



Guida per il Medico per l'uso e l'interpretazione del Test ALCAT®



“... a mio parere è necessario che ogni medico sia un esperto della natura, e si sforzi di capire, se vuole fare il proprio dovere, che rapporto c’è tra l’uomo e i cibi e le bevande che consuma, e le sue attività, e quali sono gli effetti di ognuna di queste cose su ognuno di noi.”

IPPOCRATE





Il sistema diagnostico Alcat[®]

PREFAZIONE

I.1

Le reazioni di sensibilizzazione e/o intolleranza nei confronti di alimenti, muffe ed agenti chimici dipendono da molteplici meccanismi patogenetici, difficili da classificare ed individuare singolarmente. Per questo motivo può essere estremamente vantaggioso l'avere a disposizione un sistema diagnostico semplice ed efficace per valutare i loro effetti sulle popolazioni cellulari. Sembra che la maggior parte dei mediatori coinvolti in queste reazioni inducano delle modificazioni nelle cellule ematiche del paziente (soprattutto leucociti e piastrine). Il sistema diagnostico ALCAT, è stato messo a punto per misurare tali modificazioni. La metodica si serve di reagenti di nuova concezione, appositamente studiati e brevettati, che permettono un'accurata misura delle eventuali reazioni a carico delle cellule ematiche. Le singole sostanze vengono incubate con il sangue del paziente, analizzate individualmente e confrontate con il proprio "grafico di controllo", per individuare un'eventuale reazione cellulare in grado di modificare volume e/o numero delle cellule. Le valutazioni vengono effettuate confrontando le eventuali variazioni volumetriche e/o numeriche avvenute nei globuli bianchi rispetto ad una curva di controllo, generata per ogni paziente.

IL SISTEMA ALCAT[®], E LE CELLULE EMATICHE

I.2

Descrizione generale e principi di funzionamento

Il sangue intero prelevato da un paziente viene raccolto in una provetta contenente citrato non tamponato come anticoagulante. Il sangue con il citrato resta stabile a temperatura ambiente per circa 36 ore. Il sangue viene poi diluito in una soluzione neutra ed agitato delicatamente. Aliquote di sangue vengono dispensate in apposite cuvette, alcune contenenti le sostanze da analizzare, altre solamente un tampone per essere utilizzate come controllo. Tutte le cuvette vengono incubate a temperatura costante e sotto agitazione. Trenta secondi prima della lettura vera e propria viene aggiunta a ciascuna provetta





una soluzione elettrolitica contenente un agente litico per i globuli rossi. Con uno strumento automatico le cellule vengono aspirate da ciascuna cuvetta, utilizzando una pompa a vuoto per garantire un corretto flusso. Le cellule vengono fatte passare attraverso una cella a flusso, in modo da valutare ogni cellula del singolo campione e vengono visualizzati il numero complessivo e le dimensioni. Le dimensioni vengono visualizzate sia come diametro cellulare (in micron), sia come volume cellulare (in femtolitri).

Le misurazioni vengono effettuate utilizzando un sistema elettronico di conteggio e misura delle particelle che è basato sulle variazioni di resistenza elettrica (impulsi) prodotte da una particella (in questo caso una cellula ematica), sospesa in un liquido conduttivo, che attraversa una piccola apertura (la cella a flusso). Le particelle, o gli impulsi cellulari, vengono calcolate e discriminate dai sensori di dimensione per produrre un istogramma. L'istogramma viene visualizzato riportando il numero relativo degli impulsi sull'asse delle ordinate e la dimensione delle cellule (in femtolitri) sull'asse delle ascisse. Il numero relativo (la frequenza) si riferisce al numero di cellule di una determinata grandezza. Il numero relativo viene individuato dall'altezza del picco o dalla profondità della depressione tra due picchi. Interfacchiando un computer si possono acquisire i dati in tempo reale su disco rigido, visualizzare otticamente i risultati sul video e stampare i risultati per inserirli nell'archivio permanente. Il sistema è riproducibile, sensibile e specifico.

1.3 APPLICAZIONI A PARTICOLARI CELLULE EMATICHE

I leucociti

Rispetto agli eritrociti ed alle piastrine, i leucociti sono molto meno numerosi; per analizzarli è necessario seguire alcune procedure. In un set di cuvette di controllo e di analisi, gli eritrociti (che per dimensione si sovrappongono ai leucociti) vengono rimossi inducendone la lisi con un agente innocuo per i leucociti. Il test viene quindi effettuato impostando un intervallo di dimensioni cellulari da 5 a 12 micron. Dal momento che le piastrine sono più piccole di 5mm, il visualizzatore a multicanale o il numero di cellule di ciascuna dimensione è ampiamente limitato ai soli leucociti. Sulla sinistra (cellule di minor dimensione),



4

vicino all'asse delle ordinate, compariranno i residui amorfi ed illeggibili delle piastrine e i "ghost" degli eritrociti. Il primo picco dei leucociti è composto prevalentemente da linfociti. Vicino a questo c'è un altro picco che dovrebbe contenere la maggior parte dei fagociti presenti nel campione, i polimorfonucleati neutrofilo, i monociti, gli eosinofili ed i basofili. Quando nel campione l'altezza, la forma o la posizione di questi picchi si modifica in modo considerevole rispetto al controllo, è evidente che si è verificata una variazione della dimensione e/o del numero delle cellule. Questi cambiamenti dei leucociti sembrano dipendere dall'attivazione delle cellule o essere secondari all'azione di fattori immunitari, di mediatori o di sostanze che agiscono sulla membrana cellulare.

Gli eritrociti e le piastrine

Il test può essere adattato per includere l'analisi degli eritrociti e delle piastrine, sebbene non venga effettuato di solito. Un secondo set di cuvette di controllo e di analisi viene utilizzato per questi elementi. Non vengono usati agenti litici perché gli eritrociti e le piastrine sono talmente più numerosi dei leucociti che il contributo di questi ultimi nel conteggio finale è trascurabile. Viene reimpostato per la lettura del primo picco (il primo a sinistra nell'istogramma) l'intervallo dimensionale da 1,5 a 2,9 mm, mentre gli eritrociti si trovano nel secondo picco, nell'intervallo da 3,5 a 9 mm. La zona compresa tra i due picchi contiene un piccolissimo numero di cellule di dimensioni simili.

APPLICAZIONI FUTURE DELL'USO DI ALCAT®

1.4

Caratterizzazione delle cellule implicate nello spostamento dei picchi dalla posizione normale

Per sfruttare al massimo la potenzialità dal sistema Alcat® per l'analisi dei leucociti, è necessario determinare che tipo di cellula si trovi in ogni zona di picco in un istogramma normale. In definitiva, conoscendo questo parametro, si potrà identificare il tipo di cellula o il sottotipo cellulare coinvolto quando si osserva uno spostamento di una qualsiasi zona dalla posizione normale. L'"anatomia" cellulare dei picchi può essere identificata osservando i risultati dello spostamento utilizzando:



5



1. Anticorpi (soprattutto anticorpi monoclonali) per marcare antigeni o recettori di membrana;
2. L'incubazione con sostanze in grado di influenzare la funzione o il metabolismo di particolari tipi cellulari.

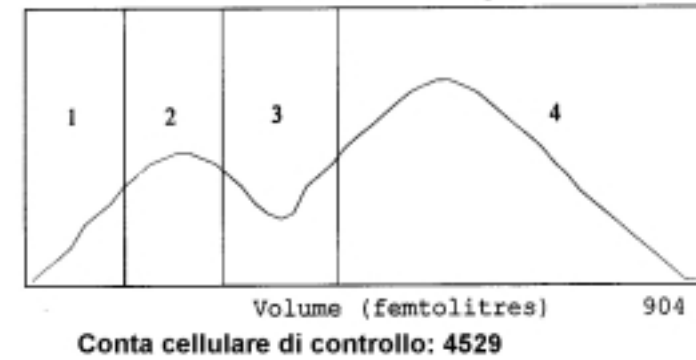
In corrispondenza degli spostamenti osservati, sarebbe interessante ottenere il conteggio del numero di leucociti di ogni tipo rimasti dopo l'incubazione e la valutazione dello stato metabolico e della vitalità delle cellule sopravvissute, mediante metodi istochimici e metabolici, microscopia elettronica, fluorescenza e tecniche di marcatura radioattiva.

1.5 ISTRUZIONI GENERALI PER I MEDICI

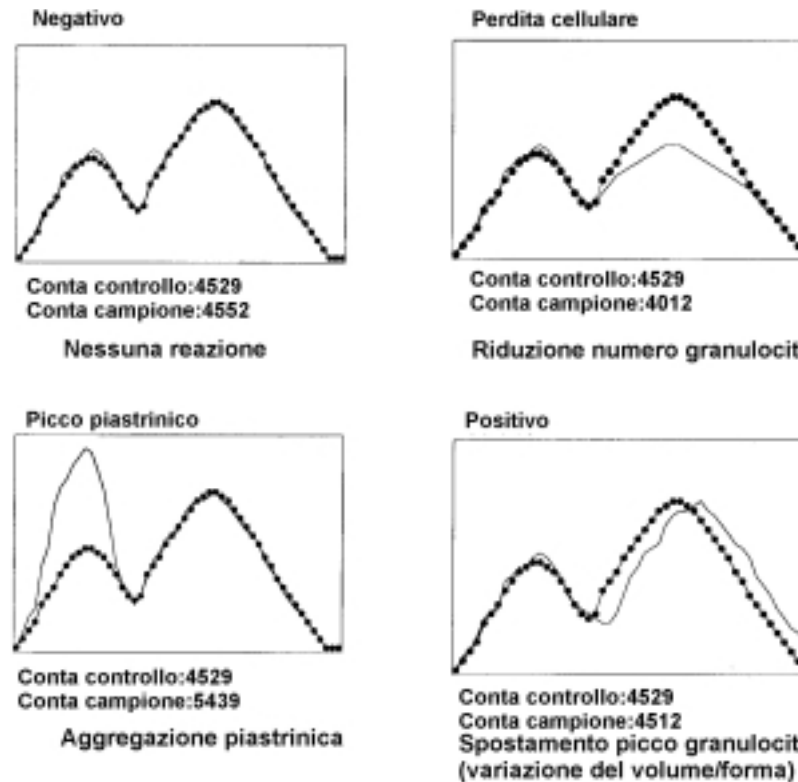
Dopo aver analizzato attentamente i casi di migliaia di pazienti, si è osservato che la tolleranza a diversi tipi di alimenti ed altre sostanze varia da persona a persona. Anche nello stesso paziente questa tolleranza può variare nel tempo, in funzione della frequenza di assunzione dell'alimento o di esposizione alla sostanza e dello stato di salute del momento. Nello stesso modo, se l'alimento che viene testato è tra quelli che il paziente non ha consumato da diverso tempo, è possibile che il test dia una falsa risposta negativa.

I corticosteroidi influenzano i risultati del test, comportando una minore reattività cellulare. Anche alcuni anticoagulanti, come il Coumadin, comportano una modificazione del test. Nei limiti del possibile, i pazienti dovrebbero astenersi dal prendere questi farmaci prima di sottoporsi al prelievo di sangue. Se il trattamento farmacologico non può essere sospeso, il test può essere effettuato per gradi, dove i risultati iniziali serviranno a pianificare una dieta di eliminazione che può creare le condizioni per la sospensione del trattamento farmacologico ed essere seguita da un ulteriore test.

Istogramma di controllo



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





1.6 INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST

I risultati del test ALCAT® vengono calcolati confrontando le variazioni di volume/numero dei leucociti presenti nelle aliquote di sangue incubato con le singole sostanze da testare, rispetto alla sospensione di sangue di controllo. Nel **Range 2+** e **Range MPOS** sono classificati quegli alimenti e/o sostanze che devono essere considerati “non sicuri” per quel paziente, potendo determinare l’insorgenza di sintomi per ingestione, inalazione o contatto.

I risultati classificati nel **Range I+** indicano che sono avvenute alcune reazioni, anche se non a livelli significativi, e che l’interpretazione della positività spetta al Medico che analizza i risultati. È comunque consigliabile eliminare gli alimenti/sostanze del **Range I+** qualora il paziente non presenti altre positività più significative. Gli alimenti/sostanze che compaiono nel **Range Neg** vengono considerati non reattivi.

Gli intervalli di reattività per le varie sostanze sono costruiti secondo i seguenti criteri:

Viene calcolato un valore medio ed una deviazione standard, sommando le differenze assolute in ogni punto della curva di ciascun analita rispetto alla curva di controllo.

1. Ogni analita che cada nella media o al di sotto della media sarà considerato non reattivo (**NEGATIVO**).
2. Ogni analita che cada entro una deviazione standard al di sopra della media sarà classificato nel **Range I+** ed interpretato come dubbio (la scelta della sua eliminazione dipenderà solo dal Medico curante).
3. Ogni analita che cada tra una e due deviazioni standard al di sopra della media sarà classificato nel **Range 2+** e considerato **POSITIVO**.
4. Ogni analita che cada due deviazioni standard oltre la media sarà classificato **MPOS** e considerato come fortemente **POSITIVO**.

Gli istogrammi presentano differenti andamenti a seconda del paziente. La distribuzione di un campione di sangue normale presenterà due picchi, dei quali quello di destra avrà la stessa altezza o potrà essere leggermente più alto/basso di quello di sinistra (fanno eccezione i bambini con meno di 3 anni d’età).

L’istogramma mostra nella zona più a sinistra l’agglutinazione delle piastrine (se avviene), un picco corrispondente ai linfociti sulla sinistra, una regione di cellule miste tra i due picchi e, all’estremità destra, il picco dei granulociti (vedi esempi di istogrammi). L’eventuale aggregazione piastrinica può anche presentarsi come un aumento di cellule nella frazione dei linfociti. Tale reazione potrà essere interpretata come aggregazione piastrinica quando non si accompagnerà ad una contemporanea riduzione del numero dei granulociti (il picco di destra).

Si possono verificare almeno cinque possibili reazioni:

1. *Aumento del volume cellulare*, il picco di destra e/o di sinistra si spostano verso destra,
2. *Degranaazione parziale*, il picco di destra e/o di sinistra si spostano verso sinistra,
3. *Lisi cellulare*, il picco di destra e/o di sinistra sono più bassi a causa della perdita di cellule,
4. *Aggregazione piastrinica*, compare un picco nell’area all’estrema sinistra dell’istogramma,
5. *Nessuna reazione*, i picchi del campione e del controllo si sovrappongono.

EFFETTO DI FARMACI SULLA METODICA DEL TEST ALCAT® 1.7

Gli anticoagulanti come il WARFARIN hanno un’emivita di 15-70 ore. Benché non ci siano in letteratura dati sull’influenza dei coumarinici sui globuli bianchi, i risultati del test ALCAT possono essere alterati dalla terapia anticoagulante (aumentata fragilità delle membrane).

Altri farmaci che possono influenzare il test sono gli antiistaminici e gli steroidi. Gli antiistaminici agiscono sulla struttura lipidica della membrana cellulare, aumentandone la fragilità. I globuli rossi vengono, pertanto, lisi molto più rapidamente e la lisi può interessare anche i globuli bianchi, determinando così molti risultati falsamente positivi. Altri dosaggi di vitamina C e l’uso di Prozac possono comportare lo stesso effetto registrato per gli antiistaminici sul test.

L’uso di steroidi in generale e di corticosteroidi in particolare determina sulle membrane un effetto opposto a quello degli antiistaminici, aumentando negli eritrociti la resistenza alla lisi cellulare e quindi com-



portando numerosi falsi positivi. I globuli bianchi saranno più resistenti alle modificazioni di volume, eventualmente indotte dalle sostanze analizzate, determinando molti falsi negativi.

2

Il test Alcat® per le intolleranze alimentari

Le intolleranze alimentari hanno destato grande interesse nella letteratura medica e non medica fin dall'epoca dei primi documenti storici scritti. Nella letteratura medica moderna, almeno fino a poco tempo fa, molti dei dati raccolti sulle intolleranze sono stati trattati in modo aneddotico perché ritenuti infondati dal punto di vista scientifico. Tuttavia, si sta registrando un interesse crescente verso questo argomento, insieme all'individuazione di nuovi fattori ambientali come causa di malattie.

È ormai chiaro che i meccanismi immunitari mediati dalle IgE non spiegano la maggior parte delle reazioni agli alimenti. Essendo aumentata la consapevolezza dell'intervento di altre reazioni, i ricercatori hanno affrontato attivamente questo problema producendo sempre più lavori scientifici sul coinvolgimento delle intolleranze alimentari nelle manifestazioni allergiche comunemente riconosciute come l'asma, la dermatite atopica, l'orticaria e la rinite allergica, e in altri disturbi che non si credeva fossero ad esse correlati, come il mal di testa di origine vascolare, la sindrome del colon irritabile, il morbo di Crohn, la sindrome nefritica, l'artrite, l'obesità ed i problemi neurologici come i disturbi da riduzione dell'attenzione e l'iperattività (specie nei bambini). Non si conoscono tutti i meccanismi patogenetici di questo ampio gruppo di disturbi e la maggior parte dei ricercatori e dei medici che si occupano di questa stimolante branca della medicina pensano che siano coinvolti meccanismi multipli. Le tecniche attualmente utilizzate per diagnosticare reazioni avverse agli alimenti sono spesso difficili e noiose, sono frequentemente poco accurate e richiedono un'alta compliance da parte del paziente.

STRUMENTI DIAGNOSTICI PER LE INTOLLERANZE ALIMENTARI 2.1

Lo standard diagnostico "per eccellenza" è sempre quello della stimolazione sistemica orale dopo una dieta di eliminazione, utilizzando sia la tecnica a singolo cieco, sia quella a doppio cieco. Tuttavia questo



approccio è piuttosto lento e complicato per la pratica medica ed i test a doppio cieco non sono molto comuni al di fuori dell'area sperimentale. Le diete di eliminazione rappresentano l'approccio seguito da più tempo, ma hanno risentito dei processi di selezione piuttosto arbitrari degli alimenti ritenuti "non reattivi" o dell'uso di formule speciali. Dopo i miglioramenti ottenuti con la dieta di eliminazione, gli alimenti vengono nuovamente reintrodotti, uno per volta, e ogni reazione o sintomo vengono attentamente osservati e registrati dal Medico e/o dal paziente stesso. Questa tecnica è molto lenta e faticosa per il paziente, soprattutto quando sono numerosi gli alimenti da valutare. Per molti anni è stato usato il test cutaneo come strumento diagnostico. Tuttavia, dal momento che i meccanismi IgE dipendenti non sono frequentemente coinvolti nelle reazioni agli alimenti, le eventuali positività dopo inoculazione delle sostanze da testare non sono sempre affidabili e determinanti da un punto di vista diagnostico. Nello stesso modo, una risposta cutanea negativa non può escludere la sensibilizzazione a quella particolare sostanza. L'uso dei test di provocazione cutanea è ancora considerato da molti allergologi come una tecnica non sempre attendibile, ed è comunque uno strumento talmente specialistico che molti medici non riescono ad inserirlo facilmente nella loro routine ambulatoriale.

Numerose tecniche *in vitro* sono state utilizzate per la diagnosi delle intolleranze alimentari. Queste sono state rivolte inizialmente all'individuazione di reazioni mediate dal sistema immunitario. Quelle che coinvolgono i meccanismi di tipo IgE hanno incluso il RAST per le IgE o il metodo degli anticorpi fluorescenti per misurare la quantità di anticorpi della classe IgE prodotti verso specifici alimenti. I test della degranulazione basofila misurano essenzialmente lo stesso processo. Sono state utilizzate anche l'inibizione della migrazione dei leucociti, macrofagi compresi, e la valutazione dell'attivazione del complemento *in vivo* ed *in vitro*. Il test di citotossicità per gli alimenti, come sviluppato da Bryans, non è stato convalidato da adeguate correlazioni cliniche ed è stato in gran parte abbandonato. La misurazione degli anticorpi IgG prodotti verso specifici alimenti è recentemente diventata disponibile e viene utilizzata da molti Medici.

La tecnica degli anticorpi IgG non ha evidenziato buone correlazioni cliniche; la presenza di anticorpi IgG sembra soprattutto indicare una prolungata esposizione ad un particolare alimento. Si possono rilevare

aumenti del titolo di anticorpi IgG per gli alimenti, sia in soggetti normali sia nei bambini che stanno sviluppando tolleranza verso un particolare alimento. Finora non è stato possibile dimostrare che esiste una relazione tra elevate concentrazione di IgG nel siero e la presenza di specifici mediatori. In alcuni casi ed in presenza di patologie gastrointestinali, si può trovare una correlazione che è associata all'aumento dell'assorbimento di uno specifico alimento. Tuttavia, tale correlazione non è tanto consistente da rendere questo test valido come indicatore di sensibilizzazione a particolari alimenti. Inoltre, misura solo le reazioni che coinvolgono le IgG e non fornisce indicazioni per altri tipi di reazioni ad alimenti.

Come suggerito dal Professor W.T. Kniker, Direttore della Clinica Immunologica, Dipartimento di Pediatria dell'Università del Texas Health Science Center di San Antonio durante un simposio sulle allergie alimentari, il test diagnostico ideale per individuare le reazioni verso gli alimenti dovrebbe possedere alcune caratteristiche:

1. Dovrebbe essere semplice, conveniente, non traumatico e fornire i risultati in tempi brevi.
2. Dovrebbe essere relativamente economico.
3. Dovrebbe individuare i soggetti reattivi ad in modo affidabile, con pochi risultati "falsi positivi" o "falsi negativi".
4. Dovrebbe virtualmente identificare per ogni paziente tutti i principali alimenti positivi e la maggior parte di quelli secondari.
5. Dovrebbe preferibilmente non dipendere da un unico, o da una serie limitata di meccanismi scatenanti e dovrebbe essere in grado di misurare tutti i meccanismi immunitari e non immunitari coinvolti.
6. Dovrebbe riuscire a distinguere tra diversi meccanismi scatenanti o patogenetici.
7. Dovrebbe dare la possibilità di studiare l'attivazione di fattori e mediatori cellulari e non cellulari ed il loro effetto sulle cellule e sui tessuti.

Il test ALCAT® è un test *in vitro* che utilizza sangue intero. Ciò deter-



mina il vantaggio teorico che il sangue intero contiene sia tutti fattori ed i mediatori chimici presenti in circolo, sia i leucociti e gli altri elementi cellulari che possono essere coinvolti in diverse reazioni nei confronti di comuni alimenti. La reazione di aliquote di sangue del paziente con i singoli estratti alimentari viene condotta in condizioni attentamente controllate e confrontata con quella delle aliquote di controllo trattate nello stesso modo, ma non esposte agli estratti alimentari. Dopo la separazione della frazione leucocitaria, attraverso la lisi degli eritrociti, ogni aliquota viene analizzata utilizzando uno specifico strumento di conteggio e misurazione cellulare capace di separare i leucociti in 256 sottogruppi in base alla dimensione delle cellule. Lo strumento misura il numero delle cellule, la dimensione cellulare media e le curve di distribuzione dimensionale. Mediante l'analisi computerizzata, la variazione del numero e delle dimensioni cellulari e le curve di distribuzione vengono espresse quantitativamente e la percentuale di variazione calcolata ed espressa numericamente e graficamente. Il grafico del test viene sovrapposto al grafico di controllo, consentendo di determinare quali reazioni provocano variazioni delle dimensioni cellulari (aumento o riduzione) e/o perdita assoluta di cellule nel campione. La principale frazione leucocitaria reattiva è il sottogruppo contenente i granulociti ed i monociti. Anni di analisi hanno permesso di sviluppare dei reagenti, delle soluzioni e dei materiali che hanno dimostrato di non provocare reazioni nel campione di sangue. Altri vantaggi di questo metodo dipendono dal fatto che uno studio su una popolazione di giovani adulti sani ha dimostrato solo una lieve reattività ad alcuni estratti di alimenti (cioè poche reazioni "false positive"). Inoltre gli studi ripetuti sul sangue degli stessi individui in condizioni controllate hanno dimostrato solo piccole differenze nelle analisi successive (cioè, buona riproducibilità per antigeni multipli). Infine, il metodo richiede una competenza tecnica minima, mentre le misurazioni e i calcoli computerizzati eliminano tutti gli errori che potrebbero derivare dalla parzialità dell'osservatore.

Naturalmente l'utilità del test ALCAT®, o di ogni altro test diagnostico per la sensibilizzazione agli alimenti, dipende dal livello di correlazione dei suoi risultati con i risultati ottenuti mediante il test di provocazione orale degli alimenti da testare. Come già sottolineato, tutti i test cutanei o in vitro precedentemente descritti (compresa la misurazione delle IgG specifiche verso alcuni alimenti) non hanno dimo-

strato di essere attendibili e quindi utilizzabili nelle diagnosi di sensibilizzazioni ad alimenti non mediate da IgG. Gli studi clinici effettuati utilizzando il test ALCAT® hanno evidenziato un buon livello di correlazione (83,4%) con il test di provocazione orale a doppio cieco per gli estratti alimentari ed il 96% di correlazione con il test di provocazione orale a doppio cieco, contro placebo, per gli additivi alimentari.

INDICAZIONI PER IL TEST ALCAT®

2.2

Il test ALCAT® può aiutare ad individuare gli alimenti potenzialmente reattivi nei pazienti con una sospetta sensibilizzazione/intolleranza nei confronti di alimenti che non si riescono ad identificare agevolmente. Alcune volte il test ALCAT® non trova indicazione, come ad esempio in soggetti altrimenti sani che presentano reazioni anafilattiche gravi dopo l'ingestione di un alimento particolare, oppure in neonati con sospetta sensibilizzazione alimentare – per i quali conviene impostare un regime a base di sostituti del latte vaccino ed escludere tutti gli altri alimenti.

Ci sono, comunque, molti pazienti affetti da sospetta sensibilizzazione ad alimenti, che potrebbero essere reattivi a più di un alimento ed in cui potrebbero essere interessati meccanismi patogenetici diversi dalle sole IgE. Sebbene un'anamnesi attenta, l'utilizzo di questionari e di diari o anche l'uso di test cutanei immediati possono aiutare ad identificare alcuni alimenti sospetti, spesso questi approcci hanno un valore limitato. Il test ALCAT® condotto su una serie specifica di alimenti è utile per identificare sia gli alimenti che possono scatenare reazioni patologiche, sia quelli (che hanno dato risposta negativa) verosimilmente sicuri. La diagnosi finale si basa sull'eliminazione degli alimenti identificati mediante l'anamnesi (inclusi i diari) ed il test ALCAT® e la loro successiva reintroduzione nella dieta, seguendo i criteri stabiliti per il test di provocazione orale.

Il test ALCAT® può essere utile anche per quei pazienti che hanno provato diete di eliminazione ma non sono riusciti, dai successivi test di provocazione orale, ad individuare tutti i principali alimenti reattivi. In essi l'uso del test ALCAT® può contribuire a chiarire la situazione e ad impostare immediatamente una dieta di eliminazione di lunga durata.



2.3 INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Il Medico può decidere di utilizzare i risultati del test ALCAT® per individuare gli alimenti da eliminare (per esempio quelli risultati dubbi o positivi), facendo seguire, dopo un periodo di remissione dei sintomi, i test di provocazione orale per ogni alimento. Questo approccio permette di evitare gli inganni delle diete di eliminazione che si seguono di solito (quella di Rowe, di Rapp, di Crook, ecc.), da cui vengono esclusi arbitrariamente alcuni alimenti comuni e ne vengono inclusi altri ritenuti "sicuri", che possono comunque creare problemi a qualche paziente. Quando i metodi "abituali" di eliminazione e di provocazione indotta producono risultati incerti, il test ALCAT® può essere utilizzato per dirimere i dubbi. In entrambi i casi l'intervento di un nutrizionista o di un dietologo servirà sicuramente ad aiutare il paziente nella manipolazione dietetica per strutturare un nuovo regime alimentare. Non è sufficiente dire ad un paziente di eliminare alcuni alimenti, bisogna istruirlo sulle fonti degli alimenti sicuri o reattivi, sulla presenza non evidente di alimenti reattivi nei cibi che può utilizzare abitualmente (in scatola, precotti, surgelati ecc.), su negozi specializzati presso cui servirsi e sull'importanza di far ruotare differenti alimenti nella propria dieta. Dopo aver completato la fase diagnostica, e quando emerge la necessità d'impostare una dieta di eliminazione di lunga durata, l'aiuto del nutrizionista è essenziale per prescrivere una dieta che aumenti la *compliance* del paziente, riduca al minimo l'ingestione di alimenti reattivi e mantenga un ottimale apporto di nutrienti. L'uso di farmaci come gli antistaminici, gli agenti antiinfiammatori non steroidei, il cromoglicato di sodio, il chetotifene (se disponibile) o i corticosteroidi, può essere utile, ma è sempre secondario al rispetto di una dieta di eliminazione attentamente pianificata.

2.4 VALORI ATTESI PER I TEST SUGLI ALIMENTI

Gli individui normali, sani, non soggetti ad allergie presentano di norma un basso numero di valutazioni positive e una più bassa media di valutazione generale. L'altezza del picco di destra nell'istogramma sarà uguale o superiore a quella del picco di sinistra ad eccezione dei bambini di meno di tre anni d'età, che presentano un picco di destra significativamente più basso. I pazienti con sintomatologia clinica possono

manifestare una maggior incidenza di risultati positivi e una più alta media di valutazione generale. Il picco di destra nell'istogramma apparirà di solito più basso di quello di sinistra.

I risultati positivi indicano quasi sempre una probabile associazione con intolleranze o malattie allergiche, come la rinite allergica, il mal di testa tipo emicrania, l'asma, l'eczema, la dermatite atopica, ecc.. Per determinare gli intervalli di normalità, sono stati analizzati 100 campioni (50 provenienti da individui sani, non soggetti ad allergie e 50 da un gruppo di pazienti di età simile con sospette malattie allergiche) con 10 diversi allergeni.

RIPRODUCIBILITÀ DEL TEST

La specificità e l'accuratezza del test ALCAT® è risultata pari all'83,4% rispetto al test di provocazione orale a doppio cieco (DBC). Un risultato positivo determinato con il test ALCAT® è positivo al DBC nel 79,3% dei casi, così come un risultato negativo è negativo al DBC nel 87,5% dei casi. Questi dati sono ricavati da una ricerca che ha coinvolto 19 pazienti, su ognuno dei quali è stata valutata una serie di 50 alimenti. La riproducibilità del test ALCAT® è stata valutata in studi effettuati su un periodo di tre giorni, con ripetizione statisticamente significativa ($p < 0.02$) dei risultati positivi e negativi.

In un altro studio condotto su 26 pazienti, sono stati effettuati 76 test sugli additivi alimentari utilizzando il metodo della provocazione orale a doppio cieco, con controllo placebo. Delle 24 risposte positive, 23 sono risultate positive al test ALCAT® (96%). Delle 26 risposte negative, 23 sono risultate negative al test ALCAT® (92%). Una sola reazione è avvenuta nel gruppo del placebo. Perciò il test ALCAT® è risultato sensibile al 96% e specifico al 92%.

BIBLIOGRAFIA

Atkins, F.M., Steinberg, S.S., Metcalfe D.D.: Evaluation of immediate adverse reactions to food in adult patients. I. Correlation of demographic laboratory, and prick test data with response to controlled oral food challenge. *J. Allerg. Clin. Immunol.* 75:348, 1985.

Dannaeus, A., Johansson, S.G., Foucard, T.: Clinical and immunological aspects of food allergy in childhood. I. Estimation of IgG, IgA and



IgE antibodies to food antigens in children with food allergy and atopic dermatitis. *Acta Paediatr. Scand.* 66:31, 1977.

Stern, M., Stupp, W., Gruttness, R.: Cow's milk protein antibodies determined by immunofluorescence (RIFT) in cow's milk protein intolerance and in controls. *Monatsschr. Kinderheilkd.* 130:556, 1981.

Knicker, W.T.: Immunologically mediated reactions to food: State of the Art. 3rd Int. *Symposium on Immunological & Clinical problems of food allergy, Taormina, Italy.* Oct. 1-4, 1986.

Buckley, R.H., Metcalfe, D.: Food Allergy. *JAMA* 248(2):2627-2631, Nov. 26, 1982.

McCarty, E.P., Frick, O.L.: Food sensitivity: Keys to diagnosis. *J. Pediatr.* 102(5):645-652, May, 1983.

AAIA & NIAID, Adverse Reactions to Foods, U.S. Dept. of HHS, Public Health Services NIH, July, 1984.

3

Il test Alcat® per gli additivi alimentari e gli agenti chimici ambientali

Questa sezione è una guida all'utilizzo del test ALCAT® per valutare la sensibilizzazione verso i più comuni additivi alimentari, agenti chimici ed inquinanti ambientali. Può servire al Medico per interpretare la significatività dei risultati del test e per identificare, con un approccio più diretto, le cause specifiche di una patologia legata a fattori ambientali ed impostare il conseguente trattamento.

In alcuni casi queste informazioni possono servire a spiegare le possibili cause di una malattia a quei pazienti che sono interessati a partecipare attivamente al proprio intervento terapeutico. Gli individui che effettuano questo test sono probabilmente già stati sottoposti ad altri tipi di accertamenti ed hanno particolarmente bisogno di essere informati sulle possibili fonti di esposizione, dal momento che devono partecipare attivamente programma terapeutico evitando l'esposizione al maggior numero possibile di agenti sensibilizzanti.

Lo standard diagnostico "per eccellenza" per stabilire la sensibilità agli agenti chimici è il test di provocazione in doppio cieco *in vivo*, eseguito in ambiente controllato (Unità Ambientale Controllata), utilizzando un'attenta valutazione clinica e, quando possibile, dei metodi obbiettivi per stabilire la variazione dei sintomi. Un approccio di questo tipo è costoso ed impraticabile nella maggior parte dei casi. Da qui la necessità di un affidabile test *in vitro*.

I leucociti rappresentano una componente importante del sistema immunitario di un organismo e manifestano molto spesso modificazioni quando il paziente è sottoposto ad un sovraccarico di sostanze sensibilizzanti tossiche o quando si manifesta una iper-sensibilità acquisita di cui non si conoscono i meccanismi scatenanti.

Il livello di reattività cellulare può non essere direttamente correlato all'intensità dei sintomi; tuttavia, si può ragionevolmente sospettare che una consistente variazione del volume cellulare sia associata al tentativo dell'organismo di interagire con la(e) sostanza(e); da ciò può derivare, in seguito, la comparsa dei sintomi.

3.1 L'ENTITÀ DEL PROBLEMA

Per l'intervento di variabili complesse che possono coinvolgere fattori genetici o disfunzioni metaboliche, un soggetto può sensibilizzarsi ad agenti chimici per inalazione, contatto o ingestione. Questa sensibilizzazione potrebbe restare asintomatica fino a quando i più importanti sistemi di detossificazione funzionano a livello ottimale. Tuttavia, anche in un paziente sano, un agente chimico o un suo metabolita potrebbero complessarsi con un anticorpo e indurre una reazione d'ipersensibilità immunomediata.

Si possono verificare anche reazioni di idiosincrasia, tossiche o farmacologiche, non mediate dal sistema immunitario. Nei periodi di stress o in assenza di un adeguato apporto alimentare, la funzionalità epatica o renale, insieme ai sistemi enzimatici preposti alla detossificazione, possono alterarsi e comportare la comparsa di sintomi associati all'esposizione ad agenti chimici.

Ogni sistema dell'organismo può essere teoricamente il bersaglio di reazione tossiche, ma, più comunemente, queste interessano la pelle, l'apparato respiratorio ed il SNC. È descritto un tipo di reattività che si manifesta quando un'esposizione a dosi elevate di un agente chimico innesca quella che viene definita "un'induzione", dopo la quale una successiva esposizione anche a quantità minime della stessa sostanza può essere sufficiente a "scatenare" la reazione. Spesso si verifica una reazione di "propagazione" o lo sviluppo di sensibilità a nuove sostanze, suggerendo che il primo insulto potrebbe avere interrotto un percorso metabolico determinante e, di conseguenza, danneggiato la capacità dell'organismo di far fronte agli effetti di diverse sostanze chimicamente correlate ed anche di altre sostanze strutturalmente diverse. Le osservazioni cliniche hanno documentato un'ampia varietà di sintomi. Ricerche condotte secondo il metodo a doppio cieco con controllo placebo, hanno evidenziato l'associazione tra i coloranti alimentari, il salicilato, ecc. e l'ipercinesia. Nello stesso modo, i sintomi dell'asma possono essere indotti dai solfiti, dall'aspirina (acido acetilsalicilico), dai coloranti, dai salicilati presenti negli alimenti naturali, dal cloro e da altre sostanze. Eczema e reazioni orticarioidi possono essere indotti dalla tartrazina, da diversi farmaci, dal benzoato di sodio, dall'aspirina, dal metabisolfito. L'inalazione di vapori di diverse sostanze chimiche e di sostanze comunemente presenti nei moderni fabbricati è stata rite-

nuta responsabile di diversi disturbi. La cosiddetta "Sick Building Syndrome" è correlata alle sostanze chimiche utilizzate nei materiali da costruzione, come la formaldeide, le soluzioni detergenti, lo sviluppo eccessivo di muffe nei sistemi di ventilazione e altro ancora, oltre alla presenza di polvere e di acari della polvere.

SOSTANZE CHIMICHE VOLATILI COMUNEMENTE IDENTIFICATE IN 42 MODERNI MATERIALI DA COSTRUZIONE

I 10 composti più frequentemente individuati	I 10 composti individuati in equilibrio ad alte concentrazioni medie
TOLUENE	TOLUENE
N-DECANO	3-XILENE
1, 2, 4-TRIMETILBENZENE	C ₁₀ H ₁₆ (TERPENI)
N-UNDECANO	N-BUTILACETATO
3-XILENE	N-BUTANOLO
2-XILENE	N-ESANO
N-PROPILBENZENE	4-XILENE
ETILBENZENE	ETOSSI-ETILACETATO
N-NONANO	N-EPTANO
1, 3, 5-TRIMETILBENZENE	2-XILENE

Il fumo di sigaretta contribuisce all'inquinamento degli ambienti chiusi. Contiene, infatti, numerose sostanze chimiche, compresi i conservanti utilizzati durante la coltivazione del tabacco, gli aromatizzanti ed i fumi di cherosene provenienti dai caloriferi utilizzati per l'essiccamento delle foglie. Anche l'uso di gas metano per la cottura e per il riscaldamento può determinare un "livello di smog" che supera di tre volte quello di Los Angeles. L'inquinamento degli ambienti chiusi è molte volte più pericoloso dell'inquinamento esterno.

La "Sick Building Syndrome" provoca mal di testa, stanchezza, problemi respiratori, disturbi mentali, nervosismo, artralgie, ecc.. Di recente, gli impiegati dell'Environmental Protection Agency di Washington, D.C. si sono rifiutati di lavorare nei loro stessi uffici che erano stati contaminati dai vapori di formaldeide e di lattice emessi dai nuovi rivestimenti del pavimento. Se i sintomi si inaspriscono durante l'inverno, quando si trascorre molto tempo negli ambienti chiusi, la ragione può essere questa.

Un'altra fonte di preoccupazione sanitaria è la concentrazione di antibiotici rinvenuta nelle carni e nel pollame. Questa accelera lo sviluppo di ceppi batterici resistenti che potrebbero contagiare i consumatori di questi cibi. Un'esposizione indiretta e prolungata da parte del consumatore potrebbe anche indurre una forma di ipersensibilità. In modo simile, è preoccupante la somministrazione di ormoni della crescita al bestiame, dal momento che è stata dimostrata una reazione avversa ai residui delle sostanze presenti nei tessuti consumati.

Il biossido di zolfo è stato utilizzato per 2500 anni dai Romani per la conservazione del vino. Ora la FDA degli Stati Uniti ha vietato l'uso dei solfiti nelle carni, ma non nel pesce, e l'utilizzo di questa sostanza è ancora molto diffuso. Le patate ed il mais in commercio vengono spesso cosparsi di biossido di zolfo, ed altri solfiti vengono utilizzati come conservanti dei vini e di altri alimenti, sebbene l'obbligo di indicare sulle etichette gli additivi utilizzati abbia avuto qualche effetto positivo. Il governo degli Stati Uniti ha stimato che più di un milione di Americani, soprattutto gli asmatici, è sensibile ai solfiti, e ha attribuito la causa di 17 decessi avvenuti nel 1987 all'ingestione diretta di solfiti. Il biossido di zolfo è considerato responsabile di possibili alterazioni del metabolismo dei carboidrati e può anche avere un effetto negativo sulla produzione di anticorpi da parte dei linfociti. L'efficienza del sistema enzimatico che metabolizza la SO₂, la solfito ossidasi, dipende, tra l'altro, dalla disponibilità di molibdeno, presente nella soia ed in vari legumi.

La contaminazione con gas costituisce un altro fattore di adulterazione degli alimenti. Le banane vengono esposte ai gas di etilene per la maturazione. La maggior parte dei chicchi di caffè viene tostata con il gas. Ogni molecola di aspartame ingerita rilascia una molecola di etanolo nel sangue. Anche le barbabietole, il mais e la canna da zucchero vengono trattati con il gas. Il miele può essere un valido sostituto.

3.2 PROSPETTIVE SOCIOLOGICHE

Nel 1900 l'80% della popolazione statunitense era impiegata nell'agricoltura. La percentuale odierna è di circa il 2%. Considerando che gli Stati Uniti controllano gran parte della produzione agricola e chimica del mondo, è facile immaginare una forte tendenza all'utilizzo di fertilizzanti, di pesticidi e di altre sostanze chimiche, di farmaci ed ormoni

nella produzione commerciale di raccolti e di bestiame. Di conseguenza, il livello di pesticidi è triplicato nelle due decadi che vanno dal 1965 al 1985, nonostante la consapevolezza che solo lo 0,1% dei pesticidi nebulizzati raggiunge il suo bersaglio, mentre il 60% dei pesticidi si trasferisce negli alimenti. Questa inefficienza può avere una convenienza economica, ma sicuramente non migliora lo stato di salute della popolazione.

Di conseguenza, gli statunitensi ingeriscono in media ogni anno quasi 3 Kg di pesticidi e di composti artificiali. Come altri agenti chimici ambientali, i pesticidi vengono immagazzinati nelle riserve di grasso dell'organismo. Perciò le parti di grasso presenti nelle carni, oltre ad essere associate ad altri rischi sanitari, contengono la massima concentrazione di residui chimici e, perciò, devono essere eliminate il più possibile dalla dieta.

Il Servizio Sanitario Pubblico ha condotto un'indagine nazionale sul contenuto nel tessuto adiposo di differenti sostanze:

Composto	Possibile fonte di esposizione	Frequenza nei soggetti testati
Stirene	Bicchieri usa e getta, sostegno dei tappeti	100%
1, 4 Diclorobenzene	Tarmicidi, deodoranti per ambienti	100%
Xilene	Benzina, vernici	100%
Etilfenolo	Acqua potabile	100%
OCDD (diossina)	Trattamento del legno, erbicidi, gas di scarico	100%
HxCDD (diossina)	Trattamento del legno, erbicidi, gas di scarico	98%
Benzene	Benzina	96%
Clorobenzene	Acqua potabile	96%
Etilbenzene	Benzina	96%
DDE	Pesticida	93%
Toluene	Benzina	91%
PCBs	Inquinamento dell'aria, dell'acqua e degli alimenti	83%
Cloroformio	Acqua potabile	76%
Butilbenzilftalato	Materie plastiche	69%
Eptacloro	Controllo delle termiti	67%
DDT (vietato l'uso negli USA dal 1972)	Inquinamento dell'aria e degli alimenti	55%



Molti pazienti manifestano delle reazioni ai prodotti alimentari commerciali, ma non agli stessi prodotti coltivati naturalmente, una realtà che bisognerebbe tenere presente quando si analizzano i risultati del test ALCAT® o dei test di provocazione, o quando si consiglia di consumare alimenti “coltivati organicamente”. Altre fonti di esposizione sono ubiquitarie. L'acqua potabile contiene cloro, oltre ad un'ampia varietà di altri inquinanti e contaminanti. Watson e Kilber hanno segnalato già nel 1934 che il cloro può causare problemi di asma. Anche l'esposizione alla formaldeide è comune.

FONTI DI ESPOSIZIONE ALLA FORMALDEIDE

- Prodotti industriali e materiali da costruzione
- Schiuma di urea-formaldeide e isolanti del compensato in vetroresina, pannelli di rivestimento, leganti e adesivi per tavole di truciolato e di segatura
- Rivestimenti protettivi dei composti di fusione e dei laminati impiallicciati (composti idrofobi, ritardanti della combustione, ecc)
- Conservanti e pesticidi
- Sostanze di concitura delle pelli
- Antisettici, disinfettanti, deodoranti, prodotti antimicotici
- Fissativi tessili e liquidi per imbalsamare
- Giornali, manufatti e tessuti
- Cavi elettrici, materie plastiche e gomma

Un paziente sensibilizzato deve conoscere bene le fonti da evitare ed essere diligente nel farlo. I livelli di formaldeide ritenuti sicuri (0,04 ppm) sono sufficienti a causare nel 90% della popolazione uno o più sintomi quali l'irritazione degli occhi, il mal di testa e i disturbi alle mucose nasali e/o faringo-laringee. Un altro composto, il fenolo, è comune e viene utilizzato nel rivestimento dei barattoli per gli alimenti. I pazienti sensibili al fenolo possono reagire al fenolo proveniente dal barattolo in cui viene inscatolato il cibo e non essere assolutamente sensibili allo stesso cibo consumato fresco. Si sa, inoltre, che un paziente potrebbe reagire al fenolo utilizzato per la conservazione delle soluzioni di allergeni diagnostici utilizzati nei test cutanei.

Come accade in molti casi di sensibilità alimentari, un'alterazione della funzionalità intestinale può influenzare la suscettibilità agli agenti chi-

mici. Per esempio, ricerche condotte su animali hanno evidenziato che se l'animale viene sottoposto ad un trattamento antibiotico preliminare, aumenta la proporzione di colorante alimentare escreto con le urine. Nello stesso modo, somministrando tartrazina con il DDS (diopilsodiosulfosuccinato), un lassativo, il metabolismo della flora intestinale viene inibito, causando un maggior assorbimento del colorante e una sua maggior concentrazione nel sangue e nel tessuto cerebrale.

TRATTAMENTI

3.3

La principale terapia dopo una diagnosi di sensibilizzazione agli agenti chimici consiste nell'evitarli. La gravità dei sintomi determinerà l'impegno del paziente a “ripulire” l'ambiente in cui vive. Alcune contromisure sono piuttosto facili da adottare, come indossare indumenti prodotti con fibre naturali, consumare alimenti freschi e coltivati in modo organico, evitare il più possibile di pranzare nei ristoranti, adottare un dispositivo di depurazione dell'aria e/o dell'acqua per uso domestico, ecc.. Si possono prendere in considerazione anche altre misure, come la sostituzione dell'elettricità al gas negli impianti domestici di riscaldamento e di cottura dei cibi, la possibilità di cambiare il posto di lavoro, il trasferimento in zone meno inquinate e così via.

In molti casi il miglioramento dipenderà da una dieta che corregga dei deficit nutrizionali. Per esempio, molti pazienti che presentano reazioni al MSG (glutammato monosodico) trarranno beneficio dall'integrazione con vitamina B6. La pantoteina, che aumenta l'attività dell'aldeide-deidrogenasi, si è dimostrata utile nei casi di sensibilità alla formaldeide. Come affermato precedentemente, il molibdeno è essenziale per il metabolismo dei solfiti. Altri importanti microelementi sono gli antiossidanti, la vitamina E e C, il beta-carotene, il glutatione e la ceruloplasmina; i minerali zinco, rame, ferro, manganese e selenio; il complesso B e gli aminoacidi metionina e cisteina. È importante che il Medico possa sempre conoscere le necessità specifiche del paziente, mediante la valutazione delle sue abitudini alimentari e che si consulti con un valido nutrizionista per elaborare un programma d'integrazione appropriato.

3.4 DESCRIZIONE DEGLI ADDITIVI ALIMENTARI, DEI COLORANTI E DEGLI AGENTI CHIMICI

Additivi alimentari

ASPARTAME (E951):

Dolcificante a basso contenuto calorico, 160 volte più dolce di una soluzione acquosa di saccarosio, è l'estere metilico di un dipeptide l'-aspartil-L-fenilalanina. Se lo si espone a fonti di calore e/o a soluzioni troppo acide o troppo alcaline, l'aspartame libera una sostanza chimica tossica, l'alcol metilico. È vietato in gravidanza ed in allattamento. L'aspartame può modificare i livelli dei mediatori chimici cerebrali e influire sul comportamento. È presente in molti prodotti dietetici e "light".

ACIDO BENZOICO (E210):

Conservante alimentare, in natura si trova nelle bacche, nelle prugne, nel tè, nella cannella e nei chiodi di garofano. Viene usato nella preparazione di confetture, gelatine, marmellate, uovo liquido, semiconservate di pesce, salse e minestre, caviale, spuntini a base di cereali e patate, bibite analcoliche, integratori alimentari dietetici. Viene eliminato con le urine sotto forma di acido ippurico. Causa disturbi temporanei dovuti ad irritazione gastrointestinale.

MGS (E621):

Glutammato monosodico, esaltatore di sapidità, utilizzato nella preparazione degli alimenti per migliorarne il gusto. Se usato in eccesso, può provocare torpore, palpitazioni cardiache, sudori freddi, mal di testa (sindrome del ristorante cinese).

POLISORBATO 80 (E433):

Derivato del sorbitano, poliossietilene sorbitano mono oleato (Tween 80), viene utilizzato come emulsionante nella preparazione di alimenti e di aromatizzanti.

Viene impiegato per rendere friabili gli alimenti, nei condimenti vari, nei prodotti da forno, nei latticini, nelle bevande, nel caffè, nella carne e nel pesce.

NITRATO DI POTASSIO (E252), NITRITO DI POTASSIO (E249):

Sono diffusi negli alimenti animali e vegetali e nell'acqua, i nitrati in quantità 100 volte superiori ai nitriti. Utilizzati nei fuochi d'artificio, nella fusione dei metalli, negli alimenti in salamoia, negli insaccati, nei prosciutti, nei prodotti caseari e nei pesci marinati, nel trattamento del tabacco per facilitare la combustione e nei fiammiferi. Sono impiegati per mantenere il colore rosso della carne (formazione di nitrosomioglobina e nitrosoemoglobina), per favorire lo sviluppo dell'aroma e per svolgere azione antimicrobica, soprattutto nei confronti del *Clostridium Botulinum*. L'esposizione prolungata può provocare anemia, metemoglobinemia e nefrite. Se ingeriti ad alte concentrazioni, possono provocare vomito e diarrea. Se i nitriti vengono convertiti in nitrosammine nello stomaco, queste possono essere cancerogene. Nell'organismo sono convertiti in nitriti dai batteri.

SACCARINA (E954):

È il più diffuso dei dolcificanti artificiali. Usata come dolcificante nelle bevande ipocaloriche, nei gelati dietetici e in altri alimenti ipocalorici. Viene assorbita per il 90%, ma non metabolizzata per cui si accumula negli organi maggiormente irrorati (rene, fegato, polmoni) e nella vescica. Non può essere usata nella preparazione di dolci cotti perché sviluppa un odore sgradevole nella cottura.

ACIDO SORBICO (E200):

Utilizzato nei conservanti per inibire lo sviluppo dei batteri e delle muffe in quanto inibisce i sistemi enzimatici delle cellule micotiche. Si usa nei formaggi, nel vino, nelle creme di cioccolato, nelle margarine e nei succhi di frutta.

SOLFITO DI SODIO (E221) METABISOLFITO DI SODIO (E223):

Derivati dall'anidride solforosa (SO₂). Usati come antiossidanti per ridurre e prevenire l'alterazione dei cibi provocata dai batteri e dalle muffe. Riducono al minimo l'imbrunimento enzimatico ed hanno la proprietà di sbiancare il prodotto a cui vengono aggiunti. Si ritrovano nel vino, nella birra, nelle bevande analcoliche, nelle marmellate e gelatine di frutta, frutta e verdura essiccate, prodotti dolciari e a base di



patate. Possono provocare reazioni asmatiche. I solfiti vengono di solito ossidati a solfati, ma possono anche legarsi ai ponti disolfuro delle proteine, alterandone la struttura. Possono provocare la diminuzione della vitamina B1 nell'organismo.

Additivi alimentari

TARTRAZINA (E102):

Il più diffuso colorante negli alimenti (dolci, dessert, bevande, cereali e prodotti caseari), farmaci e cosmetici. Usato anche per tingere seta e lana. Polvere giallo-arancio.

GIALLO DI CHINOLINA (E104):

Colorante utilizzato negli alimenti, farmaci e nei cosmetici (ad eccezione dei prodotti per gli occhi). Utilizzata anche nella tintura della lana, nylon, seta e come colorante per la carta.

ROSSO COCCINIGLIA (E124):

È stato ritirato dal commercio negli Stati Uniti per l'uso alimentare. Utilizzato nella tintura della lana, in farmaci, alimenti e cosmetici.

AMARANTO (E123):

È stato il colorante più utilizzato per l'uso alimentare e la cosmesi. È una polvere di colore rosso scuro che vira a rosso vivo quando diluita nei liquidi. Veniva aggiunto ai rossetti così come ai cereali, alle ciliegie conservate ed ai dolci.

ERITROSINA (E127):

È un derivato del catrame minerale e viene utilizzato in molte preparazioni industriali, dal dentifricio alle macedonie in barattolo. Si trova comunemente nei gelati, nei budini, nei succhi di frutta, nelle gelatine e nei canditi.

BLU PATENT (E131):

Utilizzato nella tintura delle stoffe e nell'industria alimentare. È un derivato del catrame minerale e viene utilizzato nelle bevande analcoliche, gelati, ghiaccio, canditi, prodotti da forno, nella preparazione di bevande disidratate, nei cereali e nei budini. Si trova anche in molti

cosmetici ed è sospettato di causare numerose allergie.

INDIGOTINA (CARMINIO DI INDACO E132):

Polvere blu scuro derivata dal catrame minerale. Viene utilizzato nelle bevande analcoliche, prodotti da forno, cereali, canditi, nelle gelatine al sapore di menta, nei dolci surgelati. È stata riconosciuta come agente sensibilizzante nei soggetti allergici.

VERDE S (E142):

Utilizzato in alimenti, farmaci e cosmetici, ad eccezione dei prodotti cosmetici per il contorno degli occhi. Colorante delle gelatine al sapore di menta, nei prodotti di pasticceria, nei canditi, nei dolci surgelati, nei prodotti da forno e nei cereali. È sospettato di indurre sensibilizzazione nei soggetti allergici.

GIALLO ARANCIO S (E110):

Viene esclusivamente utilizzato per rivestire la superficie di wurstel e salsicce.

NERO BRILLANTE (E151):

Usato in alimenti, farmaci, cosmetici e nella tintura delle stoffe. Viene aggiunto a prodotti come la liquirizia.

Agenti chimici

CLORURO DI AMMONIO (510):

Sale di ammonio che si aggiunge agli alimenti e viene utilizzato nel trattamento del cotone, nelle polveri di lavaggio, nella manifattura dei coloranti, come cementante dei tubi di ferro e per rallentare lo scioglimento della neve sulle piste da sci. Si usa nelle terapie di acidificazione sistemica. Un'eccessiva ingestione può causare mal di testa, astenia, acidosi e disturbi mestruali.

BENZENE:

Componente della benzina, può indurre uno stato di ubriachezza, lieve mal di testa, disorientamento, stanchezza e calo dell'appetito. Utilizzato nella produzione di gomme e sostanze plastiche, come il polistirene e il nylon, è presente in molti solventi organici.



CLORO:

L'acqua potabile, la candeggina e i disinfettanti contengono cloro. Provoca dolore e infiammazione delle mucose della bocca, della gola e dello stomaco. Può anche provocare uno stato confusionale, delirio, irritazione dell'apparato respiratorio, edema polmonare, eruzione cutanea e vomito. L'esposizione al cloro è stata associata all'ipertensione, al diabete, alle anemie, alle malattie cardiache, ai tumori delle vie urinarie e dell'apparato gastrointestinale e all'asma.

GLICOLE ETILENICO:

Usato come antigelo, in sistemi di riscaldamento e di raffreddamento, nelle vernici e nei solventi della plastica. Si trova negli inchiostri e negli estintori per oli e benzine. Viene utilizzato nella sintesi di fibre sintetiche, agenti plastificanti e cere.

FLUORO:

Si trova comunemente nei dentifrici e nell'acqua. Ricerche cliniche hanno dimostrato che il fluoro può indurre l'osteoporosi e che l'esposizione per lunghi periodi può provocare l'osteosclerosi.

FORMALDEIDE:

Presente nei detersivi e detergenti domestici, viene usata nei reagenti chimici fotografici, nella produzione di vernici e gomme, nelle appretatrici e nei verificatori tessili, nei pesticidi e vermicidi, negli scarichi dei motori diesel, nella carta igienica, nei tovaglioli di carta, nelle colle, nei disinfettanti e nei conservanti farmaceutici. Si può anche produrre dalla combustione della carbonella e dal fumo di sigaretta. Può determinare sintomi quali l'irritabilità, il disorientamento e la depressione.

SOLFATO DI NICHEL:

Un componente di lega con i metalli preziosi. Si trova nella bigiotteria, nelle montature degli occhiali, nei gioielli d'argento e d'oro bianco, nelle forcine, nelle bretelle, nelle sedie, nei coltelli, nelle forchette, nelle monete e negli strumenti medici. Può essere anche presente negli agenti sbiancanti, nelle tinture per capelli, nei prodotti derivati dal petrolio e nei fertilizzanti chimici. È un elemento in traccia presente in numerosi alimenti.

FENOLO:

Gli estratti degli allergeni sono spesso diluiti nel fenolo. Utilizzato anche per rivestire le lattine e come disinfettante generico per i bagni, i pozzi neri, i pavimenti e gli scarichi; in molti composti medicali e industriali, come anestetico topico e come antiprurito. Può causare eruzioni cutanee, desquamazioni, orticaria, vomito, intorpidimento, sudori freddi, convulsioni e collasso cardiocircolatorio.

RADICE DI IRIS:

Sostanza grassa solida utilizzata principalmente in profumeria e cosmesi.

TOLUENE:

Composto organico volatile presente nelle benzine. Si usa nella produzione di coloranti e altri composti organici. Utilizzato anche come solvente per le vernici, le lacche, la gomma e le resine.

BIBLIOGRAFIA

Ashford, N.A., Miller, C.S. Chemical Exposures. Low Levels and High Stakes. New York, NY: Van Nostrand Reinhold, 1991.

Randolf, T.G., Moss, R.W. An Alternative Approach to Allergies. The New Field of Clinical Ecology Unravels the Environmental Causes of Mental and Physical Ills. Revised Edition, New York, NY: Harper & Row, 1990.

Upton, A.C. The Medical Clinics of North America. Environmental Medicine. Volume 74 - Number 2, Philadelphia, PA: W.B. Saunders Co., March 1990.

Il test Alcat® per il controllo del peso e del rendimento psicofisico

L'obesità è in aumento. Negli Stati Uniti il 34% della popolazione adulta ed il 25% degli adolescenti sono più del 20% al di sopra del loro peso ideale. I medici sono preoccupati da questi sviluppi, come espresso dall'ex Ministro della Sanità, C. Everett Koop, il quale ha dichiarato che negli Stati Uniti l'obesità è la seconda causa di morte, subito dopo il fumo.

Il sovrappeso non dipende esclusivamente da una mancanza di volontà, quanto piuttosto da uno squilibrio biochimico. Ricerche recenti hanno dimostrato che la maggior parte delle persone sovrappeso presenta un'alterazione biochimica che altera il metabolismo degli acidi grassi essenziali e la sensibilità all'insulina, e che questo squilibrio rimane anche quando la persona raggiunge il suo peso ideale. Le alterazioni genetiche a carico di alcune proteine (per esempio la leptina, o il glucagone) e dei loro recettori sono state recentemente associate all'obesità. La ripartizione dei macrocostituenti (proteine, glucidi, lipidi) introdotti con gli alimenti può anche influenzare le secrezioni ormonali e determinare il destino metabolico dei glucidi (utilizzati come fonte energetica o immagazzinati come grassi di deposito).



È stato osservato che durante una restrizione calorica l'organismo si oppone al calo ponderale riducendo il proprio fabbisogno energetico (di solito abbassando il metabolismo basale) per mantenere costante la massa corporea. Perciò la perdita di peso, soprattutto quella ottenuta rapidamente con diete fortemente ipocaloriche, determina prima di tutto perdita di muscolatura striata o di massa magra, comportando paradossalmente la riduzione del tessuto che utilizza più efficacemente le calorie introdotte con gli alimenti. Di conseguenza, quando si ritorna al regime alimentare precedente, si riprende subito il peso perduto o, più verosimilmente, si aumenta ulteriormente di peso incrementando la quota di massa grassa dell'organismo. Questo effetto "yo-yo" aumenta proporzionalmente il rischio d'infarto e di altre patologie cardiovascolari, dell'osteoartrite, del diabete, di alcuni tipi di tumore. Dal punto di vista socio-economico, poi, le donne obese hanno il 20% di probabilità in meno di sposarsi rispetto a quelle più magre, hanno un guadagno annuale medio inferiore di circa 6.710 dollari ed hanno il 10% di probabilità in più di vivere in povertà. L'obesità ha anche un effetto riduttivo sull'autostima.

Dal momento che la sola dieta porta raramente ad una definitiva e duratura perdita di peso e può spesso determinare un peggioramento delle condizioni del soggetto, si provano altri approcci, compreso l'uso di farmaci. Gli anoressizzanti attualmente in commercio hanno minori effetti collaterali rispetto alle anfetamine che venivano comunemente prescritte negli anni '60 e '70; i nuovi farmaci serotoninergici, come la fenfluramina, possono essere efficaci nel breve termine, ma non è stata dimostrata l'efficacia e la sicurezza dell'uso a lungo termine.

INTOLLERANZE ALIMENTARI ED INCREMENTO PONDERALE

4.1

Per anni un ristretto numero di Medici si sono resi conto che comuni alimenti possono provocare reazioni avverse, compresi problemi immunologici e squilibri biochimici, che a loro volta possono comportare un aumento di peso o l'impossibilità di perdere peso. Qualsiasi alimento può causare problemi e, di solito, sono proprio quegli alimenti che si cercano con maggiore insistenza ad essere più spesso coinvolti. Quella che consideriamo una "dieta normale" è il risultato di uno sviluppo culturale relativamente recente che, in molti casi, ha superato i

nostri meccanismi di adattamento biologico. Per esempio, gli appartenenti a certi gruppi razziali che storicamente non sono mai entrati in contatto con il latte a causa della loro posizione geografica o della loro cultura, non hanno sviluppato la predisposizione genetica a digerire le proteine del latte in modo efficiente e possono presentare una reazione avversa in seguito all'ingestione di latte o di suoi derivati. Ciononostante, i prodotti caseari sono enormemente pubblicizzati e sono diventati uno dei principali componenti della moderna dieta negli Stati Uniti.

Inoltre, alcuni "progressi" nella tecnologia alimentare, come i metodi di lavorazione, di conservazione e di aromatizzazione, compreso l'uso di coloranti, pesticidi e fertilizzanti, hanno modificato gli alimenti a tal punto che questi additivi, in aggiunta ai componenti naturali degli alimenti, possono causare un'alterazione del sistema immunitario. Ulteriori complicazioni possono insorgere in seguito al consumo eccessivo di antibiotici e all'aumento del consumo di zuccheri semplici e farine raffinate (molto comuni nella dieta di pazienti affetti da intolleranze alimentari), causando uno squilibrio nella flora batterica del tratto intestinale ed una crescita eccessiva di lieviti (*Candida*). Questa aumentata presenza di lieviti nell'intestino può avere effetti diversi sul suo rivestimento mucoso, contribuendo al verificarsi di una condizione conosciuta come "leaky gut syndrome" che determina l'ingresso di proteine non completamente digerite, che possono innescare delle reazioni immunitarie ed il rilascio dei mediatori chimici dell'infiammazione.

Uno dei risultati di questo processo, per molte persone, è un aumento della permeabilità dei capillari, con aumento dell'acqua nel tessuto connettivo. Questa condizione di edema, o di aumento dell'acqua extracellulare, causa una sensazione di gonfiore ed è direttamente associata all'insorgenza della cosiddetta "cellulite".

4.2 LE BASI NEUROLOGICHE DELL'INCREMENTO PONDERALE

Alcuni ricercatori che si occupano di obesità hanno elaborato un'altra teoria per spiegare gli effetti della biochimica del cervello sulla fame e sull'aumento di peso. È stato dimostrato che dopo aver mangiato un alimento a cui si è intolleranti, si abbassa il livello ematico della sero-

tonina. L'assunzione di carboidrati altamente raffinati e di zuccheri semplici determina un rapido rilascio d'insulina, che di conseguenza causa un innalzamento nel sangue del tasso di triptofano, un precursore della serotonina. Infatti, l'insulina aumenta il trasporto degli aminoacidi ramificati (leucina, isoleucina e valina) nel muscolo e, indirettamente, facilita il trasporto del triptofano nel SNC, dato che questi quattro aminoacidi sono in competizione per lo stesso carrier di membrana a livello della barriera ematoencefalica. Quindi, per controbilanciare i bassi livelli cerebrali di serotonina (causati dall'ingestione di alimenti non tollerati), le persone sensibilizzate sentiranno il desiderio di assumere cibi che aumentino i livelli di serotonina del SNC (per esempio, gli zuccheri semplici e le farine raffinate). Ciò determina l'instaurarsi di un circolo vizioso che, secondo questa teoria, può essere interrotto solamente identificando ed eliminando dalla dieta gli alimenti che hanno innescato questo processo.





4.3 RIASSUNTO

In sintesi, qualsiasi alimento può risultare incompatibile con un organismo, perché:

- Mancano gli enzimi necessari per digerirlo correttamente, in quanto il soggetto non si è potuto adattare alla sua presenza nella dieta;
- L'alimento può contenere sostanze naturali, farmacologicamente attive, che scatenano direttamente le risposte cellulari quando esso viene ingerito;
- La parete intestinale potrebbe essere troppo permeabile (in seguito ad un'allergia, un'infezione virale e/o batterica, o per uno squilibrio della flora intestinale). Tale condizione può determinare l'assorbimento di proteine non completamente digerite che possono indurre una risposta immune di vario tipo. Anche la carenza di IgA secretorie può determinare gli stessi effetti.
- Per un'alterazione nei sistemi di detossificazione di un organismo, uno o più additivi artificiali, o le sostanze naturali farmacologicamente attive presenti in un alimento, possono causare una stimolazione diretta del sistema immunitario e/o un'alterazione metabolica.

Perciò, al fine di ottenere una perdita di peso stabile nel tempo, è importante raggiungere nuovamente l'equilibrio delle funzioni metaboliche di un organismo, promuovendo l'eliminazione degli alimenti incompatibili.

4.4 APPLICAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST ALCAT®

Due lavori recenti hanno dimostrato l'efficacia del test ALCAT® per il controllo del peso. Entrambi i lavori hanno dimostrato che, in generale, i soggetti sottoposti ad una dieta basata sui risultati del test ALCAT® hanno perso peso superfluo e massa grassa, migliorando la composizione corporea rispetto ad un gruppo di controllo. Il gruppo studiato ha anche manifestato una riduzione della fame ed il miglioramento di altri disturbi legati alle intolleranze alimentari.

Dopo aver completato il test, vengono forniti al paziente i risultati grafici ed un piano dietetico personalizzato, facile da seguire, che esclude gli alimenti risultati positivi al test e fa utilizzare a rotazione quelli risultati negativi.

Dopo aver seguito il piano per alcuni giorni (di solito dopo una o due settimane), il paziente dovrebbe notare un miglioramento. Tuttavia, ci sono alcuni meccanismi che riguardano la sensibilizzazione agli alimenti e un fenomeno chiamato "mascheramento" che può determinare sintomi simili a quelli dell'astinenza. L'eliminazione improvvisa di un alimento nocivo può provocare, in alcuni casi, un disagio temporaneo per un periodo di 3 o 4 giorni, più probabile quando si elimina (no) un (degli) alimento(i) che viene (vengono) consumato (i) tutti i giorni e se esiste una compulsione verso (un) determinati (o) alimenti (o). È importante che, in questo periodo, il paziente non riassuma l'alimento, ricordando che il disagio è temporaneo e che, in seguito, il paziente si sentirà molto meglio di quanto non stesse prima di cambiare dieta. Il "mascheramento" si riferisce al fatto che, mangiando una quantità moderata di alimenti "nocivi", si possono determinare dei sintomi cronici ma lievi che mascherano l'effettiva "tossicità" dell'alimento. La compulsione alimentare si innesca per alleviare temporaneamente il disagio associato all'astinenza da quel particolare cibo.

Bisogna anche considerare che i cibi confezionati contengono una combinazione di diversi alimenti. Per esempio, il mais è presente nello sciroppo di mais, nell'amido di mais, nell'olio di semi di mais, nelle patatine di mais, nei pop-corn, eccetera. Inoltre, il latte è presente nel formaggio, nello yogurt, nella panna da cucina, nel burro, negli insaccati, in alcuni prodotti da forno, eccetera. Perciò diventa importante leggere attentamente le etichette di composizione per evitare completamente i cibi a cui si è intolleranti. Talvolta le reazioni insorgono non tanto verso i cibi stessi, quanto verso le sostanze chimiche che vengono aggiunte ad essi. Il test ALCAT® può essere utilizzato per individuare molti degli additivi alimentari comunemente usati e per applicare i risultati nello stesso modo, evitando, cioè, la (e) sostanza (e) nociva (e). Solitamente la procedura è molto semplice. Tuttavia, in casi rari, un paziente può risultare positivo ad un grande numero di alimenti. In questi casi è particolarmente importante rivolgersi ad un nutrizionista per ottenere un bilanciamento ed un'integrazione dei nutrienti che potrebbero essere carenti nella dieta ad eliminazione necessaria. Inoltre, spesso, dopo un periodo di rinuncia all'alimento/i risultato/i positivo/i (di solito da 3 a 6 mesi), un paziente può acquisire una tolleranza verso molti degli alimenti risultati precedentemente positivi e può consumarli nuovamente con moderazione. Per verificarlo, è neces-



sario reintrodurre nella dieta del paziente un alimento per volta, prendendo nota delle possibili reazioni oppure invitando il paziente a ripetere il test.

BIBLIOGRAFIA

National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*, July 20, 1994.

Sears, B.: Enter the Zone. Regan Books, NY. Copyright 1995.:24-32.

Spring, B.J., Lieberman, H.R., Swope, G., and Garfield, G.S.: Effects of Carbohydrates on Mood and Behaviour. *Nutrition Reviews Supplement*. May 1986: p. 52.

Calderon Amigo, J., Moreno Mercer, J., Calderon Gomez, J. and Cabo Soler, J.R.: El test ALCAT de sensibilidad a los alimentos y su interes en Medicina Estetica. *Revista de la Sociedad Espanola de Medicina Estetica*. Numero 40, Marzo 1996:33-41.

Kaats, G., Pullin, D., and Pullin, L.: The Short Term Efficacy of The ALCAT Test® for Food Sensitivities to Facilitate Changes in Body Composition and Self-reported Disease Symptoms: A Randomized Controlled Study. *Health & Medicine Research Foundation, Baylor Sports Medicine Institute (Houston)*. In Publication.

5

Lab reagent description

The laboratory reagents used in the manufacturing of the test kit are repackaged food extracts that have been diluted and encapsulated onto the bottom of each plastic test vial. the food extracts used in the reagent preparation are manufactured to FDA standards by and FDA approved and inspected laboratory.

All work is carried out in a Class 100 filtered clean room where a positive pressure is maintained and the air quality monitored using an air particle counting machine. All workers must be dressed in clean room gowns.

The preparation begins by mixing a measured amount of raw food with extracting solution on a weight to volume basis then placed in a cold room for an extended period of time while being stirred continuously. After stirring, the solution goes thru a series of filtrations ending with a final filtration thru a 0.2µm membrane filter. The bulk extract is then sterility tested for a period of 2 weeks using culture media which, when placed in the incubator, would indicate the presence of bacteria. At the end of the 2 weeks, the bulk extract is transferred to small vials and sterility tested again. The vials are inspected for particles, labeled and stored in cold quarantine until they have passed the sterility tests and animal tests for toxicity.

The vials and stoppers are also thoroughly sterilized by washing in deionized water and steam then rinsed in sterile water for injection. The water is removed by compressed filtered air and then the vials are placed in the an oven at 200°C for 5 hours. The stoppers are sterilized in an autoclave.

The allergens are then measured for potency and standardized based on Protein Nitrogen Units (PNU=µg).

The final product is inspected and certified before use. The finished product is then assayed (by ELISA, protein iso-electric focusing and Radio-immuno diffusion for Feld-e-I and Antigen E) and stored in cold storage until shipped.

All reagents are non-hazardous, non-flammable and non-toxic.



6



Cytotoxic testing for allergic diseases (CPG 7124.27)

BACKGROUND

A number of Federal and state agencies which share responsibility for the regulation or licensure of medical testing laboratories are concerned about allergy clinics, health centers, and testing laboratories performing the cytotoxic test and promoting the test as effective in the detection of allergic diseases, particularly for food and food additives. The Health Care Financing Administration (HCFA) and the Federal Trade Commission (FTC) have asked FDA to assess the validity, accuracy, and effectiveness of "in vitro" cytotoxic testing as a diagnostic tool. FDA is concerned that businesses may begin distributing kits for cytotoxic testing for which efficacy has not been established.

In a letter dated September 28, 1984, the Joint Council of Allergy and Immunology stated the Council's continued concern regarding the marketing of the cytotoxic test for the diagnosis of allergic diseases and formally requested an updated summary of the agency position on cytotoxic testing.

The cytotoxic test as addressed in this guide refers to any "in vitro" test procedure for the diagnosis of allergy or intolerance to food and ingested substances employing procedures similar to those initially reported by Black in 1956 (1/) and further described by Bryan and Bryan. (2/ - 4/)

The procedure is represented as capable of identifying the presence of specific food allergy or food intolerance based on changes in the appearance, size, shape or integrity of leukocytes that are exposed to extracted food antigens or other materials derived from specific foods. The test has been identified by a variety of names, including the leukocytotoxicity test, the leukocytic food allergy test, the cytotoxic leukocyte test, or, in advertisements in the lay press simply as the CYTOTOXIC test. Over the past several years, a number of experts and scientific groups have reviewed the cytotoxic test literature and have concluded that the test is unproven. This literature has now also been reviewed by FDA staff and they have reached the same conclusion (see bibliography).

FDA's review of agency records shows that there is no FDA-regulated product on the market that has been demonstrated to be effective in cytotoxic testing nor has any manufacturer submitted evidence to support the marketing of any new product for the cytotoxic test.

FDA has determined that the cytotoxic test remains, in 1985, as an unproven diagnostic procedure unsupported by the scientific literature or well-controlled studies and clinical trials. While there are several reports of uncontrolled studies in the literature which advocate the use of the cytotoxic test, the consensus of scientific opinion is that the cytotoxic test is unreliable as a diagnostic tool and is not generally recognized by qualified experts as effective.

POLICY

It is the agency position that cytotoxic test kits are devices as that term is defined in section 201(h) of the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act. Cytotoxic test kits promoted or offered for the diagnosis of allergic diseases would be adulterated and misbranded unless approval has been granted by FDA. The sections of the Act that would be violated are:

- 1 section 501(f)(1)(B), in that a premarket approval application under section 515 has not been approved and the device is not exempt from premarket approval under the Investigational Device Exemption (IDE) provisions of section 520(g);
- 2 section 502(a), in that the labeling is false *or* misleading;
- 3 section 502(f)(1), in that the device fails to bear adequate directions for lay use of the product and is not exempt under 21 CFR 801.109 (Rx legend); and
- 4 section 502(o), in that the firm has not registered under section 510, or the firm has failed to file a list of each device in commercial distribution as required by section 510(j), and the device was not the subject of a notice or other information as required under section 510(k).

The agency will consider appropriate regulatory action to enforce the statute, if violative test kits are discovered.

Material between asterisks is new or revised



BIBLIOGRAPHY:

- 1 **Black, A.P.**, "A New Diagnostic Method in Allergic Disease," *Pediatrics*, 17:716-723, 1956.
- 2 **Bryan, W.T.K., and M.P. Bryan**, "The Application of In Vitro Cytotoxic Reactions to Clinical Diagnosis of Food Allergy," *Laryngoscope*, 70:810-824, 1960.
- 3 **Bryan, W.T.K., and M.P. Bryan**, "Cytotoxic Reactions in the Diagnosis of Food Allergy," *Laryngoscope*, 79:1453-1472, 1969.
- 4 **Bryan, W.T.K., and M.P. Bryan**, "Clinical Examples of Resolution of Some Idiopathic and Other Diseases by Careful Allergic Management," *Laryngoscope*, 82:1231-1238, 1972.
- 5 **Chambers, V.V., B.H. Hudson, and J Glaser**, "A Study of the Reactions of Human Polymorphonuclear Leukocytes to Various Allergens," *Journal of Allergy*, 29:93-102, 1958.
- 6 **Lieberman, P., L. Crawford, J. Bjelland, B. Connell, and M. Rice**, "Controlled Study of the Cytotoxic Food Test," *Journal of the American Medical Association*, 231:728-730, 1975.
- 7 **Benson, T.E., and J.A. Arkins**, "Cytotoxic Testing for Food Allergy: Evaluation of Reproducibility and Correlation," *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 58:471-476, 1976.
- 8 **Lehman, C.W.**, "The Leukocytic Food Allergy Test: A Study of its Reliability and Reproducibility. Effect of Diet and Sublingual Food Drops on this test," *Annals of Allergy*, 45:150-158, 1980.
- 9 **Report From the NCHCT**, "Summary of Assessments, 1981," *Journal of the American Medical Association*, 246:1499, 1981.
- 10 **American Academy of Allergy**, "Position Statements--Controversial Techniques," *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 67:333-334, 1981.
- 11 **Greico, M.H.** "Controversial Practices in Allergy," *Journal of the American Medical Association*, 247:3106-3111, 1982.
- 12 **Golbert, T.M.**, "A Review of Controversial Diagnostic and Therapeutic techniques employed in Allergy," *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 56:170-190, 1975.
- 13 **Updegraff, T.R.**, "Food Allergy and Cytotoxic Tests," *Ear, Nose & Throat Journal*, 56:7-16, 1977.
- 14 **Boyles, J.H., Jr.**, "The Validity of Using the Cytotoxic Food Test in Clinical Allergy," *Ear, Nose & Throat, Reprint: 1-6, 1977.*
- 15 **Ulett, G.A., and S.G., Perry**, "Cytotoxic Testing and Leucocyte Increase as an Index to Food Sensitivity," *Annals of Allergy*, 33:17-26, 1974.
- 16 **Ruokonen, J., E. Holopainen, T. Palva**, "Secretary Otitis Media and Allergy," *Allergy*, 36:59-68.
- 17 **Holopainen, E., T. Palva, P. Stenberg, A. Buckman, H. Lehti, and J. Ruokonen**, "Cytotoxic Leucocyte Reaction," *Acta Otolaryngol*, 89:222-226, 1980.
- 18 **Ulett, G.A., and S.G. Perry**, "Cytotoxic Testing and Leucocyte Increase as an Index to Food Sensitivity II. Coffee and Tobacco," *Annals of Allergy*, 34:150-160, 1975.

Issued: 3/19/85

Revised: 9/24/87, 3/95



Questionario frequenza consumo alimenti

Paziente Alimenti	Data					
	Mai	Due volte al mese	Una volta al mese	Due tre volte a settimana	Una volta al giorno	Più volte al giorno
PROTEINE						
Agnello						
Aragosta						
Coniglio						
Gambero						
Maccarello						
Maiale						
Manzo						
Merluzzo						
Mitili, cozze						
Ostrica						
Pollo						
Salmone						
Sogliola						
Tacchino						
Tonno						
Trota						
Uovo						
Vongola						
LEGUMI						
Ceci						
Fagioli Lima						
Fagioli Pinto						
Lenticchie						
Piselli						
Soia						
MISCELLANEA-CONDIMENTI-LATTE						
Arachidi						
Basilico						
Cacao						
Caffè						
Camomilla						
Cannella						
Cola						
Girasole						
Latte di capra						
Latte vaccino						
Lievito chimico						
Lievito di birra						
Liquirizia						
Mandorla						
Nocciola						
Noce						
Noce moscata						
Oliva						
Origano						
Pepe di Cayenna						
Salvia						
Senape						
Tè						
Vaniglia						
Zucchero (barbabetola)						
Zucchero (canna)						



Questionario frequenza consumo alimenti

Paziente Alimenti	Data					
	Mai	Due volte al mese	Una volta al mese	Due tre volte a settimana	Una volta al giorno	Più volte al giorno
AMIDI						
Avena						
Grano, frumento						
Grano saraceno						
Mais, granoturco						
Miglio						
Orzo						
Patata						
Riso						
Segale						
VERDURE ORTAGGI						
Aglio						
Asparagi						
Broccoli						
Carciofi						
Carota						
Cavolfiore						
Cavolo verza						
Cicoria						
Cipolla						
Fagiolini						
Funghi						
Lattuga						
Melanzane						
Peperoncino						
Pomodoro						
Prezzemolo						
Rape						
Sedano						
Spinaci						
Zucchine						
FRUTTA						
Albicocca						
Ananas						
Anguria						
Arancia						
Banana						
Ciliegia						
Cocco						
Fico						
Fragola						
Kiwi						
Limone						
Mela						
Mirtillo						
Pera						
Pesca						
Pompelmo						
Prugna						
Uva						



8

Analisi sintomi

Paziente	Data								
	Sintomo	intensità			Frequenza				
		leggera	moderata	severa	1-2 x anno	1-2 x mese	1-2 x sett.	1 al giorno	+1 al giorno
acne									
afte buccali									
aftosi									
ansia									
artralgie									
artrite									
candidosi ricorrenti									
cefalea									
cistite									
congestione nasale									
depressione									
diarrea									
dolori addominali									
eczema									
emicrania									
enuresi									
epigastralgie									
eruzioni cutanee									
forfora									
herpes labiale									
incontinenza urinaria									
infezioni croniche									
insonnia									
iperattività									
ipert. arteriosa									
meteorismo									
mialgie									
otite									
peso sopra la norma									
prurito cutaneo									
rinite allergica									
secrezioni auricolari									
sindr. premenstruale									
sinusite									
sonnolenza									
stanchezza eccessiva									
stipsi									
tonsillite									

9



Consenso informato

Consenso informato per Alcat Test® - Pregasi compilare chiaramente in stampatello

Sig. /Sig.ra Nome: _____ Cognome: _____

Indirizzo: _____ Tel.: _____

Data di nascita: _____ Peso: _____ Altezza _____ Sesso: M F

Prelievo Data _____ Ora _____

Il REFERTO va inviato a: AL MEDICO DOTT. _____

INDIRIZZO _____

Medicamenti:

Certi medicinali, come antistaminici, anticoagulanti es. Warfarin, steroidi, alte dosi di vitamina C e Prozac possono influire sul test. Per consentirci di effettuare il test si raccomanda di abolire questi farmaci almeno cinque giorni prima del prelievo. In tal caso dovreste consultare il vostro medico prima di abolire o cambiare qualsiasi terapia. Elencate per favore eventuali farmaci nello spazio sottostante

Allergie conosciute:

L'Alcat è un test sensibile agli alimenti ed ai reagenti chimici ma non rileva reazioni allergiche IgE mediate. Se siete in terapia per problemi di questo tipo, dovete continuare ad eliminare l'allergene anche se Alcat Test dovesse dare risposte differenti. Elencate per favore ogni allergia conosciuta nello spazio sottostante:

Motivo per cui viene effettuato il test:

In rari casi potremmo richiedere un ulteriore campione di sangue per completare il test. Questo può avvenire a causa di un campione danneggiato, ad un ritardo del corriere, a difficoltà tecniche, interazione farmacologica ed altre ragioni fuori dal nostro controllo. Noi cercheremo di organizzare l'ulteriore prelievo in un tempo conveniente ad ambo le parti e non addebiteremo nessun costo ulteriore. Non possiamo essere responsabili per i costi che potreste sostenere. Firmando il consenso confermo che il mio campione di sangue non è infetto.

Termini a condizioni:

Tutte le informazioni contenute nei questionari allegati e nel modulo di consenso sono riservate e coperte da segreto professionale. La preghiamo di firmare l'autorizzazione a C.M.C. S.r.l. per l'esecuzione del test Alcat, ricordandole che il test è stato formulato solamente per valutare possibili incompatibilità nei confronti di alimenti e o sostanze chimiche; inoltre il test non è stato formulato per la diagnosi e la terapia di particolari forme morbose che devono sempre prevedere l'intervento di un medico. È consigliabile, una volta ottenuti i risultati del test, rivolgersi al proprio Curante per ottenere un adeguato supporto nutrizionale, indispensabile durante la fase di eliminazione degli alimenti risultati positivi. Se si tratta di persona sotto i 16 anni il consenso deve essere dato da un parente.

Firma _____ Data _____

Per ulteriori informazioni telefonare a: ALCAT Test - I.M.Ge.P. Srl. - 02-58300445



Tabelle test

IMB 50 A	
Apple	Mela
Banana	Banana
Beef	Manzo
Beet Sugar	Zucchero barbab.
Broccoli	Broccolo
Buckwheat	Grano saraceno
Candida A.	Candida A.
Chicken	Pollo
Clam	Vongola
Cocoa	Cacao
Codfish	Merluzzo
Coffee	Caffé
Corn	Mais
Egg white	Bianco d'uovo
Egg yolk	Tuorlo d'uovo
Eggplant	Melanzana
Garlic	Aglio
Gluten	Glutine
Grape	Uva
Kidney bean	Fagiolo
Lemon	Limone
Lentil	Lenticchia
Malt	Malto
Milk cow	Latte vaccino
Olive	Oliva
Onion	Cipolla
Orange	Arancia
Pea green	Piselli
Peach	Pesca
Peanut	Arachide
Pear	Pera
Pork	Maiale
Potato white	Patata
Rabbit	Coniglio
Rice	Riso
Rye	Segale
Salmon	Salmone
Shrimp	Gamberi
Sole	Sogliola
Soybean	Soia
Spinach	Spinaci
Squash	Zucchini
Sugar cane	Canna da zucch.
Sunflower	Girasole
Tomato	Pomodoro
Tuna	Tonno
Turkey	Tacchino
Wheat	Grano
Yeast bakers	Lievito chimico
Yeast Brewers	Lievito di birra

IMB 50 B	
Almond	Mandorla
Apricot	Albicocca
Artichoke	Carciofo
Asparagus	Zucchero
Barley	Banana
Basil	Basilico
Bean string	Fagiolo
Cabbage	Cavolo
Carrot	Carota
Casein	Caseina
Cauliflower	Cavolfiore
Celery	Sedano
Chamomille	Camomilla
Cherry	Ciliegia
Cinnamon	Cannella
Coconut	Cocco
Cranberry	Mirtillo
Fennel	Finocchio
Fig	Fico
Fructose	Fruttosio
Gliadin	Gliadina
Grapefruit	Pompelmo
Hazelnut	Nocciola
Kiwi	Kiwi
Lamb	Agnello
Lettuce	Lattuga
Liquorice	Liquirizia
Lobster	Aragosta
Milk goat	Latte di capra
Mint	Menta
Mushroom	Funghi
Mussel	Cozze (mitili)
Mustard	Senape
Nutmeg	Noce moscata
Oat	Avena
Oregano	Origano
Oyster	Ostrica
Parsley	Prezzemolo
Pepper black	Pepe nero
Pineapple	Ananas
Plaice	Platessa
Plum	Prugna
Sage	Salvia
Strawberry	Fragola
Tea	Te
Trout	Trota
Turnip	Rapa
Vanilla	Vaniglia
Walnut	Noce
Watermelon	Anguria



Tabelle test

IT 30	
Apple	Mela
Apricot	Albicocca
Banana	Banana
Beef	Manzo
Carrot	Carota
Cherry	Ciliegia
Chicken	Pollo
Clam	Vongola
Cocoa	Cacao
Codfish	Merluzzo
Coffe	Caffé
Corn	Mais
Cows milk	Latte vaccino
Egg white	Bianco d'uovo
Flounder	Platessa
Garlic	Aglio
Onion	Cipolla
Orange	Arancia
Peach	Pesca
Peanut	Arachide
Pear	Pera
Plum	Prugna
Pork	Maiale
Rabbit	Coniglio
Rice	Riso
Soybean	Soia
Tomato	Pomodoro
Walnut	Noce
Wheat	Grano
White potato	Patata

IT 5	
bread	pane
yeast brewers	lievito di birra
tomato	pomodoro
cow's milk	latte vaccino
wheat	grano

ATB 10
Amoxicillin
Ampicillin
Cephalosporin c
Gentamicin
Neomycin
Nystatin
Penicillin
Streptomycin
Sulfamethoxazole
Tetracycline

ITAI 11
Acetaminophen
Ansaïd
Aspirin
Clinoril
Ibuprofen
Ketoprofen
Ketorolac
Naproxen
Nimesulide
Piroxicam
Voltaren

Coloranti alimentari
Acid orange (E110)
Amaranth (E123)
Brilliant black (E151)
Crystal ponceau (E124)
Erythrosin B (E127)
Fast green S (E142)
Indigo carmine (E132)
Patent blue (E131)
Quinoline yellow (E104)
Tartrazine (E102)

Additivi alimentari
Aspartame (951)
Benzoic acid (E210)
MSG (E621)
Polysorbate 80 (E433)
Potassium nitrite (E252)
Potassium nitrite (E249)
Saccharine (E954)
Sodium metabisulphite (E223)
Sodium sulphite (E221)
Sorbic acid (E200)

IT 10
Apple
Beef
Codfish
Cow's Milk
Egg white
Pork
Rice
Soybean
Wheat
White potato

CHEM 30
Coloranti alimentari
Acid orange (E110)
Amaranth (E123)
Brilliant black (E151)
Crystal ponceau (E124)
Erythrosin B (E127)
Fast green S (E142)
Indigo carmine (E132)
Patent blue (E131)
Quinoline yellow (E104)
Tartrazine (E102)

Additivi alimentari
Aspartame (951)
Benzoic acid (E210)
MSG (E621)
Polysorbate 80 (E433)
Potassium nitrite (E252)
Potassium nitrite (E249)
Saccharine (E954)
Sodium metabisulphite (E223)
Sodium sulphite (E221)
Sorbic acid (E200)

Environmental chemicals
Ammonium chloride - 510
Benzene
Chlorine - 925
Ethylene glycol
Flouride
Formaldehyde
Nickel sulphate
Orris root
Phenol
Toluene



Sommario

Capitolo 1 -	Il sistema diagnostico Alcat®	pag 3
Capitolo 2 -	Il test Alcat® per le intolleranze alimentari	pag 11
Capitolo 3 -	Il test Alcat® per gli additivi alimentari e gli agenti chimici ambientali	pag 19
Capitolo 4 -	Il test Alcat® per il controllo del peso e del rendimento psicofisico	pag 32
Capitolo 5 -	Lab reagent description	pag 39
Capitolo 6 -	Cytotoxic testing for allergic diseases (CPG 7124.27)	pag 40
Capitolo 7 -	Questionario frequenza consumo alimenti	pag 44
Capitolo 8 -	Analisi sintomi	pag 46
Capitolo 9 -	Consenso informato	pag 47
Capitolo 10 -	Tabelle test	pag 48





Istituto di Medicina Genetica Preventiva Personalizzata
Via Molino delle Armi, 3/5 - 20123 Milano
Tel. 02 58300445 (4 linee) - Fax 02 58300670
www.imgep.com