

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA

Dottorato di ricerca in Fisiopatologia Epato-digestiva

Ciclo 21°

**IL TRATTAMENTO DELLA SIBO (SMALL INTESTINAL
BACTERIAL OVERGROWTH) NELLA SINDROME
DELL'INTESTINO IRRITABILE**

Coordinatore:

Chiar.mo Prof. Francesco Di Mario

Tutor:

Chiar.mo Prof. Francesco Di Mario

Dottorando: Dott.ssa Cecilia Carloni

INDICE	PAGINA
RIASSUNTO DELLA TESI	3
INTRODUZIONE	5
La Sindrome dell'Intestino irritabile (IBS)	
La Sindrome dell'Overgrowth Batterico dell'Intestino Tenue (SIBO)	
Overgrowth Batterico dell'Intestino Tenue: Tecniche Diagnostiche	
SIBO ed IBS	
Terapia della SIBO	
SCOPO DELLA TESI	18
MATERIALI E METODI	19
ANALISI STATISTICA	21
RISULTATI	21
DISCUSSIONE	23
FIGURE E TABELLE	25
BIBLIOGRAFIA	35

RIASSUNTO

Recenti evidenze indicano che fattori irritanti endoluminali, quali la flora microbica intestinale e fattori infettivi-infiammatori, partecipino alla genesi dei disturbi motori e sensoriali intestinali presenti nella sindrome dell'intestino irritabile (IBS).

Da tali studi sembra emergere in particolare un'importante correlazione tra IBS ed una forma particolare di dismicrobismo intestinale ovvero l'overgrowth batterico dell'intestino tenue (SIBO), caratterizzata dalla presenza nell'intestino tenue di un'abnorme proliferazione batterica, superiore a 10^5 microrganismi/ml.

Nella maggioranza dei casi la SIBO si manifesta con una sintomatologia intestinale sovrapponibile a quella dei paziente affetti da sindrome dell'intestino irritabile, in cui prevalgono il disagio ed il dolore addominale, la diarrea ed il meteorismo.

L'approccio terapeutico nei pazienti affetti da IBS sembra pertanto poter giovare dell'impiego di antibiotici non assorbibili, probiotici e/o prebiotici che vengono utilizzati nella terapia della SIBO .

SCOPO. Valutare la prevalenza della SIBO in un gruppo di pazienti affetti da IBS mediante l'impiego del breath test al lattulosio e verificare le modificazioni dei sintomi dell'IBS dopo eradicazione della SIBO mediante terapia antimicrobica.

MATERIALI E METODI. Sono stati inizialmente valutati 296 pazienti seguiti presso i nostri ambulatori per IBS. Di questo gruppo i soggetti che soddisfacevano, sulla base del questionario sintomatologico somministrato, i criteri di Roma II per la diagnosi di IBS venivano arruolati e sottoposti a breath test al lattulosio per verificare la presenza di overgrowth batterico dell'intestino tenue.

I pazienti positivi per SIBO venivano sottoposti a terapia antibiotica con rifaximina per 7 giorni e venivano rivalutati in follow up a distanza di 10 giorni dal termine della terapia per testare la risposta sintomatologica e ripetere il breath test al lattulosio per verificare l'eradicazione della

SIBO.

La sintomatologia al tempo dell'arruolamento e dopo terapia veniva espressa mediante una scala analogico-visiva per i seguenti sintomi: bloating, diarrea, dolore addominale, sollievo dopo l'evacuazione, mucorrea, sensazione di incompleta evacuazione, difficoltà ed urgenza evacuativa. Tutti i pazienti non erano a conoscenza dei risultati dei breath test al lattulosio fino a completamento avvenuto del questionario finale.

RISULTATI. Dei 296 pazienti inizialmente valutati, 198 presentavano sintomi da IBS in accordo con i criteri di Roma II. Di questi 198 pazienti, 138 (70%) presentavano SIBO.

53 pazienti su 138 (38,4%) si ripresentavano per i tests di follow up; 29 su 53 (54,7%) risultavano eradicati dalla SIBO dopo terapia antibiotica. Il confronto fra il gruppo di pazienti eradicati ed il gruppo di pazienti non eradicati mostrava un miglioramento significativo di alcuni sintomi dell'IBS (bloating, dolore addominale e diarrea).

Una riduzione significativa nella produzione di idrogeno nell'espriato è stata evidenziata nel gruppo di pazienti eradicati dalla SIBO rispetto alla produzione di idrogeno pre-trattamento.

CONCLUSIONI. Dalla nostra esperienza emerge una prevalenza elevata di SIBO nei pazienti affetti da IBS. L'eradicazione della SIBO in questi pazienti determina un miglioramento significativo di alcune manifestazioni sintomatologiche della IBS.

INTRODUZIONE

La sindrome dell'intestino irritabile (Irritable Bowel Syndrome - IBS) e la sindrome da overgrowth batterico dell'intestino tenue (Small Intestinal Bacterial Overgrowth - SIBO), pur interessando classicamente due distretti anatomici differenti, sembrano condividere le alterazioni di due importanti elementi che garantiscono l'omeostasi del tratto gastroenterico: l'attività motoria e la flora batterica intestinale.

L'altro elemento unificatore è poi certamente costituito dal quadro clinico, per cui spesso la sintomatologia di queste due patologie, dominate prevalentemente dal disagio addominale o dal dolore, diarrea e meteorismo, è quasi del tutto sovrapponibile. Infine recenti studi sembrano dimostrare che il trattamento e la decontaminazione del piccolo intestino, ottenuta mediante antibiotico-terapia, siano in grado di determinare un significativo miglioramento dei sintomi dell'IBS, suggerendo quindi come un corretto approccio diagnostico-terapeutico sia fondamentale nella gestione dei pazienti con disturbi gastrointestinali inquadrabili come IBS.

Diversi studi hanno inoltre evidenziato una prevalenza della SIBO dal 30 all'84% dei pazienti affetti da IBS.

LA SINDROME DELL'INTESTINO IRRITABILE (IBS)

L'IBS rientra nel contesto di un vasto gruppo di disordini funzionali gastrointestinali che possono interessare i vari tratti del canale alimentare e che comprendono la disfagia e la dispepsia funzionale per esofago e stomaco, la stipsi e la diarrea funzionale per l'intestino, l'incontinenza ed il dolore anorettale funzionale per la regione dell'ano-retto (1,2).

Partendo da questo approccio sintomatologico, una serie di gruppi internazionali di esperti ha

elaborato una classificazione dei disturbi funzionali gastrointestinali (criteri di Roma) e, nell'ambito di questa classificazione, la IBS viene definito come "un disordine funzionale intestinale nel quale il dolore addominale è in relazione alla defecazione o con un cambiamento dell'alvo, con segni di alterata defecazione" (Tabella I). Tali sintomi devono essere presenti per almeno 12 settimane all'anno, non necessariamente consecutive, e non devono essere sostenuti da anomalie strutturali o metaboliche (3).

Studi epidemiologici indicano che i sintomi compatibili con il quadro clinico della IBS sono presenti dal 15 al 25% della popolazione dei Paesi Industrializzati, con un picco di incidenza tra i 15 ed i 34 anni di età e con una frequenza circa doppia nel sesso femminile rispetto al sesso maschile (4). Per la sua elevata prevalenza la IBS presenta un rilevante impatto socio-economico per numero di indagini non necessarie, trattamenti inappropriati e conseguenti danni iatrogeni.

Si calcola infatti che negli USA l'IBS compaia al settimo posto tra le diagnosi effettuate dai Medici di Medicina Generale ed implichi un costo diretto per paziente di circa 300 dollari all'anno (5,6).

Benché l' IBS non sia una patologia limitante in termine di aspettativa di vita, certamente è in grado di compromettere seriamente la qualità della vita. Uno studio del 1997 ha dimostrato infatti che la qualità della vita dei pazienti affetti da IBS è del tutto sovrapponibile a quella dei soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali e addirittura a quella dei pazienti affetti da scompenso cardiaco congestizio.

Da un punto di vista fisiopatologico si ritiene che nella genesi dei sintomi dell'IBS siano coinvolti 3 meccanismi principali: i fattori psicologici; le alterazioni dell'attività motoria intestinale; i disturbi della percezione viscerale (7).

Studi su popolazioni di gemelli con una concordanza di IBS superiore nei monozigoti (17,2%) rispetto agli eterozigoti (8,4%) dimostrano sia un indubbio ruolo di fattori ereditari che una bassa

penetranza di questi stessi ed il rilevante ruolo di fattori ambientali.

Molti pazienti con IBS avvertono dolore con volumi di distensione endoluminale retto-colica inferiori a quelli necessari nella popolazione sana di controllo. Questa osservazione viene interpretata come evidenza di un'alterata ed esaltata percezione di normali eventi fisiologici che avvengono nell'intestino in risposta, per esempio, all'ingestione di cibo, alla defecazione o alla presenza di normali quantità di gas intestinali.

Questa condizione di iperalgesia viscerale è dovuta ad una o più alterazioni riscontrabili a diversi livelli del sistema nervoso afferente viscerale:

- a livello della parete intestinale, aumentata stimolazione delle fibre nervose terminali e attivazione delle fibre C afferenti, normalmente silenti, da parte della risposta immunitaria indotta da agenti endoluminali;
- a livello del SNC, esaltata attività dei neuroni sensitivi delle corna posteriori del midollo spinale e a livello dell'encefalo.

In effetti è stato dimostrato alla tomografia cerebrale ad emissione di positroni (PET) che nei pazienti con IBS si evidenzia un'iperattivazione del centro associato ad un'aumentata vigilanza ed ansia, situato nella corteccia prefrontale, e un'incapacità di attivare un centro collegato con il sistema endogeno di inibizione del dolore posto a livello della regione anteriore del cingolo.

Una serie di studi condotti su animali e sull'uomo indicano nell'esaltata risposta neuroendocrina allo stress un meccanismo patogenetico rilevante nella IBS.

Il sistema dei circuiti nervosi deputati alle emozioni (paura, allegria, ansia..) , che include centri della corteccia prefrontale laterale e mediale, amigdala, ipotalamo, area grigia periacqueduttale, attivata dallo stress psicosociale a sua volta stimolerebbe il sistema neuroendocrino tramite l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, il sistema nervoso autonomo, tramite i nuclei pontini, e interagirebbe con i centri nervosi deputati al controllo della sensibilità viscerale.

Recenti studi stanno ponendo sempre più l'attenzione sul ruolo che fattori irritanti endoluminali, come la flora batterica intestinale, e fattori infettivo-infiammatori possono svolgere nella patogenesi dei disturbi motori e sensoriali intestinali associati all'IBS (8).

E' noto infatti da studi prospettici come un singolo episodio di gastroenterite acuta, sostenuto da germi quali *Campylobacter* o *Salmonella*, rappresenti un importante fattore di rischio per il successivo sviluppo di IBS, soprattutto se l'evento infettivo acuto ha avuto una durata superiore alle due settimane ed ha interessato il sesso femminile (9).

Il processo infiammatorio intestinale potrebbe inoltre essere sostenuto da alterazioni quali-quantitative della normale flora batterica intestinale. Alcuni studi di microbiologia hanno infatti da tempo dimostrato come nei pazienti affetti da IBS sia possibile evidenziare, rispetto ai controlli sani, una ridotta concentrazione fecale di coliformi, lattobacilli e bifidobatteri ed un'aumentata invasione batterica da parte di *Escherichia coli*, enterobatteri, anaerobi e batteroidi (10,11).

L'attivazione secondaria del sistema immunitario a sua volta può attivare direttamente le fibre nervose intramurali ed influenzare, tramite la liberazione di citochine e chemochine (IL1; IL6; TNF α), la rete neuronale a livello del SNC.

Questo modello complesso della fisiopatologia della IBS, dove concorrono stimoli ambientali psicosociali e stimoli endoluminali, giustifica l'osservazione che la IBS possa esordire dopo enterite acuta infettiva più frequentemente nei pazienti con alterazioni psicologiche.

LA SINDROME DELL'OVERGROWTH BATTERICO DELL'INTESTINO TENUE (SIBO)

La sindrome dell'overgrowth batterico dell'intestino tenue (SIBO) è una forma particolare di alterazione quali-quantitativa della flora batterica intestinale, caratterizzata da un'eccessiva proliferazione di germi, specie anaerobi, nel lume del piccolo intestino ($>10^5$ CFU/mL di aspirato

digiunale) (12).

Sebbene la maggiore concentrazione di batteri sia localizzata a livello colico, anche il tratto superiore del canale digerente ospita un'importante flora microbica (prevalentemente enterococchi e lattobacilli) che però non supera generalmente la concentrazione di $10^3 - 10^4$ CFU/mL di succo digiunale (Fig.1) e probabilmente è rappresentata da contaminanti ingeriti in transito verso il colon (13).

Numerosi sono i meccanismi che, soprattutto a livello del piccolo intestino, consentono di limitare la sovracrescita delle popolazioni batteriche intestinali.

Tra questi sono compresi fattori anatomici e funzionali (l'acidità gastrica, la continenza della valvola ileo-ciecale, il le secrezioni biliari e pancreatiche potere antibatterico delle secrezioni biliari e pancreatiche), fattori meccanici (l'attività peristaltica intestinale) e fattori che inibiscono l'adesione dei batteri all'epitelio (produzione di IgA secretorie, integrità dello strato di muco, desquamazione epiteliale).

Risulta pertanto chiaro che tutte le condizioni anatomiche e/o funzionali che, in diversa misura, sono capaci di compromettere questi delicati meccanismi di protezione possono determinare una crescita abnorme di batteri nei segmenti intestinali prossimali.

Tra i più frequenti ed importanti fattori patogenetici vi sono sicuramente i difetti della motilità intestinale, i difetti anatomici, l'ipo/acloridria gastrica ed altre condizioni come i deficit immunitari, l'età avanzata e la malnutrizione (Tabella II).

Per quanto riguarda la clinica, la SIBO rientra nel più vasto ambito delle sindromi da malassorbimento e si può pertanto manifestare con diarrea, steatorrea, perdita di peso, anemia macrocitica e deficit nutrizionali multipli (14).

La presenza di una elevata carica batterica nel piccolo intestino determina una precoce ed abnorme deconiugazione degli acidi biliari con ridotta micellazione, maggiore riassorbimento a livello

digiunale e malassorbimento dei lipidi secondario.

Inoltre i batteri contaminanti esercitano un danno diretto sugli enterociti correlato all'adesività batterica alla superficie epiteliale ed all'azione tossica diretta dei metabolici batterici e svolgono un meccanismo di competizione con gli enterociti per il legame con il complesso vitamina B12-fattore intrinseco, limitando l'assorbimento della vitamina a livello ileale.

Malgrado alcune specie batteriche siano in grado di sintetizzare autonomamente tale vitamina, il risultato finale è comunque rappresentato da una ridotta biodisponibilità della vitamina B12 per l'individuo ospite che può presentare manifestazioni cliniche da carenza pur in presenza di elevati livelli intraluminali.

Nella maggioranza dei casi tuttavia la SIBO si presenta con una sintomatologia intestinale meno specifica, in cui prevalgono la diarrea acquosa (senza evidenza di steatorrea), dolore e distensione addominale con flatulenza, sintomatologia che lascia aperte numerose possibilità diagnostiche tra cui l'IBS.

In quest'ultimo spettro di manifestazioni l'aspetto fisiopatologico più rilevante è il malassorbimento di glucidi; la presenza dei batteri determina infatti una accentuata fermentazione luminale di tali molecole, con iperproduzione di acqua, acidi grassi a catena corta e gas (tra cui anidride carbonica, idrogeno e metano).

OVERGROWTH BATTERICO DELL'INTESTINO TENUE: TECNICHE DIAGNOSTICHE

A tutt'oggi esistono diversi metodi per determinare la presenza della SIBO quali:

- colture batteriche di aspirato digiunale;
- breath test attraverso l'impiego di composti radiomarcati e non.

L'analisi batteriologica dell'aspirato digiunale, con coltura allestita sia in condizioni aerobiche che anaerobiche, è sicuramente da considerarsi il gold standard per la diagnosi di SIBO. Una conta batterica superiore a 10^5 CFU/mL di aspirato digiunale è diagnostica per SIBO.

Si tratta tuttavia di una metodica invasiva che richiede l'intubazione duodeno-digiunale endoscopica o radiologica e l'aspirazione del succo a livello duodeno-digiunale con indubbe difficoltà tecniche e possibili errori di campionamento, necessità di personale esperto e possibilità di valutare solo la contaminazione dei tratti prossimali all'ileo (15).

Per superare i limiti di questa metodica invasiva, hanno trovato sempre più spazio nella diagnosi di SIBO i cosiddetti H₂ breath test, così denominati in quanto identificano e misurano i livelli di idrogeno di diretta derivazione batterica intestinale dopo la somministrazione di substrati glucidici quali il lattulosio ed il glucosio (16).

Il lattulosio è un disaccaride sintetico, sostanzialmente non assorbibile, costituito da galattosio e fruttosio. In condizioni di normalità il lattulosio non essendo idrolizzato nell'intestino tenue per mancanza di un enzima specifico, raggiunge immodificato il colon dove viene degradato dai batteri saccarolitici (*Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus bifidus*) di cui favorisce lo sviluppo a detrimento della flora proteolitica. Dalla scissione del lattulosio originano acidi organici a basso peso molecolare e gas.

L'H₂ breath test al lattulosio viene effettuata utilizzando un gascromatografo il cui funzionamento è basato sulla determinazione non invasiva della percentuale di H₂ nell'esperto.

Il test è eseguito somministrando 10 gr di lattulosio e facendo espirare il paziente ogni 15 minuti

Il riscontro di un incremento precoce di H₂ dopo ingestione di lattulosio è utilizzato come evidenza di contaminazione batterica del piccolo intestino. Il test viene considerato positivo quando si osserva un disegno bifasico nei livelli di H₂ emessi; due picchi con un primo incremento di almeno 12 ppm (valori di H₂ in parti per milione) rispetto al basale, seguito da un secondo

incremento più grande dopo circa 60 minuti (Fig.2,3) (17).

Diversi autori hanno dimostrato come il breath test al lattulosio presenti una sensibilità compresa tra il 17 e l'89%, con una specificità media pari all'84%.

Le cause di falsi negativi sono essenzialmente:

- assenza di batteri che producono H₂
- aumenti della produzione di H₂ non diagnostici
- assenza di delineazione netta tra il picco intestinale precoce ed il picco colico tardivo.

Il glucosio è un monosaccaride che viene completamente assorbito a livello del piccolo intestino e può seguire vie metaboliche diverse, funzionali sia alla produzione di energia (ATP, NADPH) sia alla biosintesi di nuovi composti essenziali (quali i pentosi e vari intermedi); inoltre, in caso di eccesso di glucosio, l'organismo è in grado di accumulare questo zucchero sotto forma di glicogeno o di trasformarlo in trigliceridi.

In caso di presenza di batteri nell' intestino tenue, il glucosio sarà fermentato con produzione di idrogeno; la misurazione dell'escrezione di H₂ nell'espriato mediante gascromatografo può fornire in maniera indiretta un segno di SIBO (Fig. 4,5) (18).

Diversi autori hanno dimostrato come il breath test al glucosio abbia una sensibilità compresa tra il 58 ed il 93% con una specificità media dell'82%.

Le cause di falsi negativi sono:

- assenza di microflora intestinale di batteri che producono H₂
- rapido assorbimento di glucosio nella parte prossimale dell'intestino tenue.

SIBO ed IBS

La correlazione tra IBS e SIBO è uno degli elementi più interessanti che stanno emergendo in letteratura. In particolare si sta delineando, da una parte, una possibile correlazione patogenetica tra SIBO ed IBS e dall'altra un possibile ruolo della SIBO nel determinare il quadro sintomatologico caratteristico dell'IBS. E' noto che il 92% circa dei pazienti affetti da IBS presenta una sintomatologia caratterizzata prevalentemente da bloating e dolore e l'89% presenta uno score di almeno 5 su un massimo di 10. Nonostante la maggior parte dei pazienti lamenti l'insorgenza di tali sintomi dopo l'assunzione di cibo, tuttavia è spesso impossibile identificare un trigger alimentare specifico. Studi condotti utilizzando la pletismografia, la TC addome o la semplice radiografia hanno dimostrato come il sintomo del bloating risulti effettivamente associato ad un incremento del gas contenuto nel lume intestinale e come tale aumento sia localizzato al piccolo più che al grosso intestino. Sebbene in alcuni studi non sia stata rilevata una differenza statisticamente significativa tra il contenuto di gas intestinale nei pazienti affetti da IBS rispetto ai controlli sani c'è da sottolineare come in questi studi la misurazione del gas intestinale sia stata condotta sempre in condizioni di digiuno (19). Al contrario uno studio di King pubblicato nel 1998 ha dimostrato un'aumentata produzione ed escrezione di idrogeno nei pazienti affetti da IBS rispetto ai controlli sani dopo assunzione di un substrato fermentabile e non assorbibile come il lattulosio (20). In condizioni fisiologiche, la produzione di idrogeno e più in generale di gas ad opera dei batteri, avviene nel tratto intestinale distale, dal momento che il piccolo intestino ospita, come già detto, una flora batterica che non supera i 10^5 microrganismi per mL. Tuttavia nei pazienti affetti da SIBO la fermentazione dei substrati si realizza già a livello del piccolo intestino, determinando l'insorgenza di una sintomatologia intestinale del tutto sovrapponibile a quella dei pazienti con IBS. A tal proposito uno studio condotto da Pimentel et al. la SIBO, diagnosticata tramite breath test al lattulosio viene dimostrata in 157 dei 202 (78%) pazienti con IBS indagati e ben il 48% dei

pazienti entrati in follow up e trattati con terapia antibiotica mostra un miglioramento significativo dei sintomi legati all'IBS (21). Uno studio successivo randomizzato-controllato in doppio cieco, condotto dal medesimo gruppo, conferma tali risultati in quanto la prevalenza di SIBO con breath test al lattulosio risulta dell'84% nei pazienti affetti da IBS secondo i criteri di Roma II rispetto al 20% della popolazione di controllo sana ($p < 0,001$). La completa remissione dei sintomi si realizza solo nell'11% dei pazienti affetti da SIBO e trattati con placebo, nel 36,7% dei pazienti trattati con antibiotici nei quali non si otteneva l'eradicazione dell'overgrowth e nel 75% dei pazienti trattati con successo ($p < 0,001$) (22).

I risultati di tale studio sono stati tuttavia criticati a causa della bassa accuratezza del breath test al lattulosio utilizzato nella diagnosi di SIBO.

A questo proposito Lupascu et al. ha recentemente utilizzato il breath test al glucosio allo stesso scopo, confrontando un gruppo di pazienti che rispondevano ai criteri di Roma II per l'IBS ed un gruppo di controlli sani e riscontrando una positività al test nel 30,7% dei pazienti affetti da IBS rispetto al 3,9% dei controlli ($p < 0,05$) (23).

La correlazione tra SIBO ed IBS sembra trovare la sua spiegazione fisiopatologica nelle alterazioni della motilità del piccolo intestino e nell'attivazione dell'infiammazione a carico della parete intestinale. Per quanto riguarda il primo punto, è noto che la motilità del periodo interdigestivo è caratterizzata, a livello dell'intestino tenue, da pattern ciclici di attività motoria noti come Complessi Motori Migranti (MMC). In particolare la fase III dei MMC si caratterizza per un'intensa attività con onde contrattili che si propagano dal piloro alla valvola ileo-ciecale e che determinano il periodico spezzettamento del contenuto luminale dell'intestino tenue.

Numerosi studi condotti sugli animali e sull'uomo hanno chiaramente dimostrato come alterazioni motorie quali la perdita dei MMC, in particolare della fase interdigestiva III a livello di antro-digiuno, e la riduzione del numero di contrazioni propagate lungo il tenue siano associate ad

alterazioni qualitative e soprattutto quantitative della flora batterica intestinale, in particolare a sovracrescita batterica nel lume dell'intestino tenue, modificazione qualitativa dell'ecoflora intestinale (riduzione di lattobacilli e bifidobatteri ed aumento di Escherichia coli, coliformi, enterobatteri e bacteroidi) ed aumentata traslocazione batterica attraverso la mucosa intestinale fino alle stazioni linfonodali periviscerali (24).

Anche nei pazienti affetti da IBS sono state dimostrate alterazioni significative della motilità intestinale; in particolare i tempi di transito dell'intestino tenue sono risultati essere ridotti nei pazienti con IBS ad alvo diarroico mentre risultano aumentati nei pazienti ad alvo stitico (25,26).

Ma il dato più interessante è emerso da un recente studio condotto da Pimentel et al., in cui si rilevano un numero ed una durata di onde di fase III significativamente inferiori in pazienti affetti da IBS rispetto ai controlli sani, con una parziale normalizzazione della motilità intestinale dopo terapia decontaminante, sottolineando quindi la stretta relazione fra flora batterica e motilità intestinale (27). L'overgrowth batterico del tenue, inoltre, determinando un aumento del numero di linfociti intraepiteliali, nonché un'aumentata traslocazione batterica attraverso la parete intestinale, potrebbe essere responsabile dell'attivazione dell'infiammazione di parete che studi recenti hanno dimostrato avere un ruolo chiave nell'IBS. Una vasta proporzione di pazienti con IBS presenta infatti un numero di cellule infiammatorie mucosali significativamente superiori rispetto ai soggetti sani di controllo, in particolare di mastociti. Tali cellule, com'è noto, sono in grado di liberare sulla base di stimoli differenti, tra cui il lipopolisaccaride dei batteri Gram negativi, sia mediatori preformati (istamina, serotonina e triptasi) sia mediatori di nuova sintesi quali leucotrieni, citochine e prostaglandine. Tali mediatori, a loro volta, sono capaci di sensibilizzare e attivare le fibre nervose viscerali afferenti ed i nocicettori silenti attraverso la stimolazione di specifici recettori presenti su queste fibre, determinando uno stato di ipersensibilità viscerale, che nei pazienti affetti da IBS svolge un ruolo chiave per determinare la soglia di insorgenza dei sintomi (28,29).

L'interazione tra motilità intestinale e flora batterica che, come abbiamo detto, ha un ruolo chiave nella SIBO, è quindi estremamente complessa e di tipo bidirezionale e l'alterazione di questo delicato equilibrio può determinare l'attivazione di circoli viziosi, comprendenti l'infiammazione di parete e l'ipersensibilità viscerale che concorrono nel determinare il quadro eziopatogenetico e clinico di una sindrome così complessa e variegata quale l'IBS.

TERAPIA DELLA SIBO

Il trattamento della SIBO è finalizzato all'eliminazione delle cause sottostanti l'abnorme proliferazione batterica. In tal senso si dovranno trattare, quando possibile, le anomalie funzionali e anatomiche del piccolo intestino. A tale approccio dovranno associarsi un trattamento antimicrobico associato con una dieta elementare e con un supporto nutrizionale in caso di calo ponderale e segni di disvitaminosi.

Il problema della terapia antimicrobica è complesso; nonostante i progressi di conoscenza infatti non disponiamo di un trattamento ottimale e vi sono numerose incertezze sia riguardo alla scelta dell'antibiotico sia alla durata del trattamento.

La flora batterica presente nei soggetti affetti da SIBO è quanto mai varia e quindi sensibile ad antibiotici diversi (30). In particolar modo si dovranno trattare sia aerobi che microaerofili ed anaerobi, sia Gram-positivi che Gram-negativi (31).

Gli antimicrobici dovranno pertanto essere a largo spettro.

Per numerosi anni sono state impiegate le tetracicline come farmaco di scelta, grazie alla loro capacità di incrementare la disponibilità di ossigeno creando un ambiente poco favorevole alla proliferazione degli anaerobi (32-34).

Gli studi presenti in letteratura sembrano dimostrare una buona efficacia degli antibiotici sistemici

quali norfloxacin e l'associazione amoxicillina-acido clavulanico, dotati entrambi di buona tollerabilità, e metronidazolo molto attivo sugli anaerobi.

Rispetto ai farmaci sistemici, gli antibiotici scarsamente assorbibili che hanno come bersaglio il tratto gastroenterico sono poche e quasi tutti aminoglicosidi. Paromomicina e neomicina sono perciò i farmaci più usati (35). Tuttavia questi farmaci non sono del tutto privi di effetti indesiderati; sono state riportate ototossicità e nefrotossicità dopo somministrazione orale di neomicina in particolare nei pazienti con insufficienza renale.

Un farmaco promettente per il trattamento della SIBO sembra essere rifaximina, antibiotico derivato dalla rifamicina, dotato di un ampio spettro d'azione con attività inibitoria contro i batteri Gram-positivi e Gram-negativi, aerobici ed anaerobici, compreso *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus* e *Clostridium difficile* oxacillino resistente ed *Enterobacteriaceae* (36-39).

A tale proposito i risultati preliminari di un trial non controllato che evidenziava un effetto positivo di rifaximina nei pazienti affetti da SIBO sono stati poi confermati da un più recente trial comparativo, controllato e randomizzato, condotto da Di Stefano et al., in cui rifaximina è stato posto a confronto con una tetraciclina ed ha dimostrato maggiore efficacia sia nel correggere la SIBO (breath test al glucosio normalizzato nel 70 % dei pazienti trattati con rifaximina vs 27% dei pazienti trattati con clortetraciclina) sia nel migliorare in modo significativo la sintomatologia intestinale (40).

Ulteriori recenti studi hanno poi evidenziato come rifaximina abbia un'efficacia paragonabile ad antibiotici sistemici quali levofloxacin e metronidazolo nell'indurre decontaminazione, essendo inoltre gravata da una minore incidenza di effetti collaterali.

Un recente studio condotto da Lauritano et al. prospettico, randomizzato ha posto a confronto tre dosaggi differenti di rifaximina mostrando maggiore efficacia nell'ottenere eradicazione della SIBO con il dosaggio di 1200 mg/die per almeno una settimana (41).

Il problema terapeutico della SIBO resta pertanto di difficile soluzione nonostante rifaximina sembri acquisire un ruolo sempre più importante. Ulteriori studi sono tuttavia necessari per identificare linee guida chiare sulla scelta dell'antibiotico e sulla durata del trattamento.

SCOPO DELLA TESI

Recenti evidenze indicano che fattori irritanti endoluminali, quali la flora microbica intestinale e fattori infettivi-infiammatori, partecipino alla genesi dei disturbi motori e sensoriali intestinali presenti nell'IBS.

Da tali studi sembra emergere in particolare un'importante correlazione tra IBS ed una forma particolare di dismicrobismo intestinale ovvero l'overgrowth batterico dell'intestino tenue, caratterizzata dalla presenza nell'intestino tenue di un'abnorme proliferazione batterica, superiore a 10^5 microrganismi/ml.

Nelle forme più severe la sindrome dell'overgrowth batterico intestinale si può manifestare con una classica sindrome da malassorbimento, caratterizzata da diarrea e steatorrea, calo ponderale e deficit nutrizionali multipli.

Tuttavia nella maggioranza dei casi si manifesta con una sintomatologia intestinale meno specifica, tipica dei paziente affetti da sindrome dell'intestino irritabile, in cui prevalgono il discomfort addominale, la diarrea ed il meteorismo.

L'approccio terapeutico nei pazienti affetti da IBS con overgrowth batterico dell'intestino tenue sembra pertanto poter giovare dell'impiego di antibiotici non assorbibili, probiotici e/o prebiotici.

Scopo di questo studio è quello di verificare la prevalenza della SIBO nei pazienti da noi seguiti affetti da IBS mediante l'utilizzo di una metodica non invasiva quale il breath test al lattulosio e di testare la risposta sintomatologica di questi pazienti dopo terapia di eradicazione.

MATERIALI E METODI

Questo studio è stato condotto presso gli ambulatori specialistici della Unità Operativa Semplice di Endoscopia Digestiva dell'Ospedale di Vaio di Fidenza.

Sono stati inizialmente valutati 296 pazienti afferiti agli ambulatori specialistici per una sospetta sindrome dell'intestino irritabile (IBS).

A tutti i pazienti è stato sottoposto un questionario per valutare la presenza di una sintomatologia correlabile ad IBS in accordo con i criteri di Roma II. I sintomi valutati comprendevano: meteorismo, diarrea, dolore addominale, sollievo dopo defecazione, mucorrea, sensazione di incompleta evacuazione, difficoltà ed urgenza evacuativa. In particolare ai pazienti veniva chiesto di assegnare ad ogni sintomo un punteggio da 0 a 5 (0= assenza del sintomo; 5=massima espressione del sintomo).

Le informazioni tratte dai questionari completati sono state inserite in un database e sono stati pertanto identificati e selezionati i pazienti che rispondevano ai criteri di Roma II per l'IBS.

Criteri di esclusione sono stati considerati: età < 18 anni; pazienti con anamnesi positiva per malattie infiammatorie croniche intestinali o per pregressi interventi di chirurgia addominale; pazienti con ipersensibilità ad antibiotici appartenenti alla categoria delle rifamicine; gravidanza e allattamento; pazienti con evidenza di severe patologie concomitanti (insufficienza epatica/renale, patologia neoplastica).

I pazienti eligibili sono stati sottoposti a breath test al lattulosio in condizioni standard.

Nei 30 giorni antecedenti i pazienti non avevano assunto antibiotici o lassativi.

Per ridurre al minimo l'escrezione basale a digiuno di H₂, i pazienti avevano seguito una dieta a basso contenuto di carboidrati nelle 24 ore antecedenti il test e rispettato il digiuno nelle 12 ore antecedenti il test. Nelle 24 ore antecedenti il test veniva evitato il fumo di sigaretta e l'attività fisica

in quanto entrambi correlati con un' aumentata escrezione di H₂.

Dopo avere effettuato una detersione del cavo orale e raccolto un campione di aria espirata in condizioni basali, venivano fatti assumere 10 g di sciroppo di lattulosio e successivamente venivano raccolti campioni di aria ogni 15 minuti per 2 ore. Tutti i campioni di aria espirata venivano analizzati da un gas cromatografo (Quintron Instrument Company). La concentrazione di idrogeno nel respiro è stata misurata in parti per milione.

Le misurazioni venivano trasferite graficamente ed analizzate. La diagnosi di SIBO veniva confermata sulla base dei seguenti criteri:

- due distinti picchi rappresentanti la flora del piccolo intestino (picco precoce) e quella colica (picco tardivo)
- produzione di H₂<90 min. dopo l'assunzione di lattulosio
- un incremento assoluto nella concentrazione di H₂ di >20 ppm.

L'eradicazione della SIBO veniva confermata dalla scomparsa dei criteri sopra elencati dopo trattamento di eradicazione.

I pazienti affetti da SIBO venivano sottoposti a terapia antibiotica eradicante con rifaximina al dosaggio di 1200 mg/die per 7 giorni. I pazienti che afferivano nuovamente al centro per controllo a 10 giorni dal termine della terapia venivano sottoposti ad un secondo breath test al lattulosio per verificare l'avvenuta eradicazione della SIBO; veniva inoltre somministrato loro un secondo questionario per valutare le modificazioni sintomatologiche mediante score.

I pazienti non venivano messi a conoscenza del risultato del breath test al lattulosio fino al termine della compilazione del questionario.

ANALISI STATISTICA

Il picco massimale tardivo di idrogeno è stato confrontato prima e dopo il trattamento antibiotico utilizzando il test t.

I pazienti trattati sono stati suddivisi in due gruppi, il gruppo dei pazienti non eradicati ed il gruppo di pazienti eradicati dalla SIBO. Le concentrazioni medie di idrogeno nell'espriato, valutate ad ogni intervallo di 15 minuti, sono state rappresentate graficamente in rapporto al tempo nei tre gruppi (gruppo totale di pazienti prima della terapia eradicante, gruppo di pazienti sottoposti a terapia eradicante senza successo e gruppo di pazienti sottoposti a terapia eradicante con successo) ed è stata calcolata l'area sotto la curva.

Le tre aree sono state confrontate tramite analisi della varianza.

Il confronto dello score sintomatologico prima e dopo trattamento nei pazienti affetti da IBS sottoposti a terapia di eradicazione della SIBO con e senza successo è stato effettuato mediante test di Wilcoxon con la correzione di Bonferroni per confronti multipli.

Per ogni variabile esaminata il valore della p risultava significativo se inferiore o uguale a 0.05.

RISULTATI

Sono stati inizialmente valutati 296 pazienti con sospetta diagnosi di IBS.

Di questo gruppo, 198 soggetti soddisfacevano, sulla base del questionario somministrato, i criteri di Roma II per la diagnosi di IBS.

98 pazienti furono esclusi, di cui 80 non rientravano nei suddetti criteri di Roma II, 3 presentavano rapido transito intestinale e 15 erano stati sottoposti ad interventi di chirurgia addominale.

Dei 198 pazienti arruolati e sottoposti a breath test al lattulosio, 138 (70%) presentavano risultati compatibili con SIBO.

Le caratteristiche della popolazione in studio, considerata globalmente e dopo suddivisione nei due gruppi di pazienti SIBO positivi e SIBO negativi, non presentavano differenze demografiche significative (Tab III).

Dei 138 pazienti sottoposti a terapia eradicante, 53 (38,4%) si ripresentavano per follow up sintomatologico e rivalutazione del breath test al lattulosio per verificare l'avvenuta eradicazione della SIBO. Di questi 53 pazienti, 29 (54,7%) risultavano eradicati dopo terapia antimicrobica con normalizzazione del breath test al lattulosio e 24 (45,3%) risultavano ancora affetti da SIBO con persistente positività del breath test al lattulosio

La valutazione della risposta sintomatologica al trattamento tramite l'assegnazione di un nuovo punteggio (da 0 a 5) ad ogni sintomo a seconda del grado di severità, dimostrava un miglioramento significativo dopo terapia nei pazienti che avevano ottenuto l'eradicazione, in termini di bloating, dolore addominale e diarrea ($p < 0,05$; Tab IV).

Nessuna differenza è stata evidenziata nello score sintomatologico nei pazienti che non avevano ottenuto l'eradicazione della SIBO dopo terapia (Tab V).

Una riduzione significativa nella produzione di idrogeno nell'espriato è stata evidenziata nel gruppo di pazienti eradicati dalla SIBO.

La figura 6 mostra i valori medi della concentrazione di idrogeno vs tempo per il gruppo totale dei pazienti prima del trattamento e per i due gruppi separati dei pazienti eradicati e non eradicati dopo trattamento.

In entrambi i casi si è evidenziata una riduzione dell'area sottostante la curva dopo il trattamento antibiotico, con una significatività statistica solo per il gruppo di pazienti che hanno ottenuto l'eradicazione della SIBO ($p < 0,0001$).

DISCUSSIONE

Nella nostra esperienza di singolo centro, abbiamo riscontrato una prevalenza elevata della SIBO nei pazienti seguiti presso i nostri ambulatori per IBS, come emerso dai risultati del breath test al lattulosio (70%).

Questi dati si avvicinerebbero a quelli di altre casistiche (studi controllati) che mostrerebbero una prevalenza della SIBO nei pazienti affetti da IBS variabile dal 30 % (Lupascu, APT 2005) all'84% (Pimentel AJG 2003) rispetto alla popolazione sana di controllo.

La scelta dell'utilizzo del breath test al lattulosio per documentare la SIBO è stata dettata dalla necessità di usufruire di un test non invasivo, dotato di maggiore riproducibilità rispetto al gold standard, ossia al test colturale, (38 vs 92%) e che consentisse, tramite l'utilizzo di un substrato non assorbibile, di determinare l'eventuale presenza di overgrowth batterico in tutte le zone dell'intestino tenue potenzialmente coinvolgibili dal dismicrobismo, fino all'ileo.

Per il trattamento della SIBO è stato utilizzato un antibiotico non assorbibile come rifaximina la cui efficacia nel normalizzare la carica batterica e nell'alleviare i sintomi nella SIBO è stata già ampiamente documentata in diversi studi (36-39) .

Rifaximina è in grado di raggiungere elevate concentrazioni a livello del lume gastrointestinale, è dotata di un'efficacia paragonabile ad antibiotici sistemici nell'indurre decontaminazione e di un largo spettro d'attività antibatterica, oltre che di un ottimo profilo di sicurezza e di tollerabilità.

Il trattamento ha determinato un miglioramento della sintomatologia nei pazienti eradicati rispetto a quelli con persistenza di SIBO, riducendo in misura superiore il dolore addominale, la diarrea ed il bloating che sono caratteristicamente i sintomi di maggiore riscontro nei pazienti affetti da IBS.

La risposta sintomatologica concorda peraltro con la riduzione significativa nella produzione di

idrogeno nei pazienti eradicati rispetto a quelli con persistenza di SIBO a sottolineare il ruolo centrale che l'iperproduzione di gas nei pazienti IBS-SIBO positivi riveste nella sintomatologia addominale.

Questi risultati andrebbero a confermare dati già documentati in altri studi controllati (21,22).

Dai risultati ottenuti da questo studio emerge la necessità di testare la presenza di SIBO nei pazienti affetti da IBS in considerazione della non invasività dei mezzi diagnostici oggi a disposizione e della rapida risposta clinica al trattamento antimicrobico.

E' necessario ampliare la casistica attuale attraverso uno studio controllato, che permetta di valutare la prevalenza della SIBO nella IBS rispetto ad una popolazione di controllo sana, e di valutare la risposta sintomatologica dopo trattamento antimicrobico vs placebo attraverso una randomizzazione della popolazione in studio affetta da IBS- SIBO.

Altri obiettivi sono la possibilità di estendere il follow up di questi pazienti nel tempo per valutare la percentuale di recidiva della SIBO e sperimentare un adeguato approccio terapeutico ciclico o continuativo nelle forme ricorrenti.

FIGURE E TABELLE

Tab. I. Criteri di Roma II (Rome II. A multinational consensus document on functional gastrointestinal disorders)

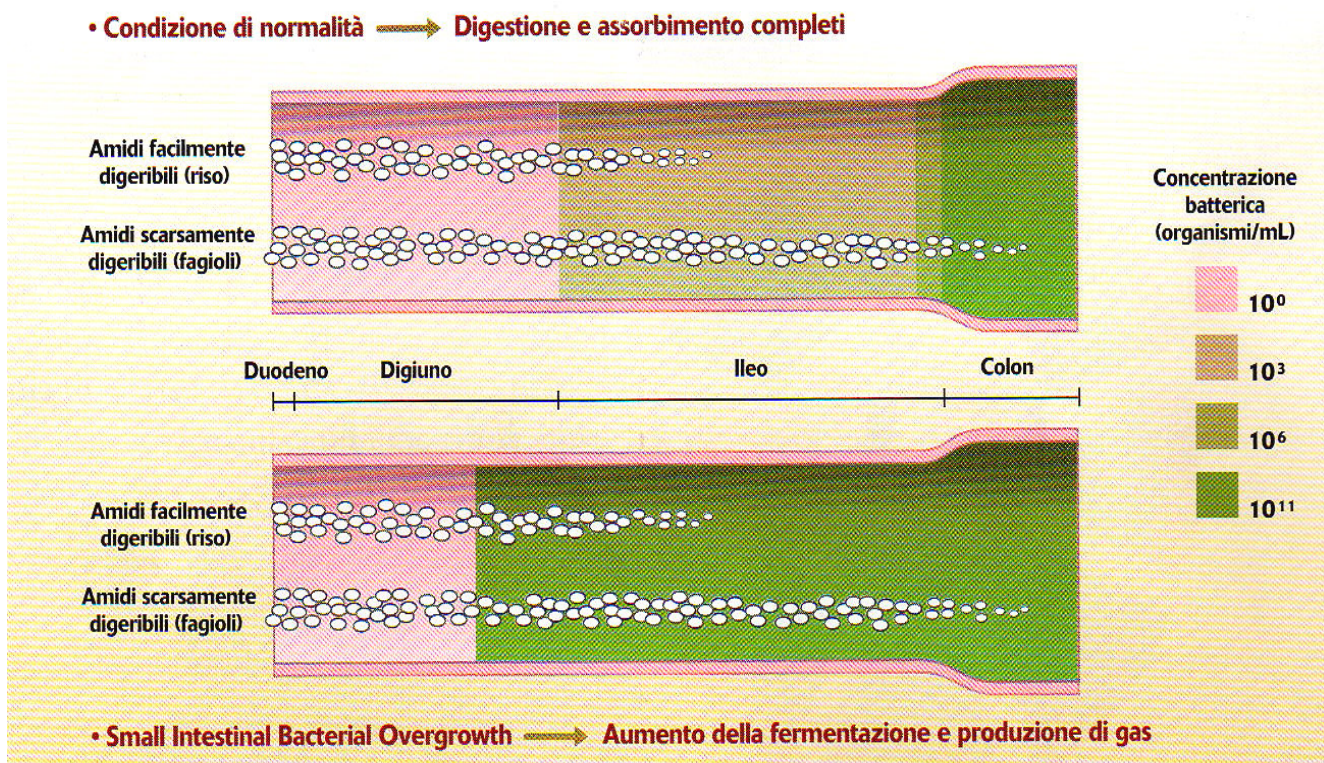
Dolore/disconfort addominale per almeno 3 mesi, anche non consecutivi, nei 12 mesi precedenti, con almeno 2 dei seguenti sintomi:

- miglioramento con la defecazione
- modificazione della frequenza dell'alvo
- modificazione della consistenza delle feci

Due o più dei seguenti sintomi, presenti per almeno il 25% del tempo:

- anomala frequenza dell'alvo (>3 al giorno; <3 alla settimana)
- anomala consistenza delle feci
- sforzo, urgenza o sensazione di evacuazione incompleta
- mucorrea
- meteorismo o sensazione di distensione addominale

Fig.1: Distribuzione della flora batterica intestinale e dei gas nel soggetto normale e nel soggetto affetto da SIBO



Tab. II. Fattori predisponenti l'insorgenza di SIBO

<p>Alterazioni anatomiche:</p> <ul style="list-style-type: none">• atrofia gastrica• diverticolosi del tenue• stenosi di anse intestinali• condizioni anatomiche chirurgiche (ansa afferente tipo Billroth II, by-pass digiuno-ileale, resezioni intestinali e della valvola ileo-ciecale)• fistole (spontanee, post-traumatiche, nella malattia di Crohn)
<p>Alterazioni motorie:</p> <ul style="list-style-type: none">• neuropatia diabetica• sclerodermia• pseudostruzione intestinale• accelerato svuotamento gastrico• IRC
<p>Altre condizioni:</p> <ul style="list-style-type: none">• malnutrizione• immuno-deficit• età avanzata• terapia prolungata con antisecretori gastrici

Fig.2: Lattulosio H₂ breath test in condizioni di normalità

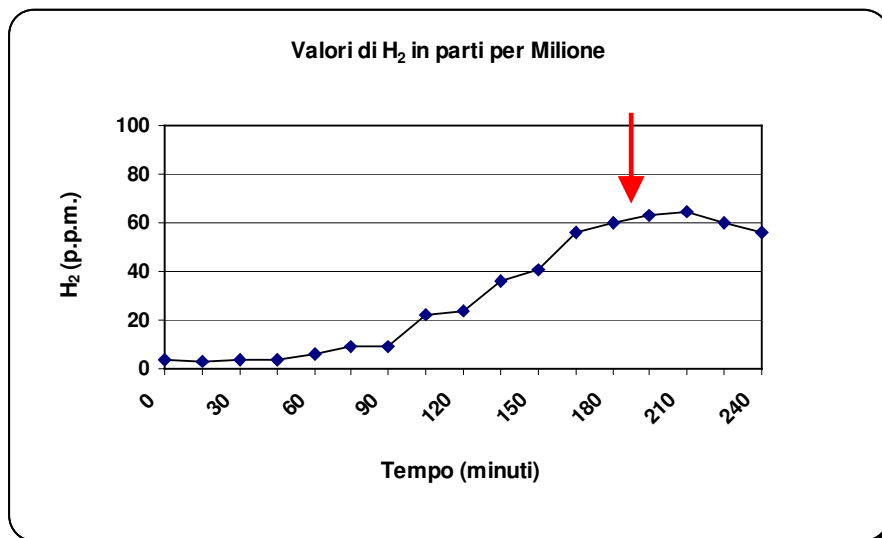


Fig.3: Lattulosio H₂ breath test nella SIBO (criterio del doppio picco)

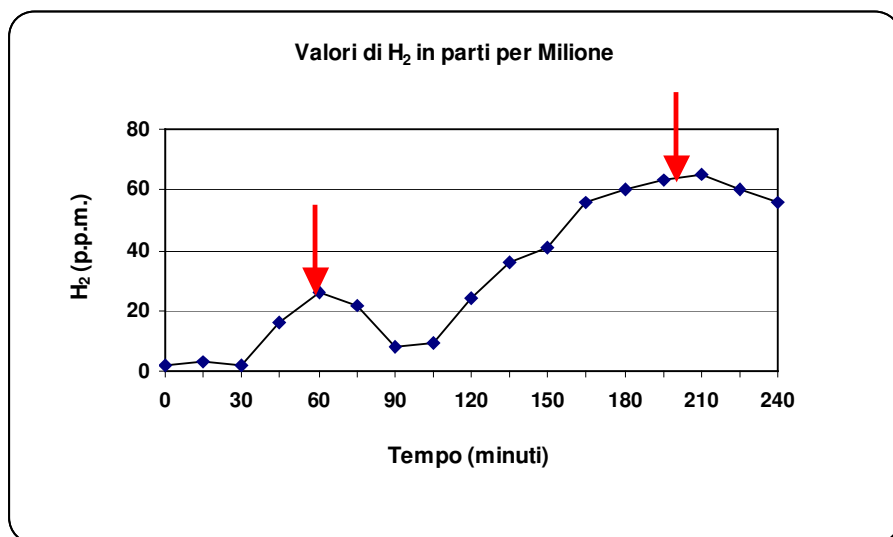


Fig.4: Glucosio H₂ breath test in condizioni di normalità

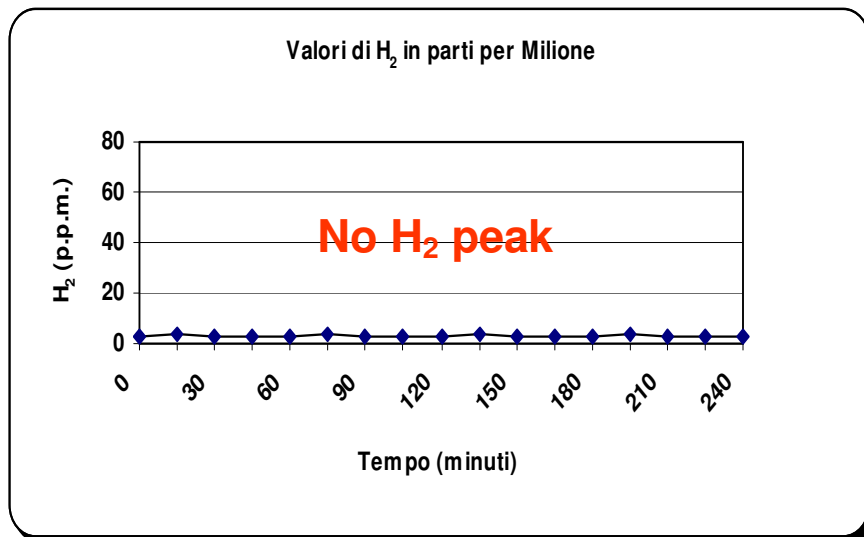
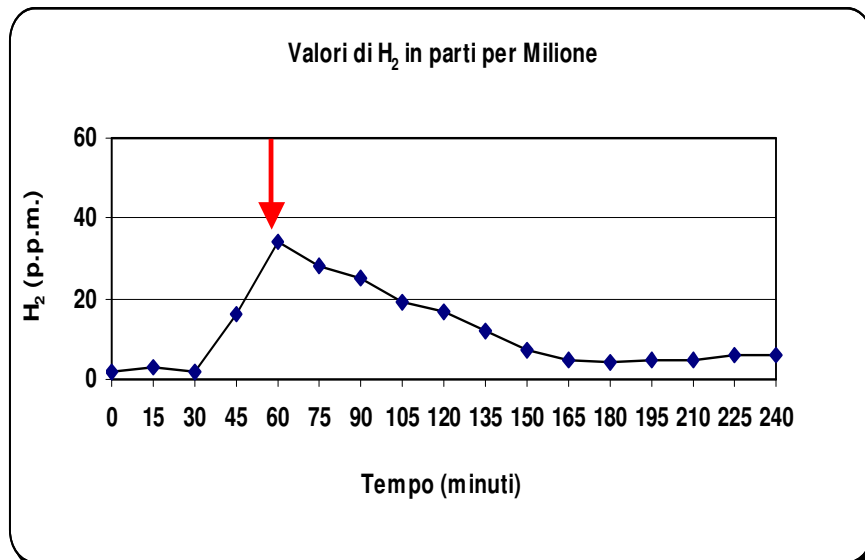


Fig.5: Glucosio H₂ breath test nella SIBO



Tab. III: Caratteristiche demografiche dei pazienti

	Gruppo totale pazienti IBS (n=198)	Gruppo SIBO (n=138)	Gruppo non SIBO (n=60)
Età media (DS)*	43 (13,2)	42,5 (14)	40,2 (13,1)
Sesso n (%) °			
Maschi (%)	57 (28,8)	28 (20,2)	29 (48)
Femmine (%)	141 (71,2)	110 (79,8)	31 (52)
Fumo di sigaretta n (%)#			
Pregresso	60/198 (30,3)	41/138 (29,7)	19/60 (31,6)
In atto	10/198 (5)	9/138 (6,5)	1/60 (1,6)
Alcool n (%)#	78/198 (39,3)	55/138 (39,8)	23/60 (38,3)

*ANOVA età: p *NS*

° χ^2 : p *NS*

χ^2 : p *NS*

Tab. IV: Score sintomatologico nei pazienti eradicati da SIBO prima e dopo il trattamento

	Prima terapia	della 10 giorni dopo la terapia	P*
Bloating	4,5 (2,3)	1,3 (3,5)	<0,05
Diarrea	3,5 (2,3)	1,5 (3,3)	<0,05
Dolore addominale	1,9 (0,3)	0,9 (0,7)	<0,05
Sollievo dopo defecazione	1,5 (2)	1,3 (2,1)	<i>NS</i>
Mucorrea	1,7 (0,6)	1,6 (0,4)	<i>NS</i>
Incontinenza evacuativa	1 (0)	1(0)	<i>NS</i>
Difficoltà evacuativa	0,7 (0,2)	0,7 (0,1)	<i>NS</i>
Urgenza evacuativa	1,7 (0,3)	1,6 (0,4)	<i>NS</i>

Media (DS)

*Test di Wilcoxon con correzione di Bonferroni

NS: non significativo

Tab. V: Score sintomatologico nei pazienti non eradicati da SIBO prima e dopo il trattamento

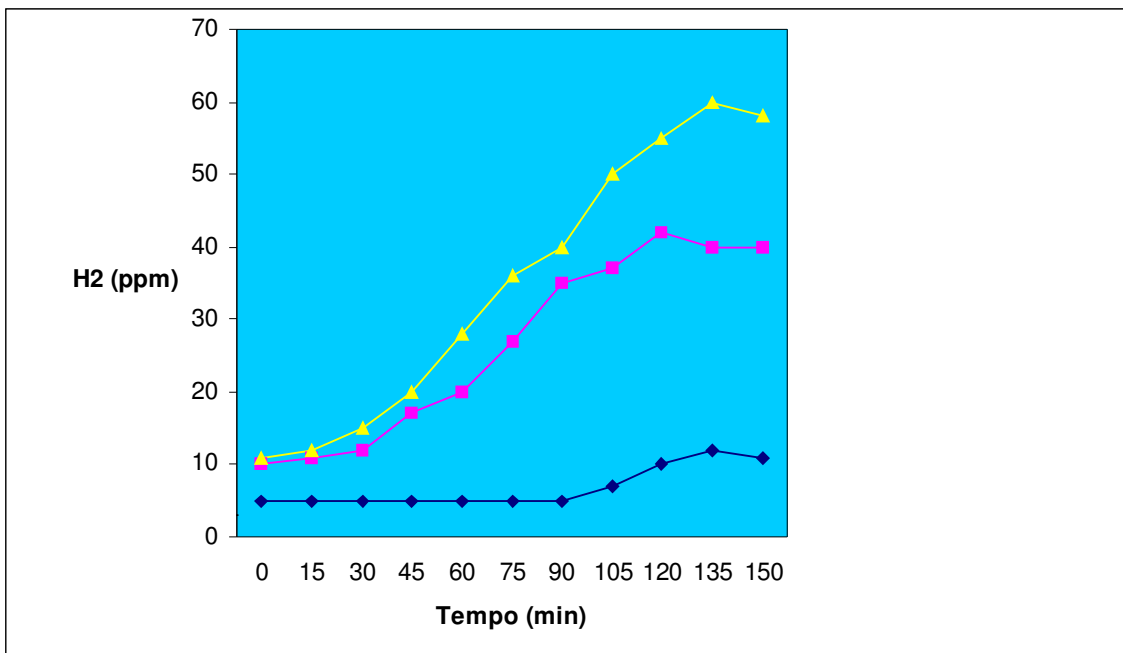
	Prima terapia	della 10 giorni dopo la terapia	P*
Bloating	3,4 (2,6)	3,2 (2,3)	<i>NS</i>
Diarrea	4,5 (3,2)	4,3 (3,3)	<i>NS</i>
Dolore addominale	4,3 (3)	4 (3,5)	<i>NS</i>
Sollievo dopo defecazione	2,7 (1,5)	2,5 (2)	<i>NS</i>
Mucorrea	1,7 (3)	2 (3,5)	<i>NS</i>
Incontinenza evacuativa	2,5 (3,7)	2,3 (4)	<i>NS</i>
Difficoltà evacuativa	1,3 (4)	1,4 (3,7)	<i>NS</i>
Urgenza evacuativa	2,5 (4)	2,1 (2,6)	<i>NS</i>

Media (DS)

*Test di Wilcoxon con correzione di Bonferroni

NS : non significativo

Fig.6: Produzione media di idrogeno nei pazienti IBS-SIBO prima del trattamento, nel gruppo eradicati e non eradicati



Prima del trattamento



Non eradicati



Eradicati

AUC pazienti prima del trattamento
vs
AUC pazienti eradicati
 $p < 0,0001$

BIBLIOGRAFIA

1. Drossman DA, Sandler RS, McKee DC et al. Bowel patterns among subjects not seeking health care. Use of a questionnaire to identify a population with bowel dysfunction. *Gastroenterology* 1982;83:529-34
2. Thompson WG, Heaton KW. Functional bowel disorders in apparently healthy people. *Gastroenterology* 1980;79:283-8
3. Drossman DA, Corazzieri E, Talley N, Thompson WG, Whitehead WE. Rome II: multinational consensus document on functional gastrointestinal disorders. *Gut* 1999;45 (Suppl.):II43-II47
4. Drossman DA, Li Z, Andruzzi E et al. Householder survey of functional gastrointestinal Disorders. Prevalence, sociodemography and health impact. *Dig Dis Sci* 1993;38 (9):1569-80
5. Tallej NJ, Gabriel SE, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Evans RW. Medical costs in community subjects with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 1995;109 (6): 1736-41
6. Wells NEJ, Hahn BA, Whorwell PJ. Clinical economics review: irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 1997;11(6):1019-30
7. Mayer EA, Collins SM. Evolving pathophysiologic models of functional gastrointestinal disorders. *Gastroenterology* 2002;122:2032-48
8. Barbara G, De Giorgio R, Stanghellini V, Cremon C, Corinaldesi R. A role for inflammation in irritable bowel syndrome? *Gut* 2002;51 (Suppl.1):i41-44
9. Neal KR, Hebden J, Spiller R. Prevalence of gastrointestinal symptoms six months

after bacterial gastroenteritis and risk factors for development of the irritable bowel syndrome: postal survey of patients. *BMJ* 1997;314(7083):779-82

10. Balsari A, Ceccarelli A, Dubini F, Fesce E, Poli G. The fecal microbial population in the irritable bowel syndrome. *Microbiologica* 1982 ;5 (3) :185-94
11. Swidinski A, Klilkin M, Ortner M et al. Alteration of bacterial concentration in colonic biopsies from patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 1999;116:A1
12. King CE, Toskes PP. Small intestinal bacterial overgrowth. *Gastroenterology* 1979; 76(5PT1):1035-55
13. Gregg CG, Toskes PP. Enteric bacterial flora and small bowel bacterial overgrowth Syndrome. *Gastrointestinal and Liver Disease* 2002;pp. 1783-93
14. Banwell JG, Kistler LA, Giannella RA, Weber FL, Lieber A, Powell DE. Small intestinal bacterial overgrowth syndrome. *Gastroenterology* 1981;80 (4):834-45
15. Corazza GR, Menozzi MG, Strocchi A et al. The diagnosis of small bowel bacterial overgrowth. Reliability of jejunal culture and inadequacy of breath test hydrogen testing. *Gastroenterology* 1990;98(2):302-9
16. Kerlin P, Wong L. Breath hydrogen testing in bacterial overgrowth of the small intestine. *Gastroenterology* 1988; 95(4):982-8
17. Rhodes JM, Middleton P, Jewell DP. The lactulose hydrogen breath test as a diagnostic test for small bowel bacterial overgrowth. *Scand J Gastroenterol* 1979;14(3):333-6
18. Corazza G, Sorge M, Strocchi A, Gasbarrini G. Glucose H₂ breath test for small intestinal bacterial overgrowth. *Gastroenterology* 1990;98:253-254
19. Chami TN, Schuster MM, Bohlman ME, Pullman TJ, Kamal N, Whitehead WE. A simple radiologic method to estimate the quantity of bowel gas. *Am J Gastroenterol* 1991;86(5):599-602

20. King TS, Elia M, Hunter JO. Abnormal colonic fermentation in irritable bowel syndrome. *Lancet* 1998;352(9135):1187-89
21. Pimentel M, Chow E, Lin HC. Eradication of small intestinal bacterial overgrowth reduces symptoms in irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2000;95(12):3503-06
22. Pimentel M, Chow E, Lin HC. Normalization of lactulose breath testing correlates with symptom improvement in irritable bowel syndrome: a double blind, randomized controlled study. *Am J Gastroenterol* 2003;98(2)
23. Lupascu A, Lauritano C, Gabrielli M et al. Small intestinal bacterial overgrowth prevalence in irritable bowel syndrome. Poster Session-DDW 2005
24. Code CF, Marlett JA. The interdigestive myoelectric complex of the stomach and small bowel of dogs. *J Physiol* 1975;246 (2):289-309
25. Husebye E, Skar V, Hoverstad T, Iversen T, Melby K. Abnormal intestinal motor patterns explain enteric colonization with Gram negative bacilli in late radiation enteropathy. *Gastroenterology* 1995;109(4):1078-89
26. Husebye E, Hellstrom PM, Sundler F, Chen J, Midtvedt T. Influence of microbial species on small intestinal myoelectrical activity and transit in germfree rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;280 (3):G368-80
27. Pimentel M, Soffer EE, Chow EJ, Kong Y, Lin HC. Lower frequency of MMC is found in IBS subjects with abnormal lactulose breath test, suggesting bacterial overgrowth. *Dig Dis Sci* 2002;47 (12):2639-43
28. Barbara G, Stanghelini V, De Giorgio R et al. Neuro-immune relationship in the colonic mucosa of irritable bowel syndrome patients. *Neurogastroenterol Motil* 2000;12:A272
29. Bueno L, Fioramonti J, Delvaux M, Frexinos J. Mediators and pharmacology of visceral sensitivity: from basic to clinical investigations. *Gastroenterology* 1997; 112(5):1714-43

30. Bouhnik Y, Alain S, Attar A, Flourie B, Raskine L, Sanson-Le Pors MJ, Rambaud JC.
Bacterial population contaminating the upper gut in patients with small intestinal bacterial overgrowth syndrome. *Am J Gastroenterol* 1999;94:1327-31
31. Joiner KA, Gorbach SL. Antimicrobial therapy of digestive disease. *Clin Gastroenterol* 1979;8:3-35
32. Kahn IJ, Jeffries GH, Sleisenger MH. Malabsorption in intestinal scleroderma: correction by antibiotics. *N Engl J Med* 1966;274:1339-44
33. Goldstein F, Wirts CW, Kramer S. The relationship of afferent loop stasis and bacterial flora to the production of postgastrectomy steatorrhea. *Gastroenterology* 1961;40:47-54
34. Bjorneklett A, Fausa O, Midtvedt T. Bacterial overgrowth in jejunal and ileal disease. *Scand J Gastroenterol* 1983;18:289-98
35. Hazenberg MP, Pennock-Schroder AM, van de Merwe JP. Reversible binding of polymyxin B and neomycin to the solid part of faeces. *J Antimicrob Chemother* 1986; 17:333-9
36. Hoover W, Gerlach E, Hoban D et al. Antimicrobial activity and spectrum of rifaximin, a new topical rifamycin derivative. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1993;16:111-8
37. Gillis JC, Brodgen RN. Rifaximin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic potential in conditions mediated by gastrointestinal bacteria. *Drugs* 1995;49:467-84
38. Descombe J, Dubourg D, Picard M et al. Pharmacokinetic study of rifaximin after oral administration in healthy volunteers. *Int J Clin Pharmacol Res* 1994;14:51-6
39. Williams R, James OF, Warnes TW et al. Evaluation of the efficacy and safety of rifaximin in the treatment of hepatic encephalopathy: a double blind, randomized, dose-finding multi-centre study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000;12:203-8

40. Di Stefano M, Malservisi S, Veneto G et al. Rifaximin versus chlortetracycline in the short-term treatment of small intestinal bacterial overgrowth. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 551-6
41. Lauritano C, Gabrielli M, Lupascu A. et al. Rifaximin dose-finding study for the treatment of small intestinal bacterial overgrowth. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;22(1):31-35.