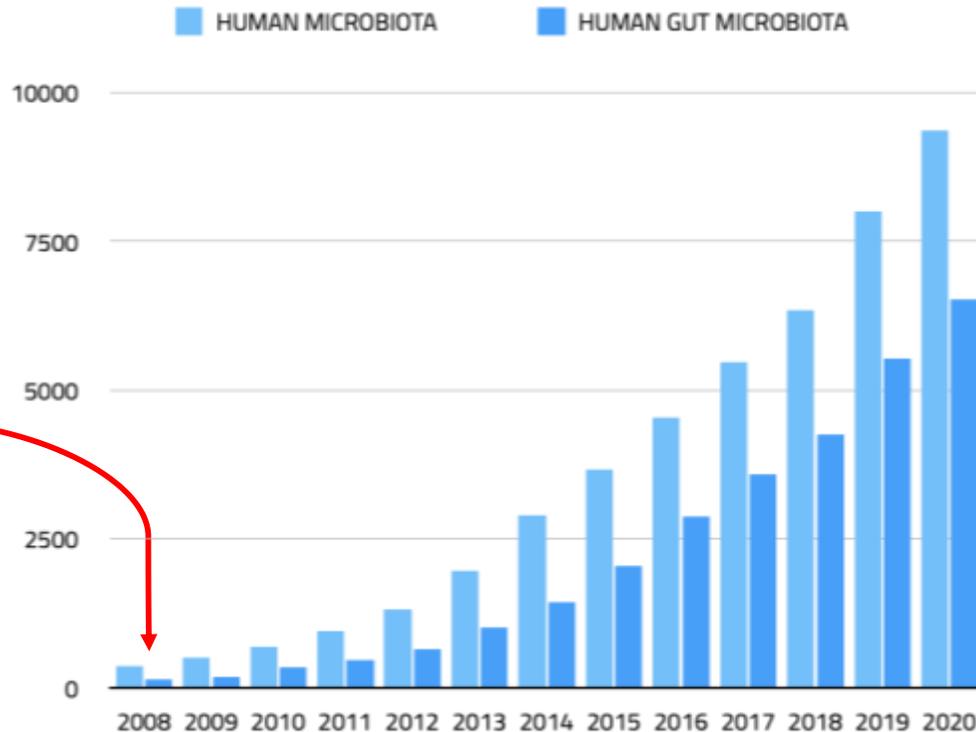
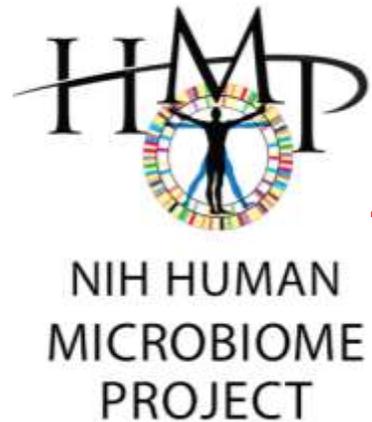


# CONTESTO SCIENTIFICO

*(perché è importante il microbiota)*



# UN NUOVO PARADIGMA: L' OLOBIONTE



UMANO+MICROBIOTA = **OLOBIONTE**

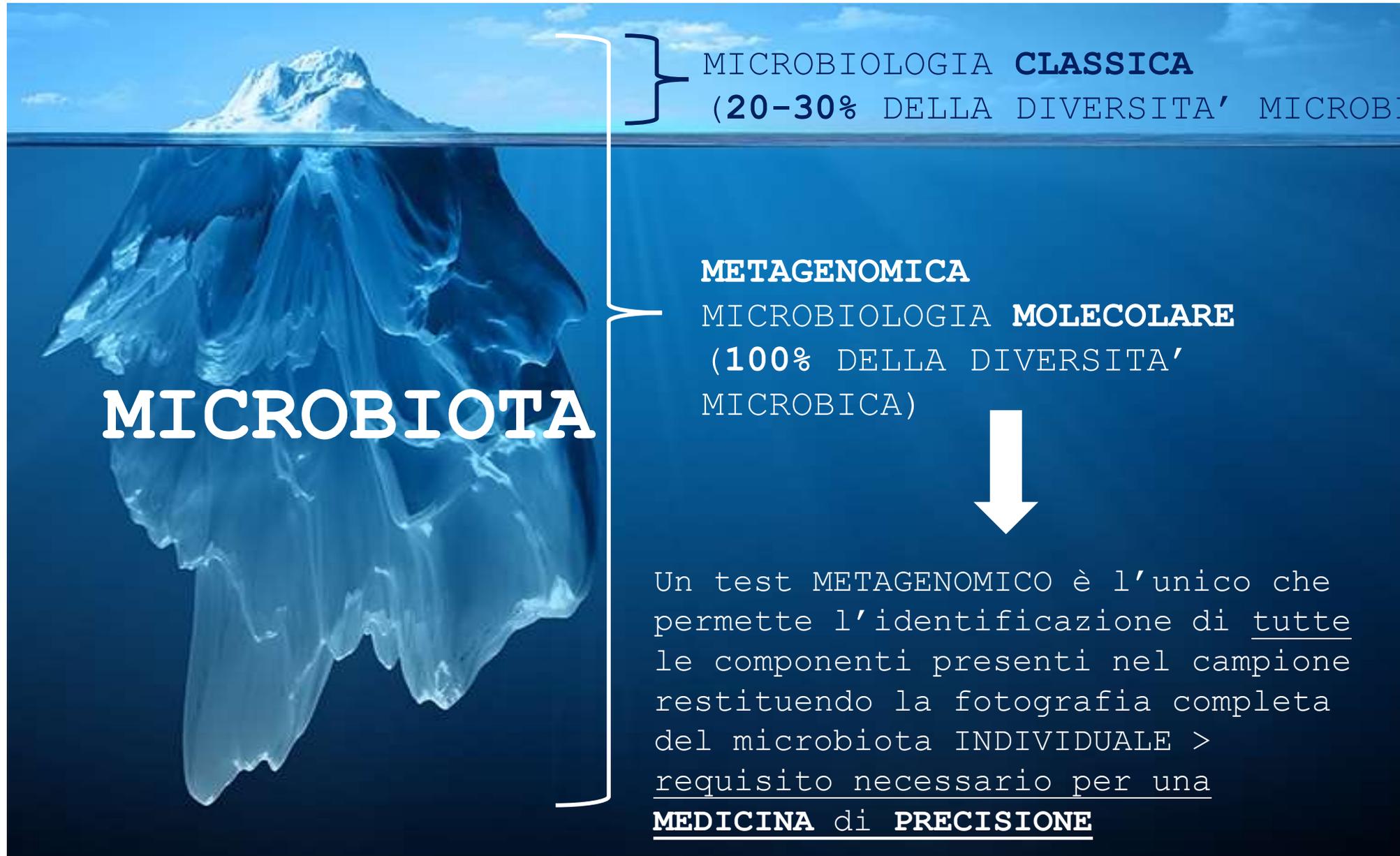
La composizione del microbiota  
influenza

la nostra **SALUTE** e la suscettibilità

alle **MALATTIE**



# IL MERITO DELLA METAGENOMICA



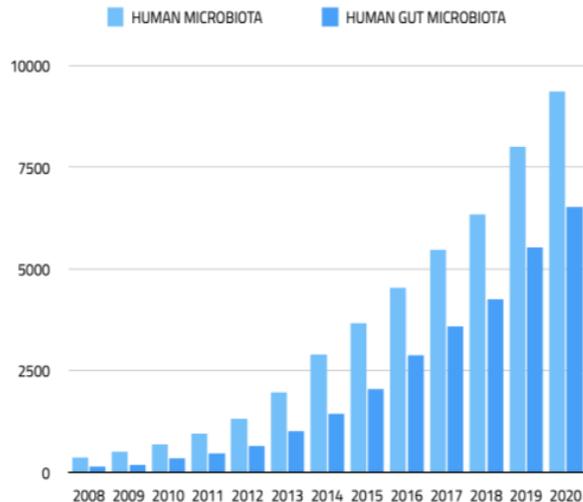
MICROBIOLOGIA **CLASSICA**  
(20-30% DELLA DIVERSITA' MICROBICA)

**METAGENOMICA**  
MICROBIOLOGIA **MOLECOLARE**  
(100% DELLA DIVERSITA' MICROBICA)

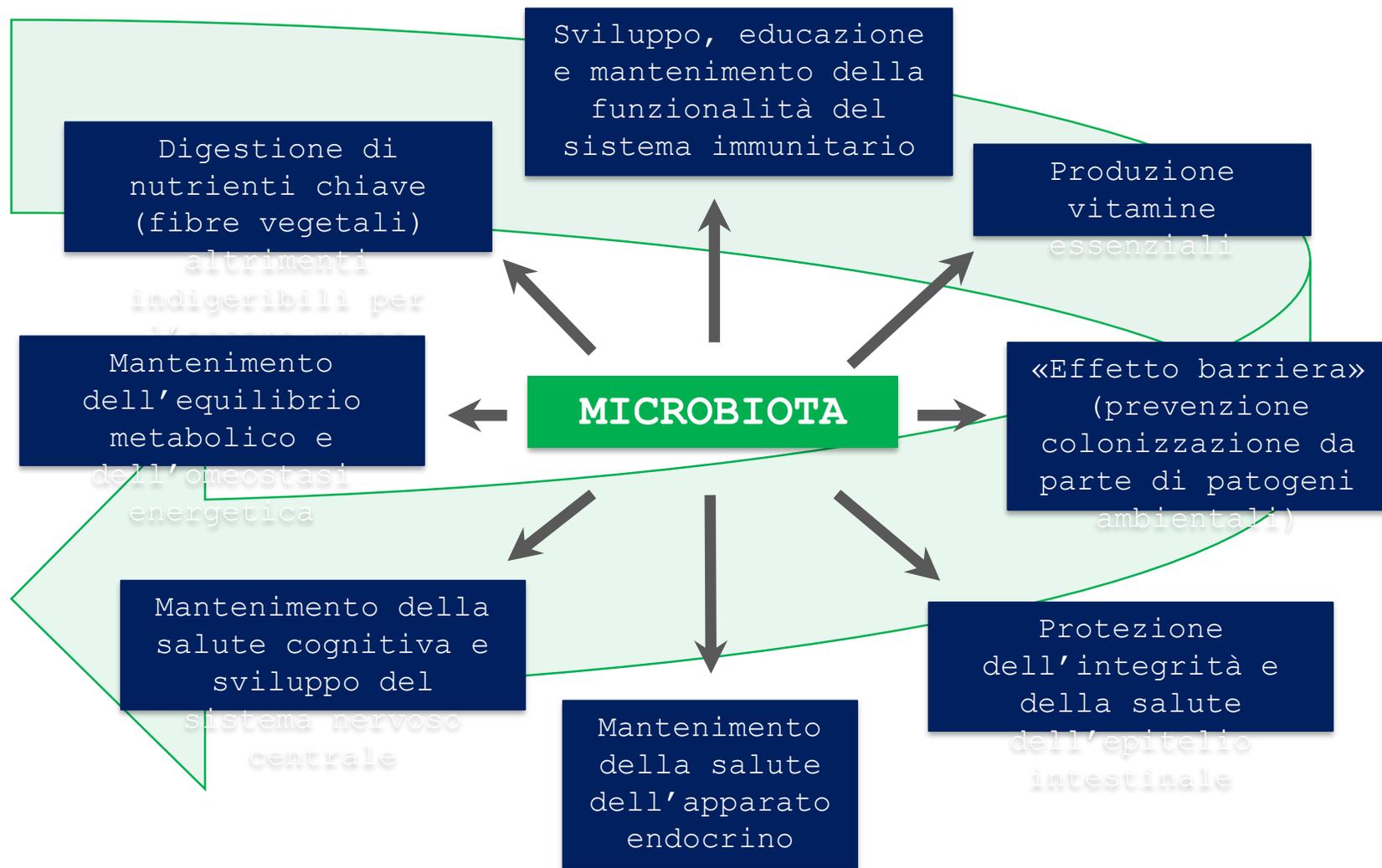


Un test METAGENOMICO è l'unico che permette l'identificazione di tutte le componenti presenti nel campione restituendo la fotografia completa del microbiota **INDIVIDUALE** > requisito necessario per una **MEDICINA di PRECISIONE**

# PERCHÈ TRATTARE IL MICROBIOTA



La composizione del microbiota influenza la nostra **SALUTE** e la suscettibilità alle **MALATTIE**



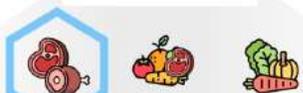
## SOMMARIO DEI RISULTATI - BATTERI

Di seguito vengono riportati in maniera riassuntiva i risultati più rilevanti del test. Nelle pagine successive sarà possibile entrare nel dettaglio dei singoli parametri.

### COMPOSIZIONE MICROBICA



### ENTEROTIPO



### POTENZIALE METABOLICO



**72**

RICCHEZZA  
[80-235]

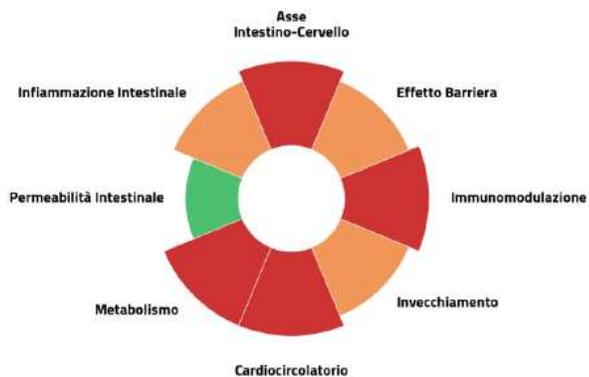
**9.1**

DIVERSITÀ\*  
[6.51-20.03]

**17.7**

DISTRIBUZIONE  
[9.15-43.82]

### POTENZIALE FUNZIONALE



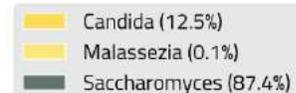
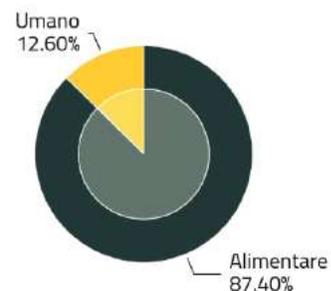
Alterazione rilevata: ● Nessuna, ● Lieve, ● Moderata, ● Forte

### PATOBIONTI RILEVATI

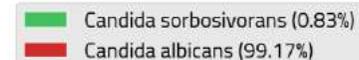
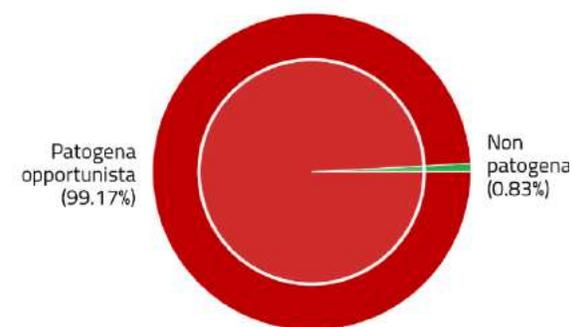
**Escherichia coli**

## SOMMARIO RISULTATI - MICETI

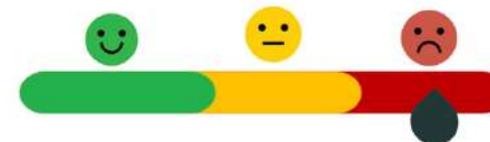
### COMPOSIZIONE MICOTICA GENERALE



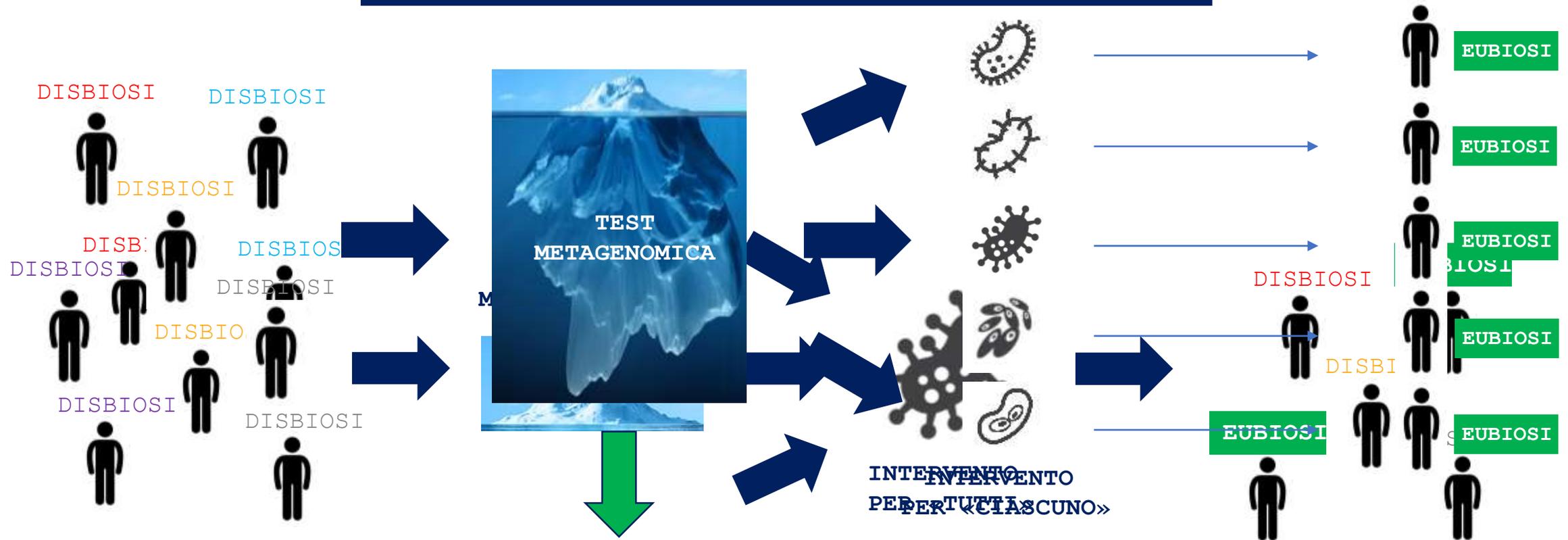
### FOCUS SULLE SPECIE DI CANDIDA



### VALUTAZIONE COMPLESSIVA DEL MICOBIOTA



# IL NUOVO APPROCCIO



- ✓ UNICITÀ DI PROPOSTA
- ✓ CONSAPEVOLEZZA
- ✓ FIDELIZZAZIONE
- ✓ CROSS SELLING DI PRODOTTI E S

# I VANTAGGI DEL GUT TEST

---

- METODO BREVETTATO (*interpretazione funzionale*)
- DATASET DI RIFERIMENTO DATA-DRIVEN (*confronto soggetti sani*)
- DATABASE TASSONOMICO PROPRIETARIO (*tassonomia campione*)
- INTERPRETAZIONE METABOLICA INNOVATIVA (*calcolo enzimi*)
- ANALISI MICOTICA (*disbiosi fungina*)
- CONSULENZE PROFESSIONALI GRATUITE - ACADEMY

# GUT TEST PARTE

## 1: BATTERI

*(dalla composizione alla funzione)*

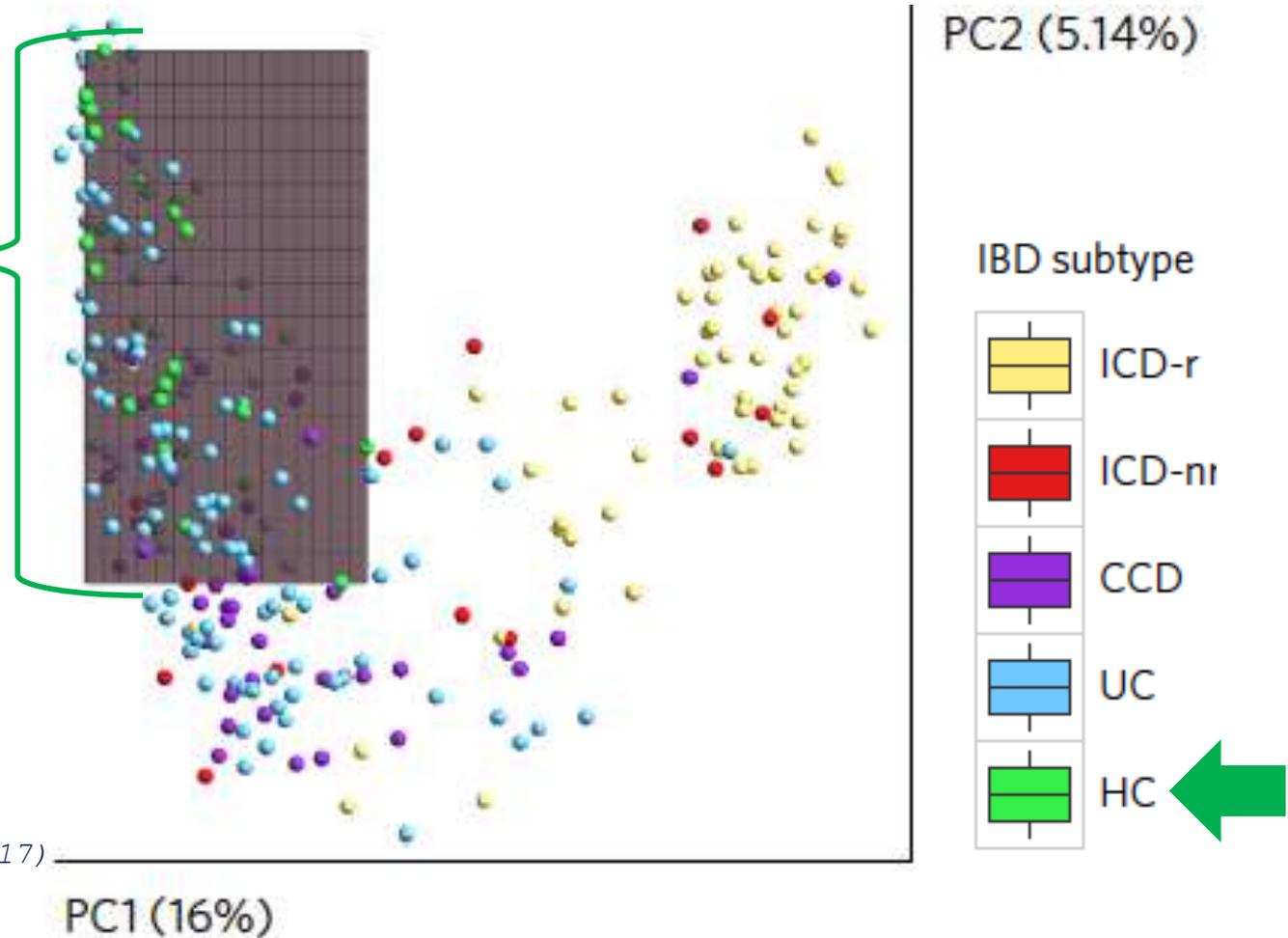


# COME DEFINIRE L'EUBIOSI DEL CAMPIONE

L'**EUBIOSI** di un  
profile microbico  
intestinale esiste  
in uno spettro di  
 $n$  possibili  
configurazioni,  
(statisticamente)  
definibili

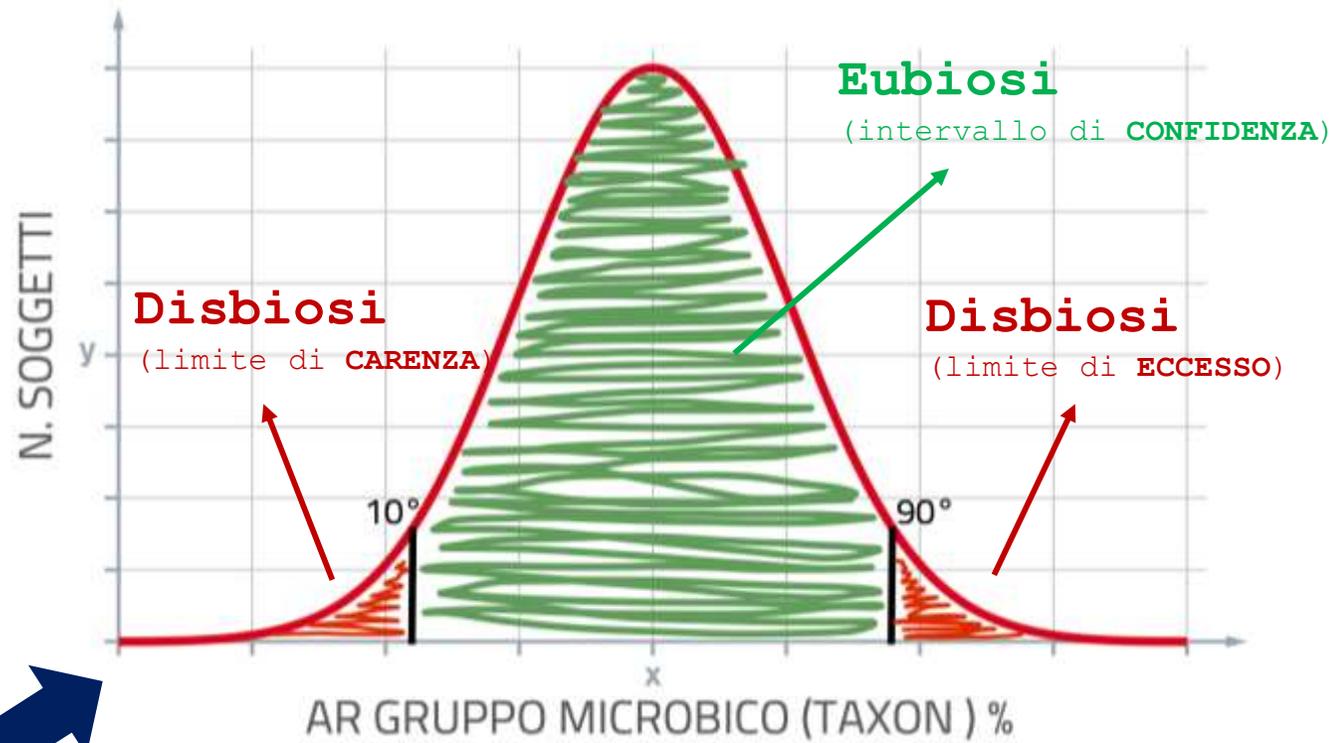
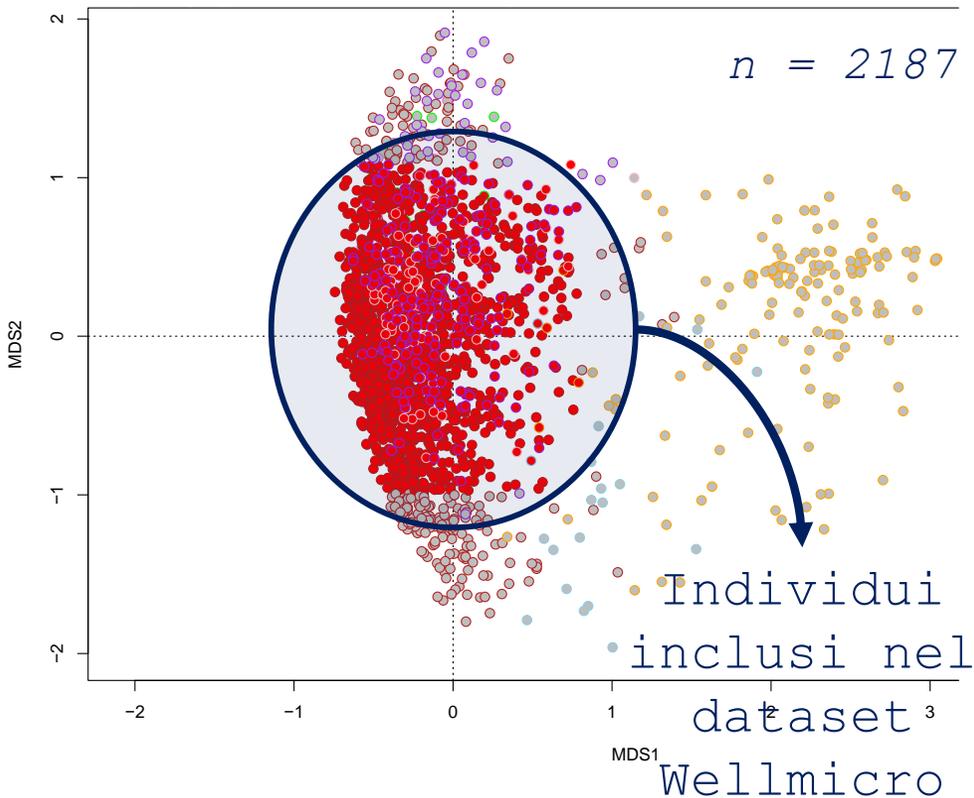
**HEALTHY PLAN of  
VARIATION (HPoV)**

*(Halfvarson et al., Nat Microbiol 2017)*



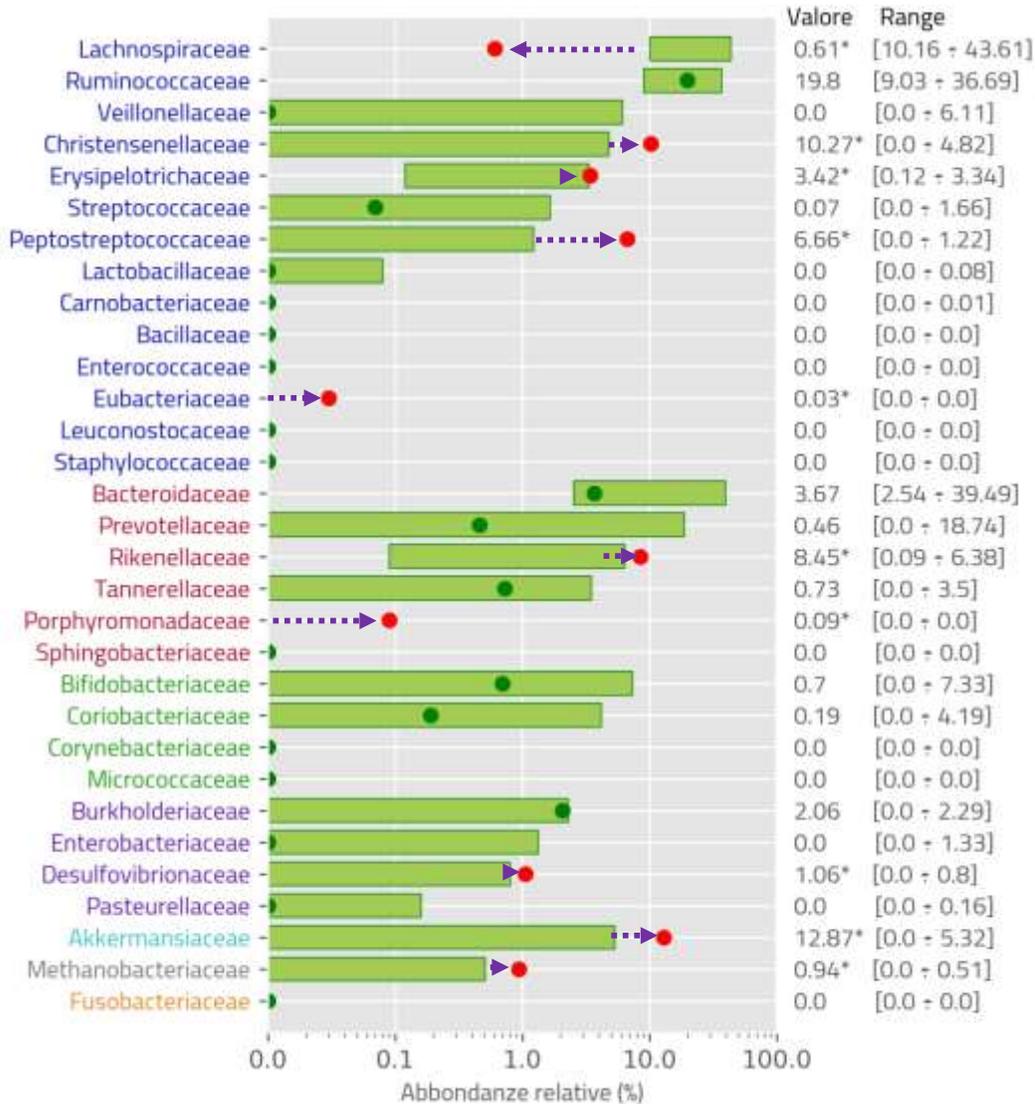
# HPoV DEL GUT TEST ( $\beta$ -diversità)

**VANTAGGIO: SELEZIONE  
DEGLI INDIVIDUI DI  
CONTROLLO DATA DRIVEN  
OVVERO INDIPENDENTE DA**



L'intervallo di riferimento (confidenza) comprende ampi valori. Calcolo delle Abbondanze Relative (AR) di ogni gruppo batterico in assecondare la variabilità intrinseca del microbiota

# COME VALUTARE LA DISBIOSI: QUANTITÀ E QUALITÀ

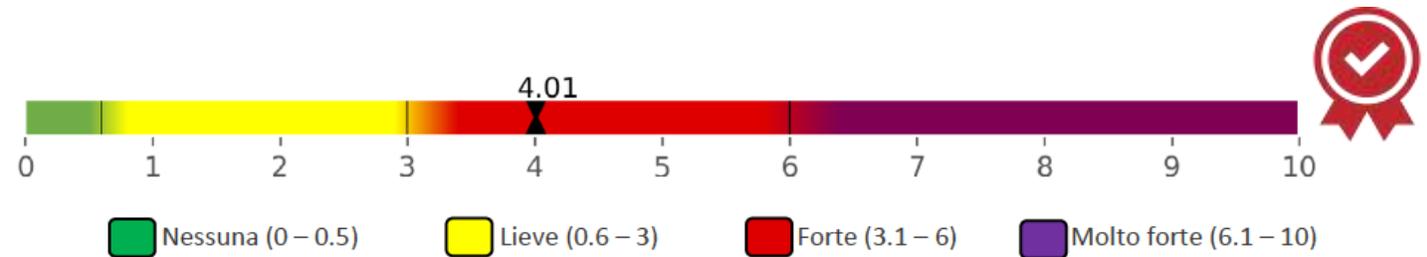


**QUANTITÀ:** la SOMMA del discostamento di ogni taxon dall'HPoV

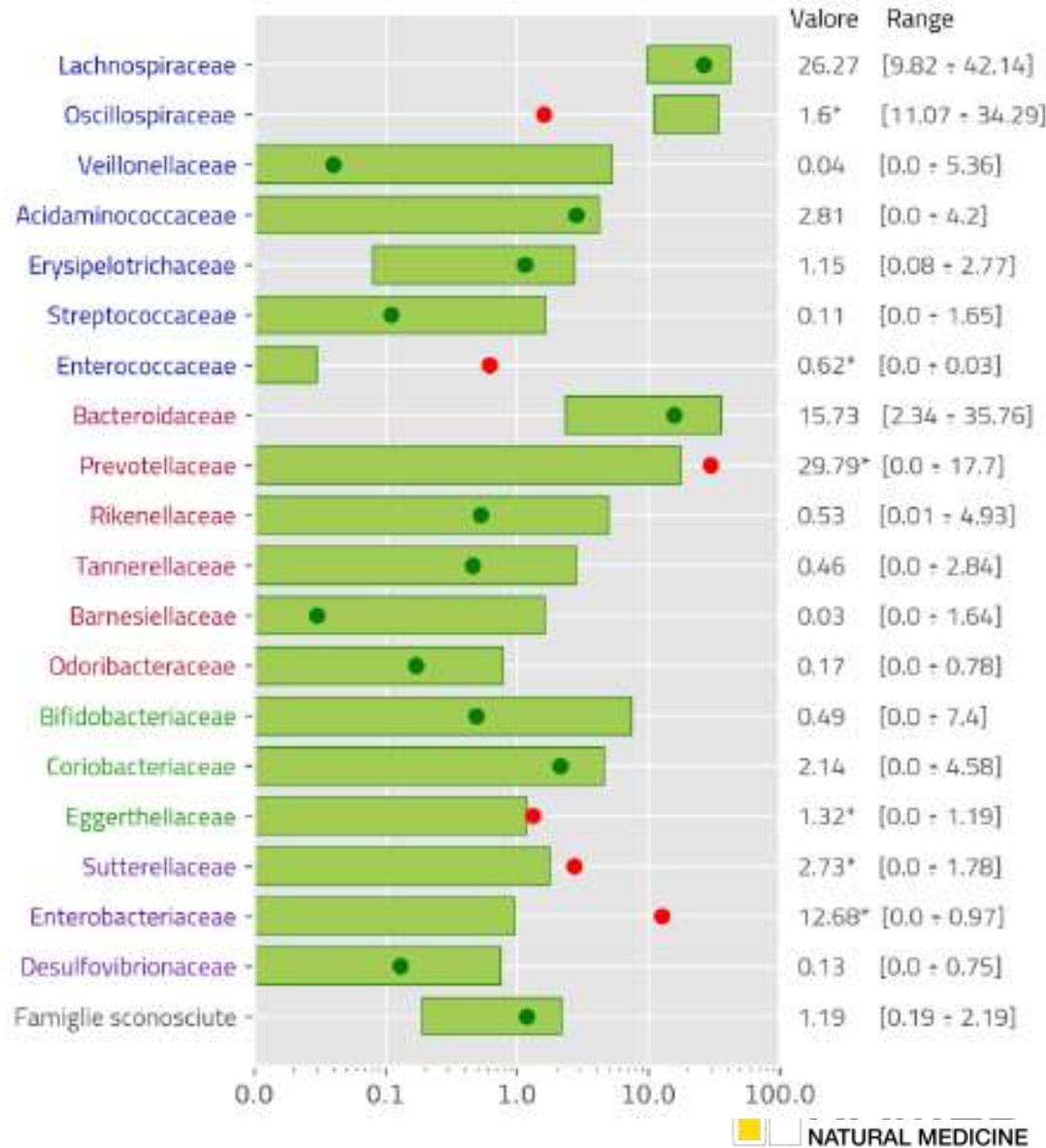
+

**QUALITÀ:** ogni alterazione viene computata relativamente al suo HPoV

(*tanto meno è atteso un taxon e tanto più il discostamento ha rilevanza*)



# LA COMPOSIZIONE DEL MICROBIOTA



## ESTINALE

Composizione del microbiota intestinale (GM) :

- Adeguato livello di **biodiversità**;
- Tre **famiglie dominanti** (Lachnospiraceae, Oscillospiraceae e Bacteroidaceae);

# MICROBIOTA ACCESSIBLE CARBOHYDRATES (MACs)

MAC	Esempi	Effetti sull'intestino	Effetti sul microbiota
Polisaccaridi non amidacei	Cellulosa, pectina, alginati	<ul style="list-style-type: none"> <li>&gt; e ammorbidiscono la massa fecale;</li> <li>&gt; frequenza di defecazione;</li> <li>&lt; pressione sul colon;</li> <li>diluiscono le tossine;</li> <li>&lt; pH luminale.</li> </ul>	> biodiversità
Amido resistente (RS, definito come tale se non viene digerito dall'ospite in 100% di	Amido resistente di tipo 1-5	<ul style="list-style-type: none"> <li>&gt; massa fecale;</li> <li>&lt; pH luminale.</li> <li>In caso di diarrea, &lt; la durata</li> </ul> <p style="text-align: center; font-size: small;">Ho Do et al., 2020, Critical Reviews in Food Science and Nutrition</p>	Dipende dal tipo di RS (ad esempio, RS2 > <i>Bifidobacterium</i> , > <i>Eubacterium</i> , > <i>Ruminococcus</i> ).

# MICROBIOTA ACCESSIBLE CARBOHYDRATES (MACs)

MAC	Esempi	Effetti sull'intestino	Effetti sul microbiota
Polisaccaridi dell'ospite	Mucina	<ul style="list-style-type: none"> <li>• favorisce il ricambio;</li> <li>• liberazione di patogeni enterici;</li> <li>• generare metaboliti fonti di nutrimento per microrganismi potenzialmente dannosi (ad esempio, Salmonella).</li> </ul>	Fonte di nutrimento in mancanza di altri MACs ( <i>A. muciniphila</i> , <i>B. thetaiotaomicron</i> e <i>B. bifidum</i> ).
Polisaccaridi di derivazione microbica	Esopolisaccaride	<p>Attività antiossidante e antibatterica</p> <p>Ho Do et al., 2020, Critical Reviews in Food Science and Nutrition</p>	Dipende dalla molecola (ad esempio, gli esopolisaccaridi prodotti da <i>Weissiella</i> e <i>Pediococcus</i> > la

# CLASSI DI COMPOSTI CHE INTRODUCIAMO CON LA DIETA:

## PROTEINE

Di origine **animale**

bile-tolerant (*Alistipes*,  
*Bacteroides*, *Bilophila*),  
< *Bifidobacterium*, >  
TMAO, > H<sub>2</sub>S

Di origine **vegetale**

> *Bifidobacterium* e  
*Lactobacillus*, <  
*Bacteroides fragilis* e  
*Clostridium perfringens*

## E GRASSI

Grassi **insaturi**

- Omega 3: >  
Lachnospiraceae
- Omega 6: > permeabilità  
intestinale e >  
endotossemia metabolica

Grassi **saturi**

> permeabilità intestinale,  
> *Bilophila wadsworthia*, >  
H<sub>2</sub>S con distruzione del muco  
e infiammazione

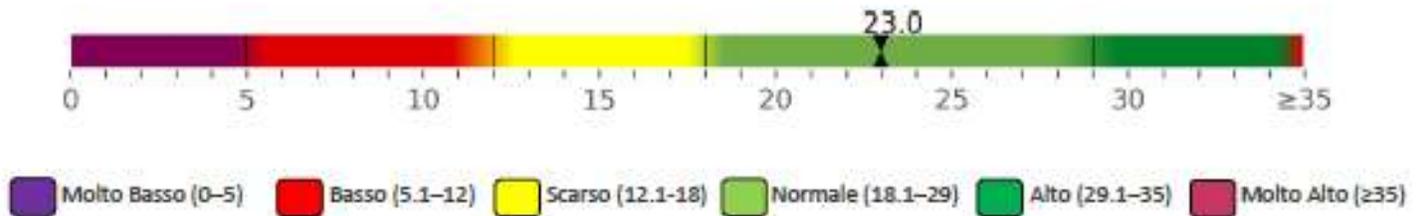
# CASO PRATICO 3

Donna, 42 anni,  
infezioni uro-  
genitali ricorrenti

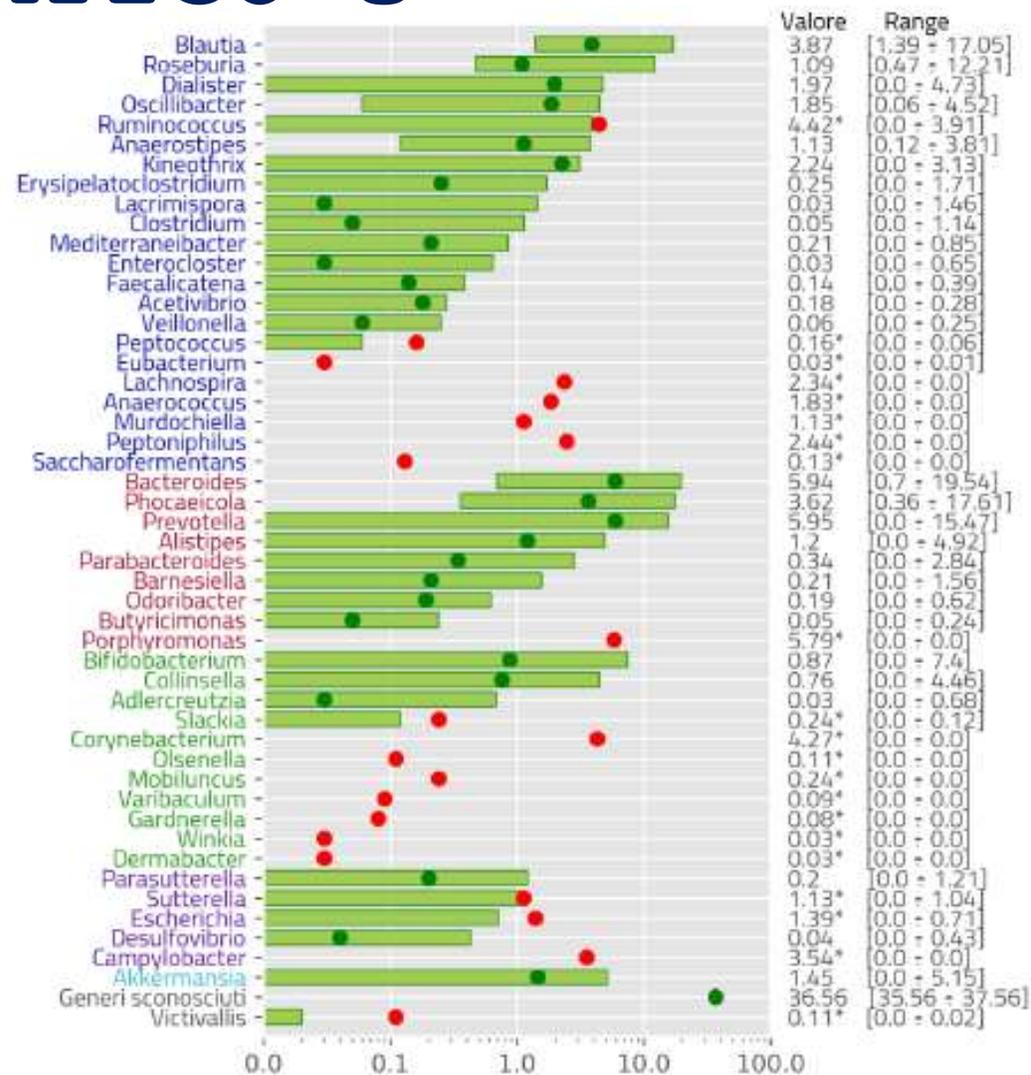
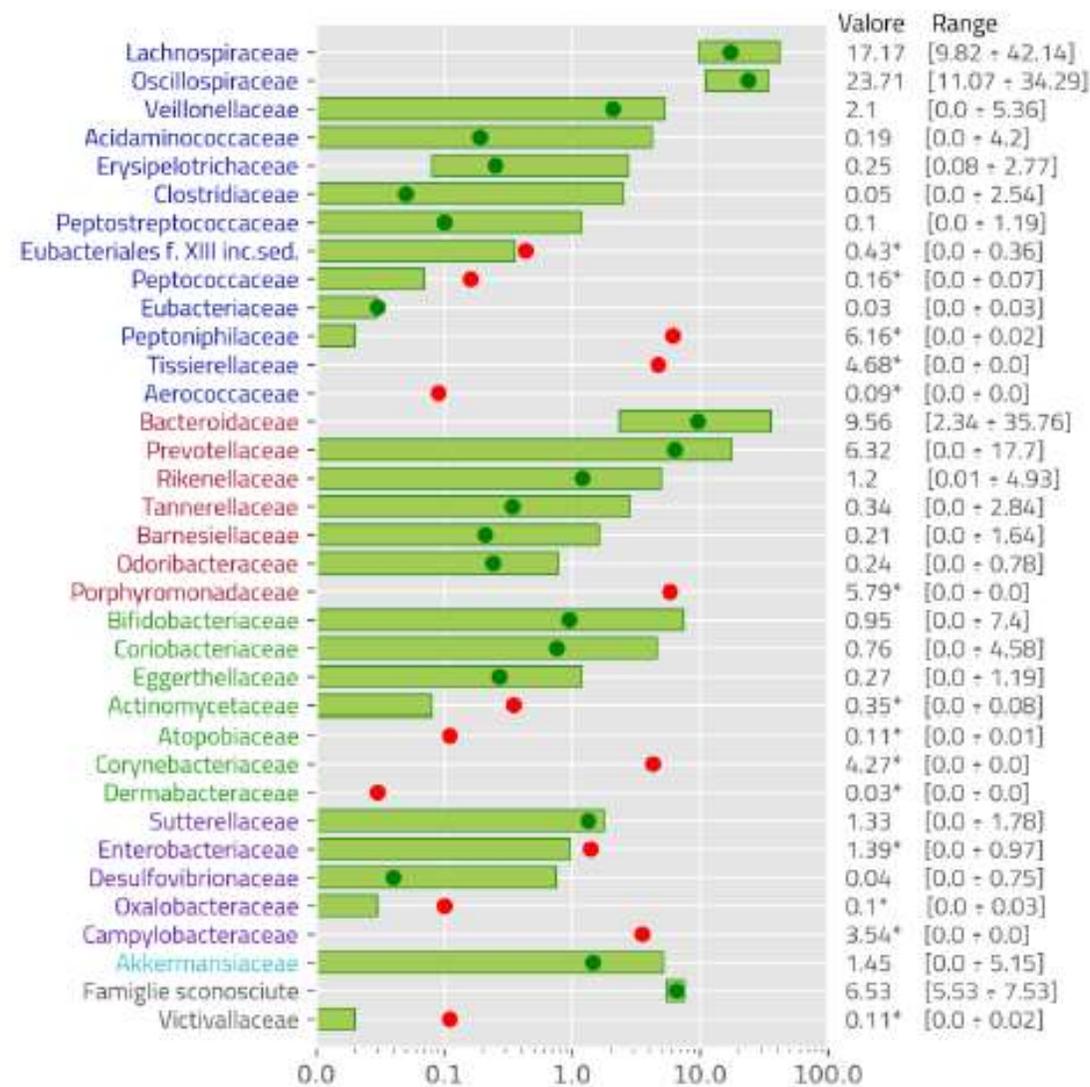
	VALORE CAMPIONE	VALORE RIFERIMENTO	VALUTAZIONE
Ricchezza ( <i>n. specie</i> )	172	80 - 235	Normale

	VALORE CAMPIONE	VALORE RIFERIMENTO	VALUTAZIONE
Diversità ( <i>distanza filogenetica</i> )	24.3	6.51 - 20.03	Alto

	VALORE CAMPIONE	VALORE RIFERIMENTO	VALUTAZIONE
Distribuzione ( <i>evenness</i> )	40.3	9.15 - 43.82	Normale



# CASO PRATICO 3



# CASO PRATICO 3



SPECIE	AR (%)
<i>Specie sconosciute</i>	70.81
<i>Porphyromonas bennonis</i>	5.23
<i>Phocaeicola vulgatus</i>	3.62
<i>Campylobacter hominis</i>	3.54
<i>Ruminococcus albus</i>	3.31
<i>Kineothrix alysoides</i>	2.24
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	1.76
<i>Akkermansia muciniphila</i>	1.45
<i>Escherichia fergusonii</i>	1.39

# CASO PRATICO 3

I parametri che descrivono la biodiversità e le famiglie dominanti sono nella norma.  
Applico prioritariamente i suggerimenti volti a ridurre la famiglia **Enterobacteriaceae**, uno dei principali produttori di LPS.  
Segnalo la presenza di **Escherichia** e **Campylobacter** e suggerisco al paziente di discutere del dato col medico.



# CASO PRATICO 3

GENERE O FAMIGLIA	ALIMENTAZIONE	INTEGRAZIONE	PROBIOTICI
Bifidobacteriaceae (AR $\geq$ 1%)	Amido resistente Cereali integrali	Diidrocalcone FOS GOS Inulina Isoflavoni Smallantus sonchifolius Trifolium pratense	
Bifidobacterium (AR $\geq$ 1%)	Caffè Mirtillo Prugne Cacao amaro Ribes nero	Curcumina FOS GOS Inulina Licopene Omega 3 (ricchi di DHA) Vitamina D3 XOS	Bifidobacterium lactis Lactobacillus rhamnosus GG Lactobacillus casei Shirota Lactobacillus plantarum Lactobacillus plantarum, Lactobacillus acidophilus e Bifidobacterium longum Lactobacillus rhamnosus GG, Bifidobacterium lactis e FOS Bifidobacterium animalis
Enterobacteriaceae (eccesso)	Alimenti di origine vegetale Cereali integrali	FOS GOS	Bifidobacterium longum Bifidobacterium breve Lactobacillus casei DG (o paracasei) Lactobacillus rhamnosus
Porphyromonas (eccesso)		Vitamina D3	
Ruminococcus (eccesso)		GOS	Lactobacillus casei DG (o paracasei)