

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE BRASILEIRA

José Eugênio Rios Ricci Júnior

**SUPERCRESCIMENTO BACTERIANO DE INTESTINO DELGADO
EM PACIENTES COM DOENÇA DE CROHN: PREVALÊNCIA,
PREDITORES E ASSOCIAÇÃO COM INFLAMAÇÃO SISTÊMICA E
INTESTINAL**

Orientador: Prof. Dr. Júlio Maria Fonseca Chebli

Juiz de Fora
2016

JOSÉ EUGÊNIO RIOS RICCI JÚNIOR

**SUPERCRESCIMENTO BACTERIANO DE INTESTINO DELGADO
EM PACIENTES COM DOENÇA DE CROHN: PREVALÊNCIA,
PREDITORES E ASSOCIAÇÃO COM INFLAMAÇÃO SISTÊMICA E
INTESTINAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde: área de Concentração Saúde Brasileira da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do título de Mestre

APROVADO EM: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Júlio Maria Fonseca Chebli
Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa. Dra. Liliana Andrade Chebli
Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa. Dra. Katia Valéria Bastos Dias Barbosa
Faculdade Suprema- Juiz de Fora

Juiz de Fora
2016

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades.

Agradeço ao meu querido Prof. Dr. Júlio Maria Fonseca Chebli, pela orientação, por ter acreditado no meu sonho, pelas correções e incentivos.

Agradeço à Prof^a Maria do Carmo Friches Passos por todos os ensinamentos e auxílio nos momentos de dúvida.

Aos meus pais, pelo amor e apoio incondicional.

Agradeço a minha amada noiva Milena Diniz de Matos, pela parceria, paciência, compreensão e incentivo nos momentos de desânimo e cansaço.

A minha amiga Diná por confiar em meu potencial e me apoiar em minhas decisões.

Os meus sinceros agradecimentos aos colegas já graduados e acadêmicos de Medicina Lucas Stolzemburg, Camila Salgado, Álvaro Delgado, Jacqueline Delgado e André Rennó. Sem vocês eu não teria chegado até onde cheguei.

Aos pacientes que de maneira voluntária participaram deste trabalho, sem qualquer interesse ou vantagem, apenas com o intuito de colaboração.

Enfim, a todos que de maneira direta ou indireta colaboraram na execução deste projeto, o meu muito obrigado.

RESUMO

O supercrescimento bacteriano do intestino delgado (SCBID) é definido como um aumento no número e/ou alteração no tipo de bactérias no intestino delgado. Na sua patogênese incluem dano à válvula ileocecal e anormalidades anatômicas, comuns na doença de Crohn (DC). O presente estudo tem como objetivo estudar a prevalência e preditores de SCBID em pacientes com DC, assim como avaliar a relação entre SCBID e inflamação sistêmica e/ou intestinal.

Neste estudo transversal, entre Junho de 2013 e Janeiro de 2015, 92 pacientes com DC e 97 controles com queixas gastrointestinais não crônicas foram avaliados quanto à presença de SCBID usando o teste respiratório (TR) com hidrogênio e metano exalados. Regressão logística multivariada foi realizada para investigar a potencial associação entre SCBID com dados demográficos, características da doença, marcadores sistêmicos de inflamação (proteína C reativa - PCR - e velocidade de hemossedimentação de eritrócitos - VHS), e biomarcador fecal de inflamação intestinal (calprotectina fecal - CF).

A taxa de SCBID foi significativamente maior em pacientes com DC do que nos controles (32,6% vs. 12,4%, respectivamente; $p = 0,0008$). Os pacientes com e sem SCBID foram semelhantes de acordo com os dados demográficos, marcadores inflamatórios sistêmicos e características da doença, exceto o fenótipo estenosante, mais comum nos pacientes com DC positivos para SCBID (43,3% vs. 19,3%; $p = 0,015$). Notavelmente, a concentração de CF foi significativamente mais elevada em pacientes positivos para SCBID (mediana de 485,8 vs. 132,7 $\mu\text{g/g}$; $p = 0,004$). Os pacientes que apresentaram aumento da CF e doença estenosante tiveram um *odds* de 9,43 (IC de 95%, 3,04-11,31; $p < 0,0001$) e 3,83 (95% CI, 1,54-6,75; $p = 0,025$), respectivamente, para o diagnóstico de SCBID.

Em pacientes com DC, o SCBID é uma condição altamente prevalente. O fenótipo estenosante e o aumento da concentração de CF foram fortemente e independentemente associados com a presença de SCBID. O diagnóstico de SCBID seguido de tratamento direcionado é recomendado em pacientes com DC, especialmente no cenário de fenótipo estenosante e/ou na presença concomitante de inflamação intestinal.

Palavras-chave: Bactéria; microbioma gastrointestinal; crescimento bacteriano; doença de Crohn; biomarcadores; inflamação.

ABSTRACT

Introduction: The small intestine bacterial overgrowth (SIBO) is defined as an increase in the number and/or change in the type of bacteria in the small intestine. In its pathogenesis it is important the damage on the ileocecal valve and anatomical abnormalities, both common in Crohn's disease (CD). The aim of this study was to determine the prevalence and predictors of SIBO in CD patients as well as to assess the relationship between SIBO and systemic and/or intestinal inflammation.

In this cross-sectional study, between June 2013 and January 2015, 92 CD patients and 97 controls with non-chronic gastrointestinal complaints were assessed for presence of SIBO using the H₂/CH₄ glucose breath test. Multivariate logistic regression was performed to investigate the potential association between SIBO and demographic, disease-related data, systemic markers of inflammation (C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate), and biomarker of intestinal inflammation (fecal calprotectin concentration - FCC).

The SIBO rate was significantly higher in CD patients than in the controls (32.6% vs. 12.4%, respectively, $P=0.0008$). Patients with and without SIBO were comparable according to demographics, systemic inflammatory biomarkers, and disease characteristics, except to the stricturing phenotype more common in the SIBO-positive CD patients (43.3% vs. 19.3%, $P=0.015$). Notably, FCC was significantly higher in SIBO-positive patients (median of 485.8 vs. 132.7 $\mu\text{g/g}$; $P = 0.004$). Patients presenting increased FCC and stricturing disease had an odds of 9.43 (95% CI, 3.04-11.31; $P < 0.0001$) and 3.83 (95% CI, 1.54-6.75; $P=0.025$) respectively, for SIBO diagnosis.

Conclusions: In CD patients, SIBO is a highly prevalent condition. Stricturing phenotype and increased FCC were strongly and independently associated with the presence of SIBO. SIBO diagnostic work-up followed by directed treatment is recommended in CD patients, especially if stricturing disease or concurrent intestinal inflammation is present.

Key words: Bacteria; gastrointestinal microbiota; bacterial growth; Crohn's disease; biomarkers; inflammation.

LISTA DE FIGURA

FIGURA 1-	Modelo de cromatógrafo a gás	20
-----------	------------------------------	----

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Prevalência do supercrescimento bacteriano de intestino delgado entre diferentes patologias	18
TABELA 2- Índice de Atividade da Doença de Crohn (IADC)	24
TABELA 3- Índice de Harvey-Bradshaw (IHB)	25

LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcentagem
CF	Calprotectina fecal
CG	Cromatografia gasosa
CH ₄	Metano
cm	Centímetro
CMI	Complexo motor interdigestivo
DC	Doença de Crohn
DII	Doença inflamatória intestinal
FE	Fase estacionária
FM	Fase Móvel
g	Grama
H ₂	Hidrogênio
HP	Helicobacter pylori
Ht	Hematócrito
HU	Hospital Universitário
IADC	Índice de atividade da doença de Crohn
IBP	Inibidores de bomba de prótons
IC	Intervalo de confiança
ID	Intestino delgado
Ig	Imunoglobulina
IgA	Imunoglobulina A
IgG3	Imunoglobulina G3
IHB	Índice de Harvey-Bradshaw
IMC	Índice de massa corpórea
Kg	Kilograma
mg	Miligrama
P	Probabilidade de significância
PCR	Proteína C reativa
pH	Potencial hidrogeniônico
POIC	Pseudo-obstrução intestinal crônica
ppm	Partes por milhão
SCBID	Supercrescimento bacteriano de intestino delgado

TGI Trato gastrointestinal
UFC Unidade Formadora de colônia
VHS Velocidade de hemossedimentação

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 Considerações gerais	11
1.2 Fisiopatologia e causas de SCBID	12
1.2.1 Falhas na barreira ácida do estômago	13
1.2.2 Falhas na depuração do intestino delgado	13
1.2.3 Alterações anatômicas do intestino delgado	14
1.2.4 Deficiências imunes locais e sistêmicas	15
1.3 Diagnóstico do SCBID	16
1.4 Prevalência do SCBID	17
1.5 Teste respiratório com hidrogênio e metano exalados	18
1.6 Considerações terapêuticas	21
1.7 O supercrescimento bacteriano de intestino delgado e a DC	22
1.8 Avaliação da atividade da DC	22
2 OBJETIVO	26
3 JUSTIFICATIVA	27
4 MÉTODO	28
4.1 Desenho do estudo	28
4.2 Recrutamento dos pacientes	28
4.3 Medidas e desfechos	29
4.3.1 Características demográficas e relacionadas à DC	29
4.3.2 Teste respiratório com H ₂ e CH ₄ exalados	30
4.4 Análise estatística	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
6 CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS	54
ANEXOS	62

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações gerais

Nos últimos anos descobriu-se que o corpo humano apresenta um contingente de microorganismos que supera em número as células humanas, chegando até 100 trilhões (10^{14}) (WHITMAN et al., 1998; CLEMENTE et al., 2012). As bactérias, vírus e eucariontes que habitam o lúmen intestinal dos homens constituem um imenso ecossistema, denominado microbiota (GOSHAL et al., 2012). O material genético carregado por estes microorganismos é conhecido como microbioma (CLEMENTE et al., 2012). A microbiota desempenha um papel fundamental tanto na saúde quanto na doença nos homens (O'HARA; SHANAHAN, 2006; SHEN; WONG, 2016). Dentre suas funções vitais destaca-se a fermentação e absorção de carboidratos não digeridos, produção de vitaminas essenciais para o organismo, detoxificação de substâncias prejudiciais, metabolismo de determinadas drogas, controle no crescimento de bactérias patogênicas e sua interação com o sistema imune (CHOW et al., 2010; PONNUSAMY et al., 2011).

As bactérias são os principais constituintes da microbiota intestinal, em especial aquelas que integram as divisões *Bacteroidetes* e *Firmicutes* (TURNBAUGH et al., 2006). Apesar da grande variabilidade na sua composição, a microbiota da maioria dos indivíduos é classificada conforme gênero predominante: *Bacteroides*, *Prevotella* ou *Ruminococcus* (ARUMUGAM et al., 2011).

A colonização bacteriana nos intestinos inicia-se desde o nascimento e atinge seu ápice ao final do primeiro ano de vida. A partir de então, tende a manter-se estável por toda existência do indivíduo (SEKIROV et al., 2010). Vários fatores influenciam na composição da microbiota intestinal, dentre eles, idade, sexo, origem do indivíduo, tipo de dieta e fatores ambientais, em especial o uso de antibióticos (PONNUSAMY et al., 2011).

Grande parte do tubo digestivo incluindo estômago, duodeno, jejuno e íleo proximal, apresenta uma população escassa de microorganismos, variando entre 10^3 a 10^4 bactérias por unidades formadoras de colônias (UFC), constituída predominantemente de bactérias gram-positivas e por raros anaeróbios. As bactérias mais comumente isoladas neste segmento incluem: *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* e *Corynebacterium*. Por outro lado,

bacilos Gram negativos podem ser encontrados nas porções proximais do intestino delgado (ID) de pessoas com motilidade intestinal preservada, mas não ultrapassando 10^3 UFC (BOHM; SIWIEC; WO et al., 2013; GRACE et al., 2013). Esta microflora surge episodicamente como forma de onda após as refeições e o seu crescimento é inibido pela acidez do suco gástrico, pela peristalse do ID, pela ação bacteriostática da bile e ação de imunoglobulinas secretadas na luz intestinal (NEALE et al., 1972).

O íleo terminal atua como uma zona de transição entre as escassas bactérias aeróbicas do ID e a numerosa população de bactérias anaeróbicas encontradas nos cólons. A válvula ileocecal funciona como uma barreira mecânica, impedido o refluxo de conteúdo colônico. Qualquer interferência neste equilíbrio pode contribuir para o desenvolvimento do supercrescimento bacteriano no intestino delgado (SCBID). O ceco e demais segmentos do intestino grosso, por sua vez, apresentam um predomínio de bacilos Gram negativos e anaeróbios como *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, e *Bifidobacterium* (CAMP et al., 2009).

O ID, além das suas funções de digestão, absorção e secreção de nutrientes, atua com zona de transição entre o estômago e o cólon. O estômago com seu baixo pH destrói praticamente todos os microorganismos que chegam junto com a alimentação, enquanto o cólon se apresenta como um ambiente favorável para o desenvolvimento bacteriano (KLAUS et al., 2009).

O SCBID consiste numa colonização aumentada, constituída por diferentes espécies bacterianas derivadas a partir da flora colônica que ascendem para segmentos do intestino delgado ou até mesmo para o estômago. Quantitativamente, considera-se SCBID a presença de $\geq 10^5$ bactérias por UFC no aspirado da secreção do jejuno proximal (BURES et al., 2010; LEE et al., 2015).

1.2 Fisiopatologia e causas do SCBID

Qualquer distúrbio no equilíbrio da microbiota do ID pode resultar no aparecimento do SCBID. As principais causas podem ser divididas em: falhas na barreira ácida do estômago, falhas na depuração do intestino delgado, alterações anatômicas e distúrbios da imunidade (BOHM; SIWIEC; WO, 2013).

1.2.1 Falhas na barreira ácida do estômago

Quase a totalidade de bactérias que chega ao estômago é eliminada em até 5 minutos em função de seu ambiente fisiologicamente ácido. O aumento do pH durante as refeições e logo após o esvaziamento gástrico podem permitir uma pequena colonização do trato digestivo superior (GIANNELLA; BROITMAN; ZAMCHECK et al., 1975). A infecção pelo *Helicobacter pylori* (HP) pode causar uma gastrite atrófica, através de uma redução das glândulas parietais responsáveis pela produção de ácido clorídrico, resultando em um aumento do pH e consequente quebra da barreira ácida. A hipocloridria também pode ser resultante de outro tipo de gastrite atrófica, não relacionada à infecção pelo HP, de etiologia autoimune, comum em pacientes idosos (BOHM; SIWIEC; WO et al., 2013).

O uso crônico de inibidores de bomba protônica (IBP), em especial nos pacientes infectados pelo HP, pode ocasionar elevação do pH gástrico em até 4 unidades, favorecendo o crescimento de bactérias Gram positivas e no surgimento de SCBID (COMPARE et al., 2011).

O supercrescimento de bactérias Gram positivas na porção proximal do ID não apresenta significado clínico até o presente momento, principalmente naqueles pacientes em que a peristalse intestinal encontra-se preservada (PARLESACK et al., 2003).

1.2.2 Falhas na depuração do intestino delgado

Um dos mecanismos essenciais para o controle da proliferação de bactérias no lúmen do ID consiste nos movimentos coordenados desempenhados pela peristalse das alças intestinais que varrem as bactérias antes mesmo que elas possam se aderir à mucosa e iniciar sua proliferação. Este mecanismo de depuração é coordenado em parte pelas células intersticiais de Cajal, também conhecidas como “marcapasso” do trato gastrointestinal (TGI). A oscilação do potencial elétrico da membrana celular das células entéricas resulta em um ritmo elétrico intestinal intrínseco. Através desse ritmo, é possível estabelecer a direção e a frequência máxima de contrações ao longo do TGI, variando entre três vezes por minuto no estômago até 10-12 vezes no ID proximal (BOHM; SIWIEC; WO, 2013).

A fase III do complexo motor interdigestivo (CMI) também participa no controle da depuração da microbiota do TGI. Após o esvaziamento gástrico, inicia-se uma etapa de atividade motora conhecida como CMI, ocorrendo tanto no estômago quanto no duodeno. Durante esta etapa, fortes contrações gástricas associadas às aberturas amplas do piloro realizam uma varredura de restos alimentares que não tenham sido bem fragmentados no estômago na fase pós-prandial. Esta etapa interdigestiva divide-se em três fases distintas de motilidade. A fase I é caracterizada por ausência de atividade motora, durando de 45 a 60 minutos; a fase II dura cerca de 30 minutos e apresenta contrações intermitentes, de uma a duas e duas a cinco por minuto no antro gástrico e no duodeno, respectivamente; e a fase III dura entre cinco a 10 minutos e desenvolve contrações rítmicas que elevam a pressão intragástrica ao máximo, com frequência de 2,5 a 3,5 e oito a 12 por minuto no antro e no duodeno, respectivamente. A fase III é também conhecida como complexo motor migratório. As três fases do CMI iniciam-se no estômago e se propagam até o íleo terminal. Durante a ingestão alimentar, o CMI é abruptamente interrompido e se inicia o padrão prandial de motilidade (NASSIF et. al, 2003).

A fase III do CMI representa a associação eletromecânica entre as células intersticiais de Cajal do sistema nervoso entérico e a musculatura lisa entérica. Qualquer condição que interfira no correto funcionamento do sistema nervoso e muscular entérico pode resultar no SCBID.

As neuromiopatias e miopatias podem ser divididas em primárias e secundárias. As primárias são aquelas decorrentes de doenças familiares que normalmente acometem crianças. Já as secundárias ou adquiridas ocorrem em função de condições sistêmicas que afetam a motilidade do ID, incluindo doenças do tecido conjuntivo (esclerodermia, polimiosite, doença mista do tecido conjuntivo, lúpus), enteropatia por radiação, síndromes paraneoplásicas, amiloidose (primária e secundária) e medicamentos (principalmente opióides, anti-depressivos tricíclicos e anticolinérgicos) (TARNOPOLSKY et al., 2010).

1.2.3 Alterações anatômicas do intestino delgado

Diversas alterações anatômicas e cirurgias no ID podem resultar em redução ou perda de eficiência da depuração da peristalse intestinal, permitindo uma quebra nos mecanismos protetores e consequente proliferação bacteriana. Os divertículos

podem ocorrer em toda a extensão do intestino delgado, sendo os mais comuns aqueles de óstio estreito e sendo assintomáticos na maioria dos pacientes. Todavia, os divertículos duodenais e jejunais de óstio largo podem favorecer a estase de resíduos alimentares e a aumento da incidência de SCBID (MONTALVO et. al, 1995; JANEVSKA et. al, 2013).

Cirurgias do TGI que criam alças intestinais cegas, como anastomose em Billroth II e Y de Roux, podem predispor ao SCBID em função da redução da exposição ao suco gástrico, depuração ineficaz de bactérias e retenção de alimentos e secreções. Estenoses do ID, resultantes de cirurgias prévias, radiações ou doença de Crohn (DC) também podem predispor à proliferação bacteriana (BOHM; SIWIEC; WO, 2013).

Doenças ou cirurgias que acometem a válvula ileocecal (DC, tuberculose intestinal, linfoma, ileocectomia direita) podem quebrar a barreira anatômica deste segmento, permitindo a ascensão de bactérias colônicas para o ID. Pacientes submetidos à ileostomia também estão sujeitos ao desenvolvimento de SCBID por quebra da barreira anatômica (BOHM; SIWIEC; WO, 2013).

1.2.4 Deficiências imunes locais e sistêmicas

As imunodeficiências consistem num grupo heterogêneo de doenças que incluem anormalidades na imunidade mediada por células e por anticorpos. Embora os mecanismos patogênicos envolvidos possam ser vários, as principais manifestações clínicas são decorrentes de infecções de repetição. Na população pediátrica e adulta, sintomas gastrointestinais podem ocorrer em até 50% dos pacientes. Estes sintomas incluem diarreia crônica ou recorrente e que muitas vezes ocasionam uma síndrome de má absorção ou até mesmo em déficit de crescimento nos infantes. A intensidade dos sintomas se correlaciona com o grau de imunodeficiência e com a presença ou não de uma ou mais deficiências imunológicas associadas. Na maioria dos pacientes a causa do envolvimento gastrointestinal pode permanecer desconhecida, apesar de alguns autores sugerirem que a colonização do ID possa ser o principal responsável por estas alterações (PIGNATA et. al, 1990).

Doenças associadas à redução dos níveis de células T ou de imunoglobulinas (Ig), como nas deficiências locais (IgA) e/ ou nas sistêmicas (IgG3,

hipogamaglobulinemia), podem facilitar o desenvolvimento de SCBID em função do comprometimento do sistema imune contra o crescimento desordenado de bactérias comensais ou do crescimento de bactérias patogênicas (GHOSHAL et. al, 2011; PIGNATA et. al, 1990).

1.3 Diagnóstico do SCBID

O diagnóstico clínico de SCBID é difícil de ser estabelecido uma vez que seus sintomas mais comuns são encontrados em diversas afecções, retardando a sua detecção e terapêutica precoces. As principais queixas relatadas pelos pacientes com SCBID incluem plenitude, flatulência, dor e/ou desconforto abdominais e diarreia. Outros podem se apresentar assintomáticos e nos casos mais graves podem haver sinais de má absorção, manifestações cutâneas, artralgias e síndromes decorrentes de deficiências nutricionais (anemia; tetania por hipocalcemia decorrente de falta de vitamina D e polineuropatia por deficiência de vitamina B12) podem ocorrer (GRACE et al., 2013). Em alguns enfermos, como nos portadores de DC e/ou doença celíaca, os sintomas podem servir como fator de confusão na diferenciação entre atividade da doença intestinal ou associação de SCBID. Nestes casos, muitas vezes são realizados exames e tratamentos diversos, expondo estes pacientes a riscos e gastos desnecessários, geralmente sem a melhora esperada dos sintomas (BURES et al., 2010; CASTIGLIONE et al., 2000).

A aspiração via enteroscópica e cultura do fluído jejunal persistem como método padrão-ouro no diagnóstico do SCBID (TURSI et al., 2003; GRECO et al., 2015). Doravante, trata-se de um procedimento de técnica difícil, passível de contaminação da amostra, demorado e de alto custo. Na busca de exames de elevada sensibilidade e de fácil realização foram desenvolvidos os testes respiratórios para diagnóstico de SCBID no início da década de setenta (KLAUS et al., 2009). Atualmente os testes respiratórios mais utilizados são o teste com xilose com ^{14}C e teste de hidrogênio e metano exalados. O primeiro, apesar de mais acurado, com uma sensibilidade e especificidade de até 95% e 94%, respectivamente, é de menor aplicabilidade pela sua natureza radioativa e custo elevado (CASTIGLIONE et al., 2000; QUIGLEY; ABU-SHANAB, 2010), enquanto o segundo é mais amplamente disponível, de baixo custo e de acurácia razoável, entre 70 a 80%.

1.4 Prevalência do SCBID

Em função de suas diferentes definições e diferentes técnicas para o seu diagnóstico, a prevalência do SCBID e sua associação com diferentes condições variam muito entre os principais estudos publicados até o momento (Tabela 1). Em se tratando do aparelho digestivo, as principais condições em que a associação com o SCBID está mais bem estabelecida incluem a pancreatite crônica com uma prevalência entre 34-92% (MANCILLA et al., 2008), a DC entre 25-88% (TRESPI; FERRIERI, 1999), reconstrução em Y de Roux de 86% (IIVONEN et al., 1998), outras cirurgias abdominais com 82% (enterectomias, colectomias etc; PETRONE et al., 2011), esteato-hepatite não alcoólica de 50-78% (MACHADO; COTEZ-PINTO, 2012; DUSEJA; CHAWLA, 2014), síndrome do intestino irritável entre 4-78% (MADRID et al., 2007; SANJEEV et al, 2011), doença celíaca entre 9-67% (TURSI; BRANDIMARTE; GIORGETTI, 2003), cirrose hepática entre 50-60% (GUNNARSDOTTIR, 2003), dentre outras. Em afecções acometendo diferentes sistemas orgânicos, também foram documentadas considerável associação com o SCBID, como na síndrome da fadiga crônica com uma prevalência de 81% (LOGAN; VENKET; IRANI, 2003; GRACE et. al, 2013), distrofias musculares com 65% (TARNOPOLSKY et. al, 2010), doenças do tecido conjuntivo (esclerodermia) com 43-55% (PARODI et al., 2008), doença de Parkinson com 54% (GABRIELLI et al., 2011) e no diabetes mellitus com 8-44% (OJETTI et al., 2009; RANA et al., 2011). Existem poucos dados sobre a prevalência do SCBID na população geral. Parlesak et al evidenciaram a presença do SCBID em 11% de uma amostra de cerca de 330 pacientes (PARLESACK et al., 2003).

Tabela 1: Prevalência do supercrescimento bacteriano de intestino delgado entre diferentes patologias			
	Prevalência (%)		Prevalência (%)
Alterações do aparelho digestivo		Outras afecções	
Vagotomia troncular bilateral	93%	Fibromialgia	93%
Pancreatite crônica	34-92%	Síndrome da fadiga crônica	81%
Reconstrução em Y de Roux	86%	Distrofias musculares	65%
Doença de Crohn	25-88%	Doenças do tecido conjuntivo	43-55%
Cirurgia abdominal	82%	Doença de Parkinson	54%
Esteato-hepatite não alcoólica	50-78%	Hipotireoidismo	54%
Síndrome do intestino irritável	4-78%	Rosácea	46%
Inibição da acidez gástrica (drogas)	26-75%	Diabetes mellitus	8-44%
Nutrição parenteral	70%	Insuficiência renal crônica	36%
Doença celíaca	9-67%	Imunodeficiências	30-50%
Cirrose hepática	50-60%	Obesidade	17-41%
Fonte: GRACE et. al, 2013; DUSEJA; CHAWLA, 2014.			

1.5 Teste respiratório com hidrogênio e metano exalados

Na década de 80, o teste respiratório (TR) com hidrogênio (H₂) exalado surgiu como uma nova ferramenta no diagnóstico de doenças como o SCBID, avaliação de má absorção e digestão do ID (intolerância à lactose, frutose e sorbitol) e distúrbios motores do ID (estimativa do tempo de trânsito orocecal), dentre outros (FUNAYAMA et al., 1999). Este teste é relativamente simples, não invasivo, não tóxico, de baixo custo e apresenta boa acurácia para o diagnóstico de SCBID. Tecnicamente, para sua realização administra-se por via oral uma dose pré-determinada de carboidratos (lactulose ou glicose), com subseqüentes coletas de amostras de ar exalado pelo

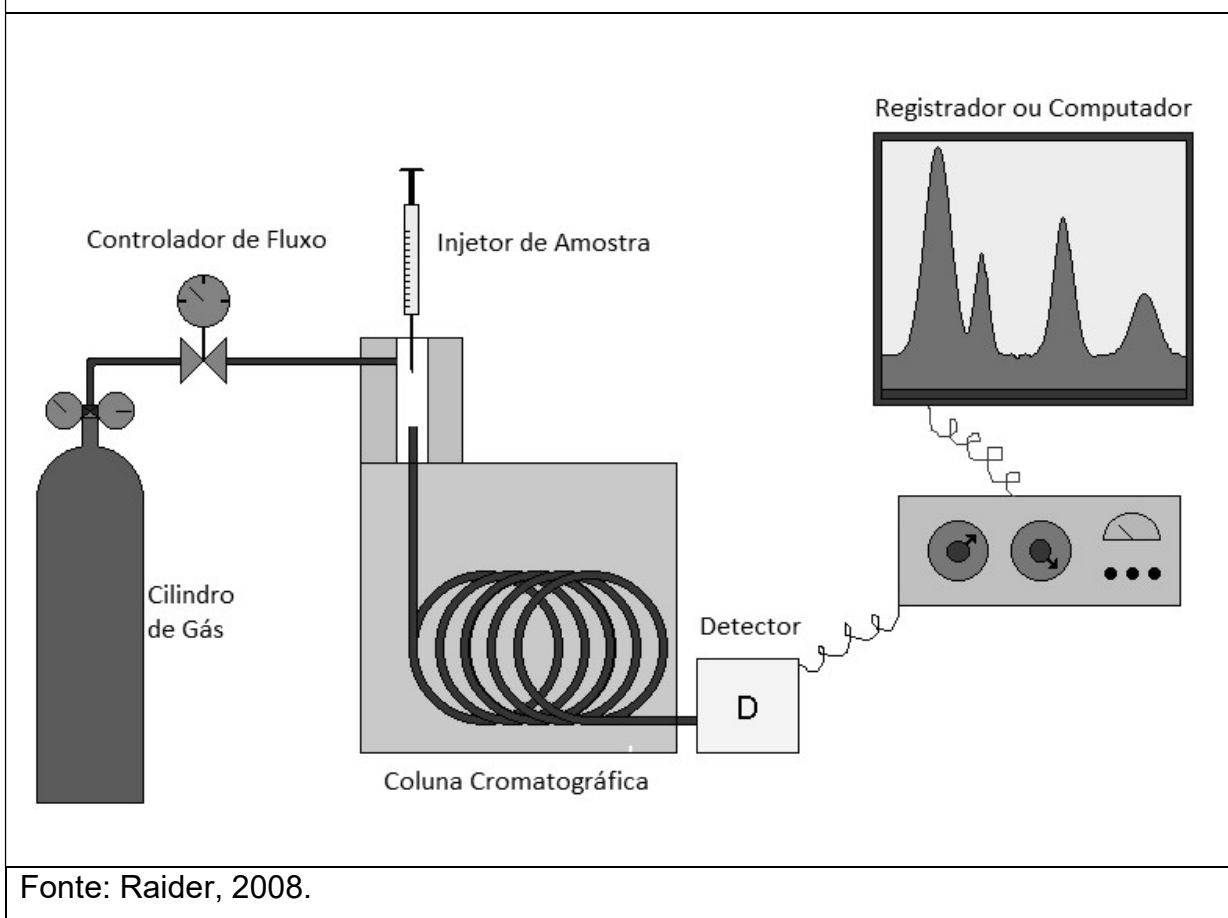
paciente em intervalos definidos, em geral a cada 15 minutos, por um período médio de duas a três horas (LINDBERG, 2009). Esse exame baseia-se no fato de que o H_2 , produzido nos indivíduos saudáveis, é proveniente da fermentação por bactérias colônicas, de alimentos ingeridos. Grande parte desses gases é descartada junto com as fezes ou sob a forma de flatos, enquanto o restante é transportado por difusão para os capilares da mucosa do ID e eliminado nos pulmões através do ar exalado (KLAUS et al., 2009). Alguns testes com resultados falso-negativos podem ser evitados através da medição conjunta de metano (CH_4) exalado. Cerca de 30% da população apresentam bactérias metanogênicas que convertem o H_2 produzido em CH_4 . O diagnóstico de SCBID fica prejudicado nesses pacientes quando submetidos ao teste respiratório tradicional, em função de detecção isolada de H_2 (DE LACY COSTELLO; LEDOCHOWSKI; RATCLIFFE, 2013).

As leituras das amostras obtidas são feitas a partir de um aparelho denominado cromatógrafo a gás (aerógrafo ou separador de gás), que se utiliza da cromatografia gasosa (CG) ou cromatografia gás-líquido como método de análise. A CG é um procedimento físico empregado na separação de uma amostra em seus componentes individuais, sendo que as quantidades relativas de um determinado componente também pode ser determinada. Esta separação é feita através da distribuição da amostra entre duas fases: fase móvel (FM) e fase estacionária (FE). A FM consiste num gás transportador, podendo ser um gás inerte (hélio) ou um não reativo (nitrogênio), cuja finalidade é transportar as moléculas a serem separadas através de uma coluna. Na cromatografia gás-líquido a FE é formada por uma camada microscópica de líquido ou polímero (película) sobre um sólido inerte (suporte) dentro de uma peça tubular metálica ou de vidro (coluna). Nesta fase, a separação dos componentes é dada por meio da distribuição da amostra dentro e fora da película (LANÇAS; MCNAIR, 1982).

A análise de um gás, ou analito, se inicia com a injeção de um volume pré-determinado do mesmo, por meio de uma seringa milimetrada (vidro ou plástico), no cromatógrafo (Figura 1). Conforme as moléculas da amostra são carregadas pelo gás transportador através da coluna, ocorre simultaneamente uma inibição ou retardo de sua movimentação em função da sua adsorção nas paredes da referida coluna. Desta forma, a progressão dos componentes do analito vai depender da força de adsorção da coluna, que por sua vez, é influenciada pelo tipo de molécula e do gás da FE. Como consequência, os diferentes componentes da amostra de gás são

separados conforme são carregados ao longo da coluna, chegando ao fim da mesma em tempos diferentes (tempos de retenção). A temperatura e o fluxo do gás carreador também podem interferir no tempo de retenção e na ordem dos diferentes tipos de moléculas. Após percorrer a coluna, os componentes passam por um detector que monitora o seu fluxo de saída, determinando cada componente do analito e sua respectiva quantidade. Os dados são enviados para o computador (registrador) que registra os valores de cada substância (GROB; BARRY, 2004).

Figura 1: Modelo de cromatógrafo a gás



Fonte: Raider, 2008.

O TR utilizando a glicose como substrato diagnóstica a presença de SCBID quando o aumento do H_2 e/ou CH_4 do valor basal for ≥ 12 ppm em cerca de 120 minutos, com acurácia mais elevada do que o que utiliza a lactulose, 72% e 55%, respectivamente (PARODI et al., 2009). Outra utilidade descrita por alguns autores do TR e específica para pacientes portadores de DC é a capacidade de diagnosticar presença de áreas significativas de estenoses, com valor preditivo positivo e negativo de 96% e 97,8%, respectivamente. Estas áreas de estenoses podem ser

assintomáticas ou responsáveis por sintomas crônicos nestes pacientes (MISHKIN et al., 2002).

Para evitar falsos resultados nos testes respiratórios, algumas orientações devem ser dadas previamente ao indivíduo. Antibióticos modificam a flora colônica habitual e, portanto, devem ser evitadas, em média, duas a quatro semanas antes do teste. Laxativos e enemas, como os administrados no preparo de colonoscopias, resultam numa redução do tempo de trânsito intestinal impedindo a ação de fermentação das bactérias sobre a lactulose ou glicose, necessitando nesses casos, seguir a mesma orientação dada em relação aos antibióticos. Também é solicitada aos pacientes uma redução na ingestão de alimentos ricos em fibras e carboidratos no dia que antecede o exame. Com isso, haverá uma diminuição significativa na produção de hidrogênio no intestino, criando-se um ambiente ideal para realização do teste. Outras medidas como evitar o fumo e atividades físicas vigorosas por pelo menos 30 minutos antes do início e no decorrer do procedimento devem ser adotadas, uma vez que as mesmas alteram as características fisiológicas da respiração (LINDBERG, 2009).

1.6 Considerações terapêuticas

O tratamento do SCBID deve incluir, em primeiro lugar, a terapêutica da doença subjacente quando presente, suporte nutricional e erradicação das bactérias com determinados antibióticos. Modificações dietéticas como restrição alimentar de leite e derivados nas primeiras semanas (intolerância secundária à lactose) e reposição de deficiências vitamínicas e minerais (vitaminas lipossolúveis, cálcio, magnésio e vitamina B12) devem ser adotados por períodos variáveis, conforme a gravidade do caso (QUIGLEY; ABU-SHANAB, 2010). Medicamentos associados com a redução da peristalse intestinal e os IBP devem ser retirados ou substituídos.

O tratamento antimicrobiano é normalmente empírico pela dificuldade de realização de cultura do aspirado jejunal. O mesmo deve abranger, principalmente, uma cobertura para bactérias entéricas Gram negativas, tanto aeróbias quanto anaeróbias. As principais drogas incluem ciprofloxacina, levofloxacina, norfloxacina, metronidazol, rifaximina, sulfametoazol-trimetropim, amoxicilina-clavulanato, neomicina, tetraciclina, dentre outros. Destas, a rifaximina aparenta ser a mais eficaz para erradicação do SCBID em mais de 80% dos casos, contudo, ainda não

disponível no Brasil (KOO; DUPONT, 2010). Trata-se de um derivado bactericida da rifamicina, que atua inibindo a síntese protéica bacteriana através da ligação irreversível a RpoB, subunidade beta do DNA bacteriano dependente do RNA polimerase. (DESCOMBE et al., 1994). A absorção mínima da rifaximina pelo trato gastrointestinal aumenta suas concentrações no bolo fecal, permitindo maior ação contra as bactérias, além de limitar sua toxicidade sistêmica (KOO; DUPONT, 2010). O período de tratamento varia em média entre 7 a 10 dias, como um curso único de antibiótico, ou através de ciclos de terapia, alternando as medicações para evitar resistência antimicrobiana (BURES et al., 2010; PONZIANI; GERARDI; GASBARRINI, 2016).

1.7 Supercrescimento bacteriano do intestino delgado na doença de Crohn

A DC é uma doença inflamatória crônica transmural e segmentar que pode afetar o TGI em qualquer local, da boca ao ânus, com localização preferencial ao nível do íleo terminal. Caracteriza-se pela formação de ulcerações, fístulas, estenoses e granulomas não caseosos, e evolui tipicamente com períodos de exarcebação e remissão (BAUMGART; SANDBORN, 2012).

Acredita-se que alterações na flora bacteriana podem estar envolvidas na etiologia e atividade da DC; por isso o uso de antibióticos pode ser uma modalidade terapêutica para este grupo de pacientes (MISHKIN et al., 2002). O SCBID é uma condição freqüente nos pacientes com DC, especialmente naqueles que possuem fístulas gastrocólica ou jejunocólica, estase do conteúdo intestinal, refluxo cecoileal causado pela perda da válvula ileocecal, alças cegas de confecção cirúrgica, obstrução intestinal e diferentes tipos de desordens de motilidade. Sua prevalência nos pacientes com DC é, em média de 23%, podendo chegar a até 30% naqueles indivíduos submetidos previamente à cirurgias (CASTIGLIONE et al., 2000). O SCBID pode alterar o pH intra-luminal e, conseqüentemente, interferir na liberação de drogas cujas formulações é dependente do pH, como no caso de algumas apresentações de mesalazina, reduzindo a eficácia destas medicações e mantendo ou agravando os sintomas nos pacientes (TURSÌ et al., 2003).

1.8 Avaliação da atividade da doença de Crohn

A aferição da atividade da DC pode ser de difícil realização em decorrência de diferentes padrões de localização e extensão da doença, bem como a presença ou não de complicações. A inflamação pode persistir na ausência de sintomas gastrointestinais e, pode, resultar em danos progressivos e complicações como fístulas, abscessos e estenoses. Portanto, o objetivo do tratamento da DC, está além do controle dos sintomas, mas também na detecção e controle da inflamação. A diferenciação entre doença em atividade e em remissão pode ser feita por meio de escores, como o Índice de Atividade da Doença de Crohn (IADC) e o Índice de Harvey-Bradshaw (IHB), exames de imagem (colonoscopia, enterografia por tomografia computadorizada ou ressonância magnética) ou através de biomarcadores inflamatórios séricos (PCR e VHS) e fecais (calprotectina fecal). (SOCIEDADE BRASILEIRA DE COLOPROCTOLOGIA, COLÉGIO BRASILEIRO DE CIRURGIA DIGESTIVA, SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA, COLÉGIO BRASILEIRO DE RADIOLOGIA, 2011). Apesar de ser adotado na maioria dos estudos controlados, o cálculo do IADC (Tabela 2) é um processo complexo, envolvendo oito itens, alguns dos quais devem ser registrados durante os últimos sete dias. O IHB (Tabela 3), por sua vez, é uma forma simplificada e alternativa ao IADC, elaborado para tornar a coleta e o cálculo de dados mais fácil, e por sua praticidade, também pode ser utilizado na prática clínica para avaliação da atividade da DC (VERMEIRE et al., 2010). Dentre os diversos biomarcadores, a PCR tem demonstrado boa associação com atividade na DC. Todavia, sua acurácia é modesta na predição de atividade endoscópica. Os biomarcadores fecais, em especial a CF, têm se mostrado como ferramenta bem acurada para avaliação da atividade em pacientes com doença inflamatória intestinal (DII), e apresentam melhor correlação com a atividade endoscópica (LOBATÓN et al., 2010).

Tabela 2. Índice de Atividade da Doença de Crohn (IADC)	
Número de evacuações líquidas (diariamente por 7 dias)	x 2
Dor abdominal (nenhuma = 0, leve = 1, moderada = 2, intensa = 3)	x 5
Sensação de bem-estar (bem = 0, desconfortável = 1, ruim = 2, péssimo = 3, terrível = 4)	x 7
Número de complicações: artrite/artralgia, irite/uveíte, eritema nodoso/pioderma gangrenoso ou estomatite aftosa, fissura/fístula ou abscesso anal, outras fístulas, febre > 37,8°C	x 20
Uso de loperamida (não = 0, sim = 1)	x 30
Massa abdominal (não = 0, questionável = 1, com certeza = 5)	x 10
Hematócrito (homens 47 – Htc%, mulheres: 42-Htc%)	x 6
Peso (1-peso/ peso padrão x 100). Adicione ou subtraia segundo o sinal	x 1
Total	
Fonte: VILELA et al., 2012	

Tabela 3. Índice de Harvey-Bradshaw (IHB)		
Variavel	Descrição	Escore
1	BEM ESTAR GERAL	0 = muito bom 1 = bom 2 = ruim 3 = muito ruim 4 = péssimo
2	DOR ABDOMINAL	0 = nenhum 1 = leve 2 = moderado 3 = severo
3	Nº EVACUAÇÕES LÍQUIDAS / DIA	1 = por nº evacuação
4	MASSA ABDOMINAL	0 = nenhuma 1 = duvidosa 2 = bem definida 3 = bem definida e dolorosa
5	COMPLICAÇÕES	1 ponto por item: • artralgia • uveíte • eritema nodoso • úlcera aftóides • pioderma gangrenoso • fissura anal • fístula anal • abscesso
Total: VERMEIRE et al., 2010.		

2. OBJETIVOS

O presente estudo tem como objetivo avaliar a prevalência e preditores de SCBID em pacientes com DC, assim como verificar a possível relação entre SCBID e inflamação sistêmica e/ou intestinal.

3. JUSTIFICATIVA

O SCBID, apesar de apresentar elevada prevalência em pacientes com DC, ainda é uma afecção subestimada por muitos médicos. (RUTGEERTS et al., 1981; CASTIGLIONE et al., 2000; MISHKIN et al., 2002; KLAUS et al., 2009; GRECO et al., 2015). Geralmente os casos de SCBI em pacientes com DC são subdiagnosticados devido à semelhança dos sintomas entre as duas enfermidades, e muitas vezes, o SCBID pode até mimetizar uma exacerbação da DC. Consequentemente, estes indivíduos podem se submeter a inúmeros exames e tratamentos dispendiosos (biológicos e/ou tratamentos cirúrgicos), implicando no aumento de gastos e risco de efeitos adversos, além de não haver melhora significativa do quadro. Por outro lado, se confirmado o diagnóstico do SCBID, a simples instituição de antibióticos seria o suficiente para a resolução dos sintomas nestes indivíduos (CASTIGLIONE et al., 2003; KLAUS et al., 2009).

Por ser tratar de exame de baixo custo, eficaz e de fácil realização, o teste respiratório é uma ótima ferramenta a ser incluída no arsenal de exames complementares aplicados na avaliação inicial dos pacientes com DC ou no decorrer da sua evolução. Através de seus resultados e em associação com outros exames, como os biomarcadores de inflamação sistêmica e intestinal, é possível diagnosticar o SCBID nesses pacientes e até relacioná-lo a eventuais complicações (estenoses) e/ou presença da doença em atividade.

Em nosso meio, não existem estudos avaliando prevalência e preditores de SCBID em pacientes com DC. Será importante determinar estas questões visando contribuir para o melhor manejo destes indivíduos. Adicionalmente, a possível correlação entre SCBID e inflamação sistêmica ou intestinal na DC é muito pouco avaliada, sendo importante pesquisa a ser realizada.

4. MÉTODO

4.1 Desenho do estudo

No período entre junho de 2013 e janeiro 2015 foi realizado um estudo de coorte transversal em pacientes ambulatoriais com DC acompanhados no Centro de Doenças Inflamatórias Intestinais do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (HU-UFJF) para avaliação de SCBID.

4.2 Recrutamento dos pacientes

Foram recrutados 95 pacientes com DC, correspondendo a cerca de 15% dos enfermos com DC do coorte seguido em nosso Centro. O diagnóstico de DC foi estabelecido previamente pela combinação de achados clínicos, radiológicos, endoscópicos e anatomopatológicos (FREEMAN, 2009).

Critérios de inclusão foram: idade igual ou superior a 18 anos e igual ou inferior a 65 anos e diagnóstico de DC previamente estabelecido durante o acompanhamento ambulatorial no Centro de Doenças Inflamatórias Intestinais do HU-UFJF.

Como critérios de não inclusão adotou-se: pacientes que não estavam na faixa etária entre 18 e 65 anos, história de cirurgia do TGI superior, múltiplas cirurgias intestinais (exceto uma única ressecção ileocecal ou colectomia parcial), presença de estoma (colostomia ou ileostomia), síndrome do intestino irritável, síndrome do intestino curto, cirrose hepática, pancreatite crônica, diabetes mellitus, síndrome de imunodeficiência, doenças do tecido conjuntivo, doença renal terminal, doenças neurológicas, e/ou uso de antibióticos, probióticos, ou IBP dentro de quatro semanas anteriores ao teste. Mulheres grávidas ou lactantes também não foram selecionadas. Desta forma, neste estudo excluíram-se 14 pacientes por serem menores de 18 anos ou que apresentavam uma doença grave que necessitava hospitalização ou cirurgia imediata.

Os controles foram selecionados a partir de indivíduos com queixas gastrointestinais inespecíficas e não crônicas (duração <3 meses) que procuraram pela primeira vez o ambulatório de Gastroenterologia do HU-UFJF e estavam dispostos a participar do estudo. Nosso objetivo era incluir pelo menos 95 controles,

que concordassem com o termo de consentimento informado. Foram seguidos os mesmos critérios de exclusão do grupo do experimento para o controle.

O protocolo do estudo foi definido de acordo com a Declaração de Helsinki e foi aprovado pelo nosso Comitê Institucional de Ética. Todos os pacientes assinaram o termo de consentimento livremente, antes de serem admitidos no estudo.

4.3 Medidas e desfechos

4.3.1 Características demográficas e relacionadas à DC

Na admissão, os critérios de elegibilidade foram avaliados e a história médica foi registrada. Os participantes foram submetidos a uma entrevista pelos autores seguindo um questionário pré-determinado contendo dados como idade, sexo, índice de massa corpórea (IMC) e tabagismo. As variáveis relacionadas à DC foram duração da doença, localização e fenótipo da DC, de acordo com a classificação de Montreal (SILVERBERG et al., 2005), atividade da DC, terapêutica atual e antecedentes cirúrgicos relacionados à DC. Os índices clínicos, IADC e IHB, foram utilizados para quantificar a atividade da DC. Dessa forma, uma pontuação de IADC abaixo de 150 indicava remissão e pontuações mais altas doença ativa; uma pontuação de IHB ≥ 5 indicava doença ativa e pontuações mais baixas remissão (VERMEIRE et al., 2010). Os dados que os pacientes, eventualmente, não soubessem informar foram extraídos do prontuário eletrônico dos mesmos.

A presença dos sintomas consistentes com SCBID como diarreia (≥ 3 evacuações por dia ou fezes líquidas), dor ou desconforto abdominal, distensão abdominal e flatulência, foram verificados através de um questionário clínico durante a consulta inicial. Para avaliar inflamação sistêmica, a PCR e a VHS foram obtidas do plasma do paciente no dia do teste respiratório. A VHS com elevação > 20 mm/h e PCR > 5 mg/dL foram consideradas aumentadas; para determinar a inflamação intestinal, amostras de fezes foram coletadas de cada paciente na mesma ocasião que o teste respiratório e, posteriormente, analisada para a determinação da concentração de CF através de ELISA. Os pacientes foram orientados a recolher as amostras em casa e armazená-las em refrigerador na temperatura entre 2°C a 8°C , por até 5 dias. As amostras foram entregues no período estipulado e transferidas

para o laboratório para análise. Os valores > 250 ug/g foram considerados positivos para inflamação intestinal.

4.3.2 Teste respiratório com hidrogênio e metano exalados.

Um dia antes do TR, os pacientes foram instruídos a ingerir dieta pobre em fibras e carboidratos, e sem produtos lácteos. Depois de 12 horas de jejum, os pacientes foram orientados a escovar os dentes e lavar a boca com uma solução de clorexidine, pelo menos 2 horas antes do teste. Dessa forma, evitaram-se resultados falsos positivos decorrentes de níveis basais elevados de H₂ ou CH₄ por fermentação de bactérias da cavidade oral (GASBARRINI et al., 2009). Os pacientes foram orientados a evitar a fumar cigarro e/ou realizar atividade física 2 horas antes e no decorrer do teste, impedindo qualquer influência respiratória nos níveis de H₂/CH₄ expirados.

Os testes foram executados, por um mesmo profissional (JERJ), utilizando-se uma solução contendo 50 gramas de glicose em 200 ml de água. Uma primeira amostra de ar exalado em jejum era coletada em bolsa plástica e depois se seguia a administração do substrato. Novas amostras eram coletadas com um intervalo de 15 minutos na primeira hora e de 30 minutos na segunda hora, num total de sete amostras por paciente, num período de 120 minutos. As amostras foram então submetidas à leitura pelo aparelho BreathTracker DP® (Quintron Instrument Company, Milwaukee – WI, EUA). A presença de SCBID foi definida pelo aumento de H₂ e/ou CH₄ exalados superior a 12 ppm em relação ao valor basal, em pelo menos duas amostras consecutivas.

4.4 Análise estatística

A análise estatística foi realizada usando SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL, EUA). As variáveis quantitativas foram expressas como mediana e variação ou como média ± desvio padrão quando normalmente distribuídas e as variáveis categóricas são expressas como número e porcentagem de pacientes. A estatística descritiva para todas as variáveis relevantes para os grupos foi calculada. Para análise dos dados, os pacientes foram divididos em dois grupos (indivíduos com e sem SCBID) de acordo com os seus TR. As comparações entre grupos, bem como possíveis

relações entre a presença de SCBID com características sócio-demográficas, dados relacionados à DC e biomarcadores inflamatórios foram analisados utilizando-se o teste *t* Student, teste do qui-quadrado, ou o teste de Mann-Whitney *U*, quando apropriado. A regressão logística uni e multivariada foi realizada para identificar preditores independentes para o diagnóstico de SCBID em todo o grupo com DC. As variáveis independentes foram primeiramente avaliadas através de análise univariada utilizando o teste *t* de Student para variáveis contínuas e qui-quadrado ou o teste exato de Fisher para as variáveis categóricas. As variáveis que se mostraram significantes na associação com o SCBID pela análise univariada, foram introduzidas no modelo de regressão para análise multivariada. Os resultados são apresentados como *odds ratio* (OR) e 95% intervalos de confiança (IC). Para efeito de comparação, o nível de significância estatística foi estabelecido em $P < 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e a discussão são apresentados no formato do artigo científico a seguir. Este artigo foi submetido à revista indexada conforme norma do programa.

Small intestinal bacterial overgrowth is associated with concurrent intestinal inflammation but not with systemic inflammation in Crohn's disease patients

José Eugênio Rios Ricci Júnior, MD,¹ Liliana Andrade Chebli, MD, PhD,¹ Tarsila Campanha da Rocha Ribeiro, MD, PhD,¹ Antonio Carlos Santana Castro, PhD,¹ Pedro Duarte Gaburri, MD,¹ Fabio Heleno de Lima Pace, MD, PhD,¹ Kátia Valéria Bastos Dias Barbosa, MD, PhD, ¹ Lincoln Eduardo Vilela Vieira de Castro Ferreira, MD, PhD,¹ Maria do Carmo Friche Passos, MD, PhD,² Carla Malaguti, PhD,¹ Álvaro Henrique de Almeida Delgado, MD,¹ Jacqueline Delgado Campos, MD,¹ André Rennó Coelho, MD,¹ and Julio Maria Fonseca Chebli, MD, PhD¹

1. Division of Gastroenterology, Department of Medicine, Inflammatory Bowel Diseases Center, University Hospital of the Federal University of Juiz de Fora, University of Juiz de Fora School of Medicine, Minas Gerais, Brazil.

2. Division of Gastroenterology, Department of Medicine, Federal University of Minas Gerais, Brazil

Conflicts of Interest and Source of Funding: J.M.F. Chebli has served as speaker for Abbott, Abbvie, and Janssen. For the remaining authors none were declared. The authors confirm that this article content has no conflicts of interest. This study was partly supported by a clinical research fund from the CNPq and FAPEMIG, Brazil.

Correspondence to:

Julio Maria Fonseca Chebli, MD, PhD.

Rua Maria José Leal, 296, Juiz de Fora, MG, Brazil – CEP 36036-247

Tel / Fax: +55 (32) 21023841, E-mail: chebli@globo.com

ABSTRACT

Goals: We studied the prevalence and predictors of small intestinal bacterial overgrowth (SIBO) in Crohn's disease (CD) outpatients as well as the relationship between SIBO and intestinal and/or systemic inflammation

Background: The relationship of SIBO with systemic and intestinal inflammation in CD patients is unclear.

Study: In this cross-sectional study, between June 2013 and January 2015, 92 CD patients and 97 controls with non-chronic gastrointestinal complaints were assessed for presence of SIBO using the hydrogen/methane glucose breath test. Multivariate logistic regression was performed to investigate the potential association between SIBO and demographic, disease-related data, systemic markers of inflammation (C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate), and biomarker of intestinal inflammation (fecal calprotectin concentration [FCC]).

Results: The SIBO rate was significantly higher in CD patients than in the controls (32.6% vs. 12.4%, respectively, $P=0.0008$). Patients with and without SIBO were comparable according to demographics, systemic inflammatory biomarkers, and disease characteristics, except to the stricturing phenotype more common in the SIBO-positive CD patients (43.3% vs. 19.3%, $P=0.015$). Notably, FCC was significantly higher in SIBO-positive patients (median of 485.8 vs. 132.7 $\mu\text{g/g}$; $P = 0.004$). Patients presenting increased FCC and stricturing disease had an odds of 9.43 (95% CI, 3.04-11.31; $P < 0.0001$) and 3.83 (95% CI, 1.54-6.75; $P=0.025$) respectively, for SIBO diagnosis.

Conclusions: In CD patients, SIBO is a highly prevalent condition. Stricturing phenotype and increased FCC were strongly and independently associated with the presence of SIBO. SIBO diagnostic work-up followed by directed treatment is recommended in CD patients, especially if stricturing disease or concurrent intestinal inflammation is present.

KEYWORDS: inflammatory bowel disease; Crohn's disease; small intestinal bacterial overgrowth; calprotectin; inflammation

INTRODUCTION

Small intestinal bacterial overgrowth (SIBO) is featured by an abnormal proliferation of bacterial species in the small bowel, frequently associated with several gastrointestinal symptoms.¹ The gold standard test for diagnosis of SIBO is aspiration of small intestinal fluid and culture.² However, aspiration of jejunal fluid is both cumbersome and invasive, limiting their use more extensively. Conversely, hydrogen breath tests are noteworthy alternatives to intubation tests for SIBO diagnosis.³ Breath tests rely upon the capacity of colonic bacteria to metabolize non-absorbed carbohydrate to hydrogen (H₂) and/or methane (CH₄) gas which is promptly absorbed across the intestinal epithelium and eventually excreted in exhaled air.⁴ Currently, the two main tests used in clinical practice are the H₂ glucose breath test (GBT) and lactulose breath test, with the former having a greater diagnostic accuracy than the latter.⁵

Crohn's disease (CD) is a chronic, transmural immune-mediated inflammatory bowel disease that affects the gastrointestinal tract, with potential extraintestinal complications involving several organ systems.⁶ SIBO appears to be common condition in patients with CD. This is in part due to strictures, fistulas, reduced intestinal motility, and past intestinal resection.^{3,7} Nonetheless, SIBO may be overlooked due to both bacterial overgrowth may be fully asymptomatic and symptoms compatible with SIBO are frequently similar to those of the underlying CD, sometimes even mimicking an acute flare.⁸ This peculiarity has an implication for decision-making in clinical practice because SIBO can be treated with a course of antimicrobial therapy, whereas a flare-up of CD usually will need steroids or biologic agents.⁹ Additionally, in setting of CD complicated with SIBO, the latter can lead to small bowel mucosal disturbances with both brush border defects and bile acid deconjugation sometimes eliciting or worsening fat malabsorption, micronutrients deficiencies, anemia, and weight loss.¹⁰

Several studies using breath test have reported the overall rate of SIBO in patients with CD to be between 17% and 45%.^{7-9,11-13} However, different demographic, socioeconomic, and disease-related factors may exist between South American and North American or European populations that may limit the generalization of these findings, as the data are mainly derived from North American or European studies. In particular, the correlation between SIBO with intestinal and systemic inflammation

assessed by inflammatory biomarkers measured in the serum and stool was reported on only one study that included a limited CD population size.¹³ The purpose of this study was to assess the prevalence and predictors of SIBO in CD outpatients. We also seek to verify SIBO's correlation with concomitant gut and/or systemic inflammation using surrogate inflammatory markers.

MATERIALS AND METHODS

Study design

We conducted between June 2013 and January 2015 a cross-sectional cohort study of adult outpatients with CD from an Inflammatory Bowel Disease Center at the University Hospital of the Federal University of Juiz de Fora, Brazil, that were enrolled consecutively into this study for evaluation of SIBO.

Recruitment of patients

Our goal was to recruit 95 CD patients, nearly 15% of the CD cohort followed in our Center. The diagnosis of CD was confirmed by combinations of clinical, radiologic, endoscopic, and histopathological criteria generally accepted for CD.¹⁴ Patients were excluded if they were younger than 18 or presented a severe disease requiring hospitalization or immediate surgery.

Patients were also considered ineligible if they had a history of upper gastrointestinal surgery, multiple intestinal surgeries (except one ileocecal resection or partial colectomy), bowel preparation for colonoscopy within 4 weeks preceding study inclusion, presence of stoma, irritable bowel syndrome, short bowel syndrome, hepatic disease, chronic pancreatitis, diabetes mellitus, immunodeficiency syndromes, connective tissue disorders, end-stage renal disease, neurologic diseases, or if had taken antibiotics, probiotics, or PPI within 4 weeks preceding the test. Pregnant women or nursing mothers were not selected.

Controls were consecutive individuals with nonspecific, non-chronic (duration < 3 months) gastrointestinal complaints attending for the first time at our gastroenterology outpatient's clinic, and willing to take part in the study. Our goal was to enroll at least 95 controls individuals giving informed consent and without presenting items defined as exclusion criteria. The study protocol was defined in accordance with the Declaration of Helsinki and was approved by our Institutional

Ethics Committee. All patients signed a freely informed consent form before being admitted to the study.

Measurements and Outcomes

Demographic and disease-related characteristics

At entry, the eligibility criteria were assessed and medical history was recorded. Patient's relevant data included age, gender, body mass index (BMI), and smoking status. The disease-associated variables recorded were duration of disease, location and phenotype of CD according to the Montreal classification.¹⁵ CD activity, current therapy, and CD-related surgical history. The clinical indices, Crohn's disease activity Index (CDAI) and Harvey-Bradshaw Index (HBI) were used to quantify CD activity. Thus, a CDAI score below 150 indicated remission and higher scores active disease; an HBI score ≥ 5 indicated active disease.

The presence of the symptoms consistent with SIBO such as diarrhea (≥ 3 loose or liquid stools per day), abdominal pain, bloating, and flatulence was checked out using a structured clinical questionnaire during the initial appointment. To assess systemic inflammation, C-reactive protein (CRP) concentration and erythrocyte sedimentation rate (ESR) were conducted on plasma obtained on the day of SIBO testing. ESR elevation $>20/h$ and CRP cut-off > 5 mg/dL were regarded as increased; to determine intestinal inflammation, stool samples were collected from each patient on the same occasion as SIBO testing and subsequently analyzed for fecal calprotectin concentration (FCC) via ELISA. Patients were instructed to collect the sample at home and have them stored in a refrigerator at 2°C - 8°C for up to 5 days. Samples were delivered on the time period and transferred to the study laboratory for analysis. The values >250 $\mu\text{g/g}$. were considered as increased.

Glucose hydrogen breath test

One day before the GBT, patients were instructed to eat a low fiber and carbohydrate diet without dairy products. After an overnight fast, patients were asked to brush their teeth and to wash their mouth with a chlorhexidine solution, at least 2 h before the test to avoid false-positive high basal levels from fermentation of substrate by oral bacteria.¹⁶ Patients were asked to refrain from any exercise and smoke cigarette 2 hours before and throughout the test to avoid possible influence on the breath H₂ levels. On the test day, after providing a baseline breath sample, the patient ingested

50 g of glucose in 200 mL of water, and expired air samples were then taken every 15 min during 120 minutes.¹⁶ The samples were collected in a bag and breath H₂ and CH₄ levels were measured by gas chromatography (QuinTron Instrument Company, Milwaukee, WI, USA). An increase in exhaled breath H₂ and/or CH₄ concentration ≥ 12 parts per million (ppm) from fasting baseline value on two consecutive samplings within 2 h was considered as test positivity for SIBO.^{11,17,18}

Statistical analysis

The statistical analysis was performed using SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). Continuous variables are presented as medians and ranges or as the mean \pm SD and categorical variables are expressed as number and percentage of patients. Descriptive statistics of all relevant variables for the groups were calculated. For data analysis, the patients were divided into two groups (subjects with and without SIBO) according to their GBT testing. Comparisons between groups as well as possible relationships between the presence of SIBO and demographic, disease-related data, and inflammatory biomarkers were analyzed using Student's *t*-test, chi-squared test, or the Mann-Whitney *U* test, as appropriate. Univariate and multivariate logistic regression was performed to identify independent predictors for diagnosis of SIBO in the whole CD group.

Independent variables were first analyzed with univariate analysis using the Student's *t*-test for continuous variables and chi-squared or Fisher's Exact test for categorical variables. Variables shown by univariate analysis to be significantly associated with SIBO were introduced in the regression model for multivariate analysis. The results are presented as odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI). For comparison, the level of statistical significance was set at $P < 0.05$ and all reported *P* values are two-tailed.

RESULTS

Study Population

A total of 97 adult CD patients were invited to participate in the study. Of these, 5 (5.1%) patients were not enrolled because they did not satisfy the eligibility criteria. Thus, 92 patients (34 males, 58 females, mean age 39.7 ± 12.5 years) were prospectively included. Of the 103 control patients who consulted the gastroenterology clinic during the enrolment period, 3 were later found to be ineligible

and 3 declined to participate in the process due to lack of interest. The control group included 97 patients (40 men, 57 women; mean age 37.6 ± 14.2 years). The Crohn's and control groups were comparable according to demographics. Diarrhea and abdominal pain were significantly more common in the patients with CD than in the control population (34.8% vs. 4.1%, $P < 0.0001$ and 34.8% vs. 20.6; $P = 0.029$, respectively) (Table 1).

Hydrogen and methane levels for GBT

The proportion of CD patients with SIBO was significantly higher than in the controls (30/92, 32.6% vs. 12/97, 12.4%; $P = 0.0008$). Mean baseline H₂ and CH₄ levels for GBT were 7.4 ± 11.3 ppm and 5.2 ± 8.5 ppm and 5.9 ± 9.7 ppm and 6.7 ± 10.5 ppm in CD patients and controls, respectively ($P > 0.05$ for both comparisons); the mean peak H₂ excretion was 18.3 ± 48.7 in CD patients and 10.4 ± 21.7 ppm in controls ($P = 0.045$) and the mean peak CH₄ values were similar in CD and controls (9.8 ± 22.3 vs. 10.1 ± 27.3 ppm, respectively; $P = 0.63$) (Table 1). Mean baseline H₂ and CH₄ levels for GBT were 9.3 ± 15.4 ppm and 7.2 ± 11.5 ppm, respectively in SIBO-positive CD patients and 7.2 ± 13.4 ppm and 5.4 ± 8.9 ppm, respectively in SIBO-negative CD participants ($P > 0.05$ for both comparisons). While the mean peak H₂ excretion was 34.3 ± 76.8 in SIBO-positive CD patients and 10.3 ± 34.2 ppm in SIBO-negative CD subjects ($P = 0.001$), the former had a mean peak CH₄ values of 11.8 ± 19.3 ppm and the latter of 9.2 ± 24.7 ppm ($P = 0.64$) (Table 3).

Twenty one (70%) CD subjects were diagnosed with SIBO on the basis of increase in H₂ level alone, 4 (13.3%) with CH₄ level alone, and 5 (16.7%) with increase in both H₂ and CH₄ levels; four (33.3%) control individuals were diagnosed with a positive GBT on the basis of an increase in H₂ values, 6 (50%) with CH₄ level alone, and 2 (16.7%) with increase in both H₂ and CH₄ levels.

Association between SIBO and clinical data and inflammatory biomarkers in CD patients Table 2 summarizes the demographic and clinical characteristics of the Crohn's sample in relation to presence of SIBO. CD Patients with positive GBT results did not differ significantly from those with negative results in terms of demographics, BMI, smoking status, CD location, disease duration, prior intestinal resection, treatment with steroids, immunomodulators, or anti-TNF agent. Likewise, there was no statistically significant difference between SIBO-positive and

SIBO-negative patients in terms of mean CDAI (159 vs.148, respectively; $P=0.12$) and HBI score (4.3 vs.3.8, respectively; $P= 0.15$).Of subjects with SIBO, 25 (83.3%) had a CDAI score < 150 and 20 (66.7%) an HBI < 5 . By comparison, 56 (90.3%) patients without SIBO had a CDAI score < 150 and 48 (77.4%) an HBI < 5 ($P >0.05$ for both comparisons). In contrast, individuals with SIBO were significantly more likely to have stricturing phenotype than SIBO-negative patients (43.3% vs. 19.3%) while the latter had more frequently non-stricturing, non-penetrating disease than the former (43.3% vs. 66.1%, $P=0.0015$ for both comparisons).

The main reported symptoms present in patients with small bowel bacterial overgrowth were flatulence (60%), abdominal pain (46.7%), diarrhea (33.3%), and bloating (30%). All symptoms reported were comparable among patients with and without SIBO, except who SIBO- positive CD subjects showed a trend toward higher frequency of abdominal pain ($P=0.09$).

Nonetheless, our multivariate logistic regression model did not reveal a positive significant association between SIBO and either symptom.

Notably, the proportion of SIBO-positive patients with elevated FCC was significantly higher than in the SIBO-negative CD individuals (63.3% vs. 12.9%, respectively; $P<0.0001$).

Moreover, FCC was significantly higher in SIBO-positive CD patients compared to the SIBO- negative group (median of 485.8 versus 132.7 $\mu\text{g/g}$, respectively; $P = 0.004$). While SIBO- positive individuals had significantly increased marker of intestinal inflammation, there was no difference in C-reactive protein or ESR between the groups (Table 3). Univariate analysis found SIBO to be significantly associated to stricturing disease and increased FCC. Of note, multivariate analysis of the two significant variables determined by univariate analysis identified that the stricturing behavior (OR = 3.83, 95% CI = 1.54-6.75, $P = 0.025$) and increased FCC (OR = 9.43, 95% CI = 3.04-11.31, $P < 0.0001$) remained significantly and independently associated with the diagnosis of SIBO in our cohort of patients (Table 4).

DISCUSSION

The current study shows that SIBO is a highly prevalent condition in CD. In addition, stricturing disease and increased FCC were strong and independent predictors of SIBO.

Interestingly, SIBO was associated with concurrent intestinal inflammation but not with exacerbated systemic inflammation in CD individuals. To the best of our knowledge, this is the first study to show that SIBO is associated with underlying intestinal inflammation in this clinical scenario. SIBO was noted to occur more frequently in CD patients compared to controls ($P=0.0008$).

This finding is not surprising because on CD potential predisposing factors for SIBO such as gut dysmotility, stenosis, and enteroenteric fistulas commonly develop during the clinical course of CD.¹⁹ Moreover, the prevalence of SIBO among our CD patients (32.6%) is in accordance with the prevalence of SIBO ranging from 20% to 45.2% found on other studies,^{8,9,12,13} suggesting that SIBO is a commonplace complication in subjects with CD worldwide. In multivariate analysis we ratify a prior report that stricturing phenotype is associated with the presence of SIBO.²⁰ Indeed, patients that presented with stricturing phenotype had an odds of 3.83 (95% CI = 1.54-6.75, $P = 0.025$) for SIBO diagnosis. Stasis and prolonged transit of intestinal contents caused by stenosis might justify the appearance of SIBO in this clinical scenario. Conversely, in discordance with some studies^{7,13} we found no association between SIBO and previous intestinal resection.

Notwithstanding, Sánchez-Montes and colleagues¹¹ also reported that the prevalence of SIBO between patients who had not been surgically treated and those who had undergone surgery for CD was comparable. One possible explication for this conflicting finding is the fact that, in contrast with those studies^{7,13} in our research we exclude CD subjects with former multiple intestinal surgeries, which seem to be the main risk factor for SIBO development in patients operated on for CD.^{10,13} It is interesting to highlight that elevated FCC was positively associated to SIBO. In fact, study participants found to have increased FCC had an odds of 9.43 (95% CI, 3.04-11.31; $P < 0.0001$) for SIBO diagnosis, and in addition FCC was significantly higher in SIBO-positive CD subjects than in SIBO-negative patients ($P=0.004$). It is well known that calprotectin is a neutrophil-derived protein that, when increased in the stool, indicates intestinal inflammation.²¹

This finding is thought provoking and suggests that small intestinal inflammatory changes involving monocytes and neutrophils may occur at least in some patients with SIBO. In truth, a recent study evaluating SIBO and environmental enteropathy in children reported that markers of intestinal inflammation, i.e. fecal Reg 1 β and fecal calprotectin were elevated in SIBO-positive children, suggesting that overgrowth is

associated with intestinal inflammation.²² Besides, erosions or ulcers, likely due to bacterial overgrowth, have been observed on the small intestinal mucosal of patients with chronic intestinal dysmotility by means of capsule endoscopy.²³

Ultimately, a recent study found on patients with systemic sclerosis a strong association between abnormal levels of fecal calprotectin and the presence of SIBO on GBT, with the higher correlation between the presence of SIBO and the FCC \geq 275 $\mu\text{g/g}$.²⁴ On the other hand, two earlier studies failed to demonstrate FCC elevations in children²⁵ or adults²⁶ affected by SIBO.

Nonetheless, both studies enclosed a limited number of patients (58 and 40 patients, respectively) suggesting that these studies were underpowered. Another aspect which should not be overlooked is that we may not exclude mild activity of CD as a cause for increased FCC in this clinical setting, although other parameters used for evaluating CD activity (CDAI, HBI, ESR and CRP) in our study were similar on individuals with and without SIBO. Besides, most patients with SIBO had CDAI $<$ 150 or an HBI score less than 5, generally considered to represent clinical remission.

However, we did not assess endoscopic mucosal healing for ruling out intestinal activity in this CD population. Despite these reservations, from the clinician's point of view, our data suggest that in CD patients, particularly those in clinical remission that present concurrent intestinal inflammation disclosed by increased FCC, the suspicion of underlying SIBO should be raised, which should be looked for carefully. Future research assessing FCC before and after antibiotic therapy for patients with SIBO complicating CD in sustained remission is required for elucidating this topic. In the meanwhile, we hypothesize that there may be a bidirectional pathogenic relationship between CD and SIBO. So, intestinal inflammation and/or stenosis due to CD might lead to intestinal dysmotility or stasis predisposing to the development of SIBO. Interchangeably,

SIBO could trigger an underlying inflammatory response localized in the small intestine complicating or exacerbating the course of CD, in a manner analogous to the role of SIBO in the development of severe small intestinal damage in chronic NSAID users.²⁷

It is worth to pinpoint that there was no difference in CRP levels or ESR between the CD groups with and without SIBO, suggesting that SIBO is not associated with systemic inflammation in CD. Albeit SIBO is associated with increased serum endotoxins and bacterial products which stimulate the release of pro-inflammatory

cytokines²⁸ it is possible that the magnitude of this cytokine secretion is modest and not sufficient to elicit a systemic inflammatory response.

Our multivariate logistic regression model did not reveal a positive significant association of any symptom with SIBO. Other studies have assessed the clinical usefulness and predictive value of symptoms associated with SIBO in several clinical settings.^{13,29,30} These studies also concluded that symptoms are both non-specific and inaccurate in the diagnosis of SIBO among those patients with or without SIBO. Thus, at this time, the appraisal of clinical symptom profiles cannot be used to accurately diagnose SIBO in CD subjects.

There are several methodological issues related to the current study that may require the results to be reproduced independently. Firstly, the clinical course of SIBO in CD individuals is unknown. For instance, it may be present until be treated as a flare from CD. Alternatively, SIBO may have a waxing and waning natural history.^{3,12} Hence a cross-sectional investigation that detects SIBO on CD patients only at the occasion of GBT may mistake patients who have had preceding SIBO in their lifetime. Another drawback of our research is that the accuracy of GBT for SIBO diagnosis is only around 70% compared with aspiration and culture of the small bowel contents, which remain the gold standard for diagnosis of SIBO.¹⁶ Therefore, we cannot rule out the presence of false-negative results having employed GBT. Nonetheless, it should be acknowledged that, as opposed to breath testing, small bowel aspiration is time-consuming, costly, and invasive, often not available in everyday clinical practice.^{3,16} Instead, the quantification of breath H₂ and CH₄ excretion using GBT remains, nowadays, the most useful, simple, inexpensive, noninvasive, and broadly available test for the diagnosis of SIBO.^{4,10,16} Importantly, in our series we excluded CD patients with surgery on esophagus, stomach, or small bowel (except those with ileocecal resection), which may have a high rate of false-positive results from GBT for SIBO because of rapid intestinal transit.³¹ It should furthermore be emphasized that in our study we measure both gases (H₂ and CH₄) in breath samples enhancing the sensitivity of GBT for detecting SIBO.^{5,16} It is worthwhile noting that 8% to 27% of human subjects did not have detectable hydrogen production from their gut microbiota, but rather produced methane.^{16,32} Indeed, in our study, 4 (13%) CD patients were diagnosed with SIBO on the basis of increase in CH₄ level alone.

Thirdly, the burden of SIBO found in our study may not completely reflect the true prevalence of SIBO in the CD subjects receiving community-based health care. In the present study, the patients with CD were in a tertiary referral center, which makes them more likely to be a more ill group of CD individuals than those who would be seen in a community setting. Indeed, it is generally accepted that patients with more severe disease (especially with stricturing phenotype) are more likely to develop SIBO.^{11,20} This might bias the results toward a higher prevalence than those in the CD population in general. In this manner, our results should be interpreted in the appropriate context. Lastly, further studies will need to employ prospective longitudinal designs to assess whether the presence of silent SIBO in CD subjects leads to later metabolic or nutritional derangements. Of course, if this is the case, periodic screening followed by the appropriate treatment for SIBO should be carried out routinely as part of quality of care improvement in CD individuals.

In summary, SIBO is a highly prevalent complication in CD. Stricturing phenotype and increased FCC were strong and independent predictors of SIBO in this setting. SIBO diagnosis was associated with underlying intestinal inflammation but not with systemic inflammation in CD subjects. Clinicians need to be cognizant of this diagnosis, particularly on CD patients with concurrent intestinal inflammation and in those that present stricturing disease. An individualized screening plan followed by the timely treatment for SIBO should be carried out as part of quality of care improvement in CD individuals.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Fernando Antonio Basile Colugnati for excellent statistical assistance. This study was partly supported by a clinical research fund from the CNPq and FAPEMIG, Brazil.

REFERENCES

1. Sachdev AH, Pimentel M. Gastrointestinal bacterial overgrowth: pathogenesis and clinical significance. *Ther Adv Chron Dis*. 2013;4:223-231.
2. Erdogan A, Rao SS, Gulley D, et al. Small intestinal bacterial overgrowth: duodenal aspiration vs glucose breath test. *Neurogastroenterol Motil*. 2015;27:481-489.

3. Rezaie A, Pimentel M, Rao SS. How to Test and Treat Small Intestinal Bacterial Overgrowth: an Evidence-Based Approach. *Curr Gastroenterol Rep.* 2016;18:8.
4. Khoshini R, Dai SC, Lezcano S, et al. A systematic review of diagnostic tests for small intestinal bacterial overgrowth. *Dig Dis Sci.* 2008;53:1443-1454.
5. Grace E, Shaw C, Whelan K, et al. Review article: small intestinal bacterial overgrowth-prevalence, clinical features, current and developing diagnostic tests, and treatment. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013;38:674-688.
6. Chebli JM, Gaburri PD, Chebli LA, et al. A guide to prepare patients with inflammatory bowel diseases for anti-TNF- α therapy. *Med Sci Monit.* 2014; 20:487-498.
7. Castiglione F, Del Vecchio Blanco G, Rispo A, et al. Orocecal transit time and bacterial overgrowth in patients with Crohn's disease. *J Clin Gastroenterol.* 2000; 31:63-66.
8. Klaus J, Spaniol U, Adler G, et al. Small intestinal bacterial overgrowth mimicking acute flare as a pitfall in patients with Crohn's Disease. *BMC Gastroenterol.* 2009; 9: 61.
9. Rana SV, Sharma S, Malik A, et al. Small intestinal bacterial overgrowth and orocecal transit time in patients of inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci.* 2013;58:2594-2598.
10. Bures J, Cyrany J, Kohoutova D, et al. Small intestinal bacterial overgrowth syndrome. *World J Gastroenterol.* 2010;16:2978-2990.
11. Sánchez-Montes C, Ortiz V, Bastida G, et al. Small intestinal bacterial overgrowth in inactive Crohn's disease: influence of thiopurine and biological treatment. *World J Gastroenterol.* 2014; 20:1399-4003.

12. Castiglione F, Rispo A, Di Girolamo E, et al. Antibiotic treatment of small bowel bacterial overgrowth in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003;18:1107-1112.
13. Greco A, Caviglia GP, Brignolo P, et al. Glucose breath test and Crohn's disease: Diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth and evaluation of therapeutic response. *Scand J Gastroenterol.* 2015;50:1376-1381.
14. Van Assche G, Dignass A, Panes J, et al. The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Definitions and diagnosis. *J Crohns Colitis.* 2010;4:7-27.
15. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol.* 2005;19 (Suppl A):5A-36A.
16. Gasbarrini A, Corazza GR, Gasbarrini G, et al. Methodology and indications of H₂-breath testing in gastrointestinal diseases: the Rome Consensus Conference. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009;29 (Suppl 1):1-49.
17. Kerlin P, Wong L. Breath hydrogen testing in bacterial overgrowth of the small intestine. *Gastroenterology.* 1988; 95:982-8.
18. Ghoshal UC, Ghoshal U, Das K, et al. Utility of hydrogen breath tests in diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth in malabsorption syndrome and its relationship with oro-cecal transit time. *Indian J Gastroenterol.* 2006; 25:6-10.
19. Freeman HJ. Natural history and long-term clinical course of Crohn's disease. *World J Gastroenterol.* 2014;20:31-36.
20. Mishkin D, Boston FM, Blank D, et al. The glucose breath test: a diagnostic test for small bowel stricture(s) in Crohn's disease. *Dig Dis Sci.* 2002; 47:489-494.

21. Lin JF, Chen JM, Zuo JH, et al. Meta-analysis: fecal calprotectin for assessment of inflammatory bowel disease activity. *Inflamm Bowel Dis*. 2014;20:1407-1415.
22. Donowitz JR, Haque R, Kirkpatrick BD, et al. Small Intestine Bacterial Overgrowth and Environmental Enteropathy in Bangladeshi Children. *MBio*. 2016;7:1-7.
23. Hoog CM, Lindberg G, Sjoqvist U. Findings in patients with chronic intestinal dysmotility investigated by capsule endoscopy. *BMC Gastroenterol*. 2007;7: 29.
24. Marie I, Leroi AM, Menard JF, et al. Fecal calprotectin in systemic sclerosis and review of the literature. *Autoimmun Rev*. 2015;14:547-554.
25. Fundarò C, Fantacci C, Ansuini V, et al. Fecal calprotectin concentration in children affected by SIBO. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2011;15:1328-1335.
26. Montalto M, Santoro L, Dalvai S, et al. Fecal calprotectin concentrations in patients with small intestinal bacterial overgrowth. *Dig Dis*.2008;26:183-186.
27. Muraki M, Fujiwara Y, Machida H, et al. Role of small intestinal bacterial overgrowth in severe small intestinal damage in chronic non-steroidal anti-inflammatory drug users. *Scand J Gastroenterol*. 2014;49:267-273.
28. Shanab AA, Scully P, Crosbie O, et al. Small intestinal bacterial overgrowth in nonalcoholic steatohepatitis: association with toll-like receptor 4 expression and plasma levels of interleukin 8. *Dig Dis Sci*. 2011;56:1524-1534.
29. Jacobs C, Coss Adame E, Attaluri A, et al. Dysmotility and proton pump inhibitor use are independent risk factors for small intestinal bacterial and/or fungal overgrowth. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013;37:1103-1111.
30. Signoretti M, Stigliano S, Valente R, et al. Small intestinal bacterial overgrowth in patients with chronic pancreatitis. *J Clin Gastroenterol*. 2014;48 (Suppl 1):S52-S55.

31. Lin EC, Massey BT. Scintigraphy demonstrates high rate of false-positive results from glucose breath tests for small bowel bacterial overgrowth. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2016;14:203-208.

32. Triantafyllou K, Chang C, Pimentel M. Methanogens, methane and gastrointestinal motility. *J Neurogastroenterol Motil.* 2014;20:31-40.

Table 1- Demographics, baseline symptoms and GBT for SIBO in Crohn's disease patients and controls

	Crohn's disease (n = 92)	Controls (n = 97)	<i>P</i>
Gender (M:F)	34:58	40:57	0.81
Age (yr) *	39.7±12.5	37.6±14.2	0.49
BMI (kg/m ²)*	24.9±5.8	25.2±4.7	0.74
Active smokers n (%)	5 (5.4)	4 (4.1)	0.67
Symptoms (multiple responses possible) n (%)			
Abdominal pain	32(34.8)	20 (20.6)	0.029
Bloating	32(34.8)	32 (33)	0.79
Flatulence	47 (51.1)	36 (37.1)	0.06
Diarrhea	32 (34.8)	4 (4.1)	
	<0.0001		
GBT			
SIBO n (%)	30 (32.6)	12 (12.4)	0.0008
Baseline H ₂ level (ppm)*	7.4±11.3	5.9±9.7	0.32
Baseline CH ₄ level (ppm)*	5.2 ±8.5	6.7 ±10.5	0.39
H ₂ peak level (ppm)*	18.3±48.7	10.4±21.7	0.035
CH ₄ peak level (ppm)*	9.8±22.3	10.1±27.3	0.63

*- Mean ± standard deviation

Abbreviations: GBT= hydrogen glucose breath test; SIBO= small intestinal bacterial overgrowth; BMI= body mass index; H₂= breath hydrogen; CH₄= breath methane

Table 2- Demographic and clinical characteristics in Crohn's disease patients according to presence of SIBO

	SIBO (n = 30)	No SIBO (n = 62)	<i>P</i>
Gender (M:F)	12:18	22:40	0.41
Age (yr) *	39.4 ± 15.1	41.2 ± 12.3	0.59
BMI (kg/m ²) *	23.9± 4.8	26.6± 6.8	0.34
Active smokers n (%)	2 (6.7)	3 (4.8)	0.84
CD location (n) [L1/L2/L3]	15 /3 /12	25 /17 /20	0.67
CD behavior (n) [B1/B2/B3]	12/13/5	41/12/9	0.015
Disease duration (yr) *	5.4 ± 2.9	5.2 ± 2.7	0.91
CDAI*	159± 89	148± 93	0.12
CDAI > 150 n (%)	5 (16.7)	6 (9.7)	0.33
HBI*	4.3± 3.9	3.8± 2.7	0.15
HBI ≥ 5 n (%)	10 (33.3)	14 (22.6)	0.27
Previous resection n (%)	11 (36.7)	16 (25.8)	0.28
Symptoms (multiple responses possible) n (%)			
Abdominal pain	14 (46.7)	18 (29)	0.09
Bloating	9 (30)	23 (37)	0.50
Flatulence	18 (60)	29 (46.8)	0.23
Diarrhea	10 (33.3)	22 (35.4)	0.83
Current therapy n (%)			
Steroids	5 (16.7)	13 (20.9)	0.62
Immunomodulators	22 (73.3)	43 (69.3)	0.85
Anti-TNF agent	8 (26.7)	16 (25.8)	0.95

*- Mean ± standard deviation

Abbreviations: SIBO= small intestinal bacterial overgrowth; BMI= body mass index; CD= Crohn's disease; L1= ileal; L2= colonic; L3= ileocolonic; B1= non-stricturing, non-penetrating; B2= stricturing; B3= penetrating; CDAI= Crohn's disease activity Index; HBI = Harvey-Bradshaw Index;

Table 3– Baseline inflammatory biomarkers and GBT in Crohn’s disease patients according to presence of SIBO

	SIBO (n = 30)	No SIBO (n = 62)	<i>P</i>
CRP (mg/L) †	1.2 (0.5-18)	1.4 (0.5-30)	0.74
CRP > 5 mg/L n (%)	7 (23.3)	12 (19,3)	0.65
ESR (mm/h) †	10 (5-40)	12 (2-80)	0.63
ESR >20/h n (%)	9 (30)	14 (22.6)	0.44
FCC (µg/g) †	485.8 (40–1100)	132.7 (20–445)	0.004
FCC > 250 µg/g n (%)	19 (63.3)	8 (12.9)	<0.0001
GBT			
Baseline H ₂ level (ppm)*	9.3±15.4	7.2±13.4	0.38
Baseline CH ₄ level (ppm)*	7.2 ±11.5	5.4 ±8.9	0.40
H ₂ peak level (ppm)*	34.3±76.8	10.3±34.2	0.001
CH ₄ peak level (ppm)*	11.8±19.3	9.2±24.7	0.64

† - Median (range); *- Mean ± standard deviation

Abbreviations: GBT= hydrogen glucose breath test; SIBO= small intestinal bacterial overgrowth; CRP= C-reactive protein; ESR= erythrocyte sedimentation rate; FCC= fecal calprotectin concentration; H₂= breath hydrogen; CH₄= breath methane

Table 4- Univariate and multivariate logistic regression analysis examining factors associated with SIBO in Crohn's disease patients

Factors predicting SIBO	Univariate OR (95% CI)	<i>P</i> value	Multivariate OR (95% CI)	<i>P</i> value
Gender	1.58 (0.70–3.57)	0 .26	—	
Age	0.74 (0.35–1.59)	0.44	—	
Active smokers	0.91 (0.43–1.95)	0 .81	—	
CD location				
Ileal	1.82 (0.68–4.83)	0 .22	—	
Colonic	2.27 (0.51–6.08)	0 .27	—	
Ileocolonic	0.89 (0.42–1.90)	0 .78	—	
CD phenotype				
Inflammatory	1.82 (0.68–4.83)	0 .22		
Stricturing	3.44 (1.92–6.17)	0.013	3.83 (1.54–6.75)	
Penetrating	0.49 (0.20 –3.17)	0 .25		
Disease duration	0.82 (0.68–4.83)	0 .42	—	
CDAI > 150	0.54 (0.38–2.83)	0 .31	—	
HBI ≥ 5	1.82 (0.47–3.21)	0 .54	—	
CRP > 5 mg/L	1.06 (0.32–4.83)	0 .18	—	
ESR >20/h	0.95 (0.58–6.23)	0 .26	—	
FCC > 250 µg/g <0.0001	7.21 (1.09–24.85)	0.0001	9.43 (3.04–11.31)	
Previous resection	1.42 (0.38–4.83)	0 .11	—	
Current therapy				
Steroids	0.92 (0.38–2.83)	0 .14	—	
Immunomodulators	1.81 (0.91–6.43)	0 .11	—	
Anti-TNF agent	0.82 (0.43–7.83)	0 .17	—	
Abdominal pain	0.96 (0.85–2.33)	0 .10	—	
Flatulence	1.81 (0.88–7.83)	0 .11	—	
Diarrhea	0.92 (0.21–6.03)	0 .59	—	

Abbreviations: SIBO= small intestinal bacterial overgrowth; CD= Crohn's disease; CDAI= Crohn's disease activity Index; HBI = Harvey-Bradshaw Index; CRP= C-reactive protein;

ESR= erythrocyte sedimentation rate; FCC= fecal calprotectin concentration; OR= Odds ratio;
CI = confidence interval

6. CONCLUSÕES

O SCBID é uma complicação altamente prevalente (32,6%) em pacientes com DC.

O fenótipo fibroestenosante e a concentração elevada de CF foram fortes e independentes preditores de SCBID neste cenário clínico.

O diagnóstico de SCBID foi associado com inflamação intestinal subjacente, mas não com inflamação sistêmica em pacientes com DC.

REFERÊNCIAS

- ARUMUGAM M et al. Enterotypes of the human gut microbiome. **Nature**, London, v. 473, n. 7346, p. 174–180, 2011.
- BAUMGART DC, SANDBORN WJ. Crohn's disease. **Lancet**, London, v. 380, n. 9853, p. 1590-605, 2012.
- BOHM M, SIWIEC RM, WO JM. Diagnosis and Management of Small Intestinal Bacterial Overgrowth. **Nutrition in Clinical Practice**, Baltimore, v. 28, n. 3, p. 289-299, 2013.
- BURES J et al. Small intestinal bacterial overgrowth syndrome. **World journal of gastroenterology**, Beijing, v. 16, n. 24, p. 2978-2990, 2010.
- CAMP JG et al. Patterns and scales in gastrointestinal microbial ecology. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 136, n. 6, p. 1989-2002, 2009.
- CASTIGLIONE F et al. Orocecal Transit Time and Bacterial Overgrowth in Patients with Crohn's Disease. **Journal of Clinical Gastroenterology**, New York, v. 31, n. 1, p. 63-66, 2000.
- CASTIGLIONE F et al. Antibiotic treatment of small bowel bacterial overgrowth in patients with Crohn's disease. **Alimentary pharmacology and therapeutics**, Oxford, v. 18, n. 11-12 p.1107-1112, 2003.
- CHOW J et al. Host bacterial symbiosis in health and disease. **Advances in immunology**, New York, v. 107, p. 243–274, 2010.
- CLEMENTE JC et al. The Impact of the Gut Microbiota on Human Health: An Integrative View. **Cell**, Cambridge, v. 148, n. 6, p. 1258-70, 2012.

COMPARE D et al. Effects of long-term PPI treatment on producing bowel symptoms and SIBO. **European Journal of Clinical Investigation**, Berlin, v. 41, n. 4, p. 380-386, 2011.

DE LACY COSTELLO BP, LEDOCHOWSKI M, RATCLIFFE NM. The importance of methane breath testing: a review. **Journal of Breath Research**, Bristol, v. 7, n. 2, p. 024001, 2013.

DESCOMBE JJ et al. Pharmacokinetic study of rifaximin after oral administration in healthy volunteers. **International journal of clinical pharmacology research**, Geneva, v. 14, n.2, 51–56, 1994.

DUSEJA A, CHAWLA YK. Obesity and NAFLD: The Role of Bacteria and Microbiota. **Clinics in liver disease**, Philadelphia, v. 18, n. 1, p. 59-71, 2014.

FREEMAN HJ. Long-term natural history of Crohn's disease. **World Journal of Gastroenterology**, Beijing, v. 15, n. 11, p. 1315 – 1318, 2009.

FUNAYAMA Y et al. Monitoring and antibacterial treatment of postoperative bacterial overgrowth in Crohn's disease. **Diseases of the Colon & Rectum**, Minnesota, v. 42, n. 8, p. 1072-1077, 1999.

GABBARD SL, LACY BE. Chronic intestinal pseudo-obstruction. **Nutrition in Clinical Practice**, Baltimore, v. 28, n. 3, p. 307-316, 2013.

GABRIELLI M et al. Prevalence of small intestinal bacterial overgrowth in Parkinson's disease. **Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society**, New York, v. 26, n. 5, p. 889–92, 2011.

GHOSHAL UC et al. Chronic diarrhea and malabsorption due to hypogammaglobulinemia: a report on twelve patients. **Indian Journal of Gastroenterology**, Bombay, v. 30, n. 4, p. 170-174, 2011.

GHOSHAL UC et al. The gut microbiota and irritable syndrome: friend or foe? **International Journal of Inflammation**, New York, v. 2012, p. 151085, 2012.

GIANNELLA JG; BROITMAN SA; ZAMCHECK N. Gastric acid barrier to ingested microorganisms in man: studies in vivo and in vitro. **Gut**. London, v. 13, n. 4, p. 251-256, 1972.

GRACE E et al. Review article: small intestinal bacterial overgrowth – prevalence, clinical features, current and developing diagnostic tests, and treatment. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, Oxford, v. 38, n. 7, p. 674-688, 2013.

GRECO A et al. Glucose breath test and Crohn's disease: Diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth and evaluation of therapeutic response. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Oslo, v. 50, n.11, p. 1376-81.

GROB, RL.; BARRY, EF. **Modern practice of gas chromatography**. 4 ed. John Wiley & Sons, 2004.

GUNNARSDOTTIR S et al. Small intestinal motility disturbances and bacterial overgrowth in patients with liver cirrhosis and portal hypertension. **The American Journal of Gastroenterology**, London, v. 98, p. 1362-70, 2003.

IIVONEN MK, AHOLA TO, MATIKAINEN MJ. Bacterial overgrowth, intestinal transit, and nutrition after total gastrectomy: comparison of a jejunal pouch with Roux-en-Y reconstruction in a prospective random study. **Scandinavian journal of gastroenterology**, Oslo, v. 33, n. 1, p. 63–70, 1998.

JANEVSKA D et. al. Small bowel diverticulosis as a cause of ileus: a case report. **Prilozi (Macedonian Academy of Sciences and Arts, Section of Biological and Medical Sciences)**, Skopje, v. 34, n. 1, p. 175-178, 2013.

KLAUS J et al. Small intestinal bacterial overgrowth mimicking acute flare as a pitfall in patients with Crohn's Disease. **BMC Gastroenterology**, London, v. 9, n. 60, p. 1-8, 2009.

KOO HL; DUPONT HL. Rifaximin: a unique gastrointestinal-selective antibiotic for enteric diseases. **Current Opinion in Gastroenterology**, Hagerstown, v. 26, p. 17-25, 2010.

LANÇAS FM.; MCNAIR HM. Cromatografia em fase gasosa. Teoria Elementar. **Química Nova**, v. 6, n. 1, p. 6-13, 1983.

LEE, JM et al. Clinical significance of the glucose breath test in patients with inflammatory bowel disease. **Journal of gastroenterology and hepatology**, Melbourne, v. 30, n. 6, p. 990-4, 2015.

LICHTENSTEIN GR et al. Management of Crohn's Disease in Adults. **The American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 104, n. 2, p. 465-483, 2009

LINDBERG DA. Hydrogen breath testing in adults: what is it and why is it performed? **Gastroenterology Nursing**, Oxford, v. 32, n. 1, p. 19-24, 2009.

LOBATÓN T et al. A new rapid test for fecal calprotectin predicts endoscopic remission and postoperative recurrence in Crohn's disease. **Journal of Crohn's and colitis**, Amsterdam, v. 7, n. 12, p. e641-51, 2013.

LOGAN AC, VENKET RAO A, IRANI D. Chronic fatigue syndrome: lactic acid bacteria may be of therapeutic value. **Medical Hypotheses**, New York, v. 60, n. 6, p. 915-23, 2003.

MACHADO MV, CORTEZ-PINTO H. Gut microbiota and nonalcoholic fatty liver disease. **Annals of hepatology**, Ciudad de Mexico, v. 11, n. 4, p. 440-9, 2012.

MADRID AM et al. Sobrecrecimiento bacteriano en trastornos funcionales del intestino. **Revista Médica de Chile**, Santiago, v. 135, n. 10, p. 1245-1252, 2007.

MANCILLA AC, et al. Sobrecrecimiento bacteriano intestinal en pacientes con pancreatitis crónica. **Revista Médica de Chile**, Santiago, v. 136, n.8, p. 976–80, 2008.

MISHKIN D et al. The glucose breath test: a diagnostic test for small bowel stricture(s) in Crohn's disease. **Digestive Diseases and Sciences**, New York, v 47, n. 3, p. 489-494, 2002.

MONTALVO II et al. Bacterial overgrowth secondary to intestinal diverticulosis. **Revista española de enfermedades digestivas**, Madrid, v. 87, n. 7, p. 535-537, 1995.

NASSIF PAN et al. Antroduodenal motility and pH changes after partial gastrectomy including the pacemaker region of the dog's stomach. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 49 n. 2, p. 196-202, 2003.

NEALE G et al. The metabolic and nutritional consequences of bacterial overgrowth in the small intestine. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 25, n.12, p. 1409-1417, 1972.

O'HARA AM; SHANAHAN F. The gut flora as a forgotten organ. **European Molecular Biology Organization reports**, London, v. 7, n. 7, p. 688-93, 2006.

OJETTI V et al. Small bowel bacterial overgrowth and type 1 diabetes. **European review for medical and pharmacological sciences**, Rome, v. 13, n. 6, p.419–23, 2009.

PARLESAK A et al. Prevalence of small bowel bacterial overgrowth and its association with nutrition intake in nonhospitalized older adults. **Journal of the American Geriatrics Society**, New York, v. 51, n. 6, p. 768-773, 2003.

PARODI A et al. Small intestinal bacterial overgrowth in patients suffering from scleroderma: Clinical effectiveness of its eradication. **The American journal of gastroenterology**, New York, v. 103, n. 5, p. 1257–1262, 2008.

PARODI A et al. H₂- breath testing for small-intestinal bacterial overgrowth.

Alimentary and Pharmacology Therapeutics, Oxford, v. 29, n. 1, p. 18-22, 2009.

PETRONE P et al. Small Intestinal Bacterial Overgrowth in Patients With Lower

Gastrointestinal Symptoms and a History of Previous Abdominal Surgery. **Archives of Surgery**, Chicago, v. 146, n. 4, p. 444-447, 2011.

PIGNATA C et. al. Jejunal bacterial overgrowth and intestinal permeability in children with immunodeficiency syndromes. **Gut**, London, v. 31, n. 8, p. 879-882, 1990.

PIMENTEL M, CHOW EJ, LIN HC. Eradication of small intestinal bacterial overgrowth reduces symptoms of irritable bowel syndrome. **The American journal of gastroenterology**, New York, v. 95, n. 12, p. 3503–6, 2000.

PONNUSAMY K et al. Microbial community and metabolic comparasion of irritable bowel syndrome faces. **Journal of Medical Microbiology**, Edinburgh, v. 60, n. 6, p. 817-827, 2011.

PONZIANI FR, GERARDI V, GASBARRINI A. Diagnosis and treatment of small intestinal bacterial overgrowth. **Expert review of gastroenterology and hepatology**, London, v. 10, n. 2, p. 215-227, 2016.

QUIGLEY E; ABU-SHANAB A. Small Intestinal Bacterial Overgrowth. **Infectious Disease Clinics of North America**, Philadelphia v. 24, p. 943-959, 2010.

RAIDER F. **Análise de Resíduos de Pesticidas**. Trabalho de conclusão de estágio na / EMBRAPA: Centro de Pesquisas Agropecuária do Oeste – CCPAO (Graduação em Química) - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados, MS, 2008. Disponível em: < <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAe8a8AG/comportamento-ambiental-pesticidas>>. Acessado em 30/12/13.

RANA S et al. Orocecal transit time and small intestinal bacterial overgrowth in type 2 diabetes patients from North India. **Diabetes technology and therapeutics**, Larchmont , v. 13, n. 11, p. 1115–20, 2011.

REZAIIE A; PIMENTEL M; RAO SS. How to Test and Treat Small Intestinal Bacterial Overgrowth: an Evidence-Based Approach. **Current gastroenterology reports**, Philadelphia, v. 18, n.16, p. 8, 2016.

RUTGEERTS P et al. Ileal dysfunction and bacterial overgrowth in patients with Crohn's disease. **The Journal of Clinical Investigation**, Oxford, v. 11, p. 199-206, 1981.

SANJEEV S et al. Small intestinal bacterial overgrowth (SIBO) in irritable bowel syndrome: Frequency and predictors. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, Melbourne, v. 26, n. 3, p. 135–138, 2011.

SATSANGI J et al. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. **Gut**, London, v. 55, n. 6, p. 749-753, 2006.

SEKIROV I et al. Gut microbiota in health and disease. **Physiological Reviews**, Bethesda, v. 90, n.3, p. 859-904, 2010.

SHEN S, WONG CH. Bugging inflammation: role of the gut microbiota. **Clinical and translational immunology**, London, v. 5, n. 4, p. e72, 2016.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE COLOPROCTOLOGIA, COLÉGIO BRASILEIRO DE CIRURGIA DIGESTIVA, SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA, COLÉGIO BRASILEIRO DE RADIOLOGIA. Doença de Crohn intestinal: manejo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 57, n. 1, p. 10-13, 2011.

TARNOPOLSKY MA et al. Bacterial overgrowth syndrome in myotonic muscular dystrophy is potentially treatable. **Muscle & Nerve**, New York, v. 42, n. 6, p. 853–855, 2010.

TRESPI E, FERRIERI A. Intestinal bacterial overgrowth during chronic pancreatitis. **Current medical research and opinion**, London, v. 15, n. 1, p. 47–52, 1999.

TURNBAUGH PJ et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. **Nature**, London, v. 444, n. 7122, p. 1027–1031, 2006.

TURSI A et al. Assessment of orocecal transit time in different location of Crohn´s disease and its possible influence on clinical response to therapy. **European Journal of Gastroenterology and Hepatology**, London, v. 15, n. 1, p. 69-15, 2003.

TURSI A, BRANDIMARTE G, GIORGETTI G. High prevalence of small intestinal bacterial overgrowth in celiac patients with persistence of gastrointestinal symptoms after gluten withdrawal. **The American journal of Gastroenterology**, New York, v. 98, n.4, p. 839–43, 2003.

VERMEIRE S et al. Correlation Between the Crohn's Disease Activity and Harvey–Bradshaw Indices in Assessing Crohn's Disease Severity. **Clinical gastroenterology and hepatology**, Philadelphia, v. 8, n. 4, p. 357-63., 2010.

VILELA EG et al. Evaluation of inflammatory activity in Crohn's disease and ulcerative colitis. **World journal of gastroenterology**, Beijing, v. 18, n. 9, p. 872-81, 2012.

WILLIAM RB. Predicting the Crohn's disease activity index from the Harvey-Bradshaw Index. **Inflammatory Bowel Diseases**, Hoboken, v. 12, n. 4, p. 304-310, 2006.

WHITMAN WB; COLEMAN DC; WIEBE WJ. Prokaryotes: the unseen majority. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 95, n.12, p. 6578–6583, 1998.

ANEXOS**COMPROVANTE DE SUBMISSAO DO ARTIGO**

Journal of Clinical Gastroenterology Small intestinal bacterial overgrowth is associated with concurrent intestinal inflammation but not with systemic inflammation in Crohn's disease patients	
Manuscript Number:	JCG16632
Full Title:	Small intestinal bacterial overgrowth is associated with concurrent intestinal inflammation but not with systemic inflammation in Crohn's disease patients
Article Type:	Original Article (Clinical Research)
Keywords:	inflammatory bowel disease; Crohn's disease; small intestinal bacterial overgrowth; calprotectin; inflammation
Corresponding Author:	Julio Maria Fonseca Chebli, Ph.D. Faculdade de Medicina - Universidade Federal de Juiz de Fora Juiz de Fora, Minas Gerais BRAZIL
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Faculdade de Medicina - Universidade Federal de Juiz de Fora
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Julio Maria Fonseca Chebli, Ph.D.
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Julio Maria Fonseca Chebli, Ph.D. Liliana Chebli, PhD Tarsila Ribeiro, PhD Jose Eugênio Ricci Jr, MD Antonio Carlos Castro, PhD Pedro Gaburri, MD Fabio Pace, PhD Kátia Barbosa, PhD Lincoln Ferreira, PhD Maria do Carmo Passos, PhD Carla Malaguti, PhD Álvaro Delgado, MD Jacqueline Campos, MD André Coelho, MD
Order of Authors Secondary Information:	
Manuscript Region of Origin:	BRAZIL

Abstract:	<p>Goals: We studied the prevalence and predictors of small intestinal bacterial overgrowth (SIBO) in Crohn's disease (CD) outpatients as well as the relationship between SIBO and intestinal and/or systemic inflammation.</p> <p>Background: The relationship of SIBO with systemic and intestinal inflammation in CD patients is unclear.</p> <p>Study: In this cross-sectional study, between June 2013 and January 2015, 92 CD patients and 97 controls with non-chronic gastrointestinal complaints were assessed for presence of SIBO using the H₂/CH₄ glucose breath test. Multivariate logistic regression was performed to investigate the potential association between SIBO and CD.</p>
-----------	--

Cover Letter

Dear Editor

Journal of Clinical Gastroenterology

On behalf of my co-authors, I am pleased to submit our original article entitled "Small intestinal bacterial overgrowth is associated with concurrent intestinal inflammation but not with systemic inflammation in Crohn's disease patients" for possible publication.

All authors listed have participated in the study and have reviewed and agree with the content of the article. This article has not been previously published and is not under consideration for publication elsewhere. The authors confirm that this article content has no conflicts of interest. We intended to adhere to all the format requirements.

Yours sincerely,

Júlio Maria Fonseca Chebli, MD, PhD

Inflammatory Bowel Diseases Center, University Hospital of the Federal University of Juiz de Fora, University of Juiz de Fora School of Medicine, Brazil.

Maria José Leal Street, 296

Juiz de Fora, MG, Brazil – CEP 36036-247

Tel / Fax: +55 (32) 21023841

E-mail: chebli@globo.com

CÓPIA DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO ESTUDO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP HU/UFJF

JUIZ DE FORA – MG – BRASIL

DEPARTAMENTO DE GASTROENTEROLOGIA HU - UFJF

Pesquisador Responsável: José Eugênio Rios Ricci Júnior

Endereço: Av. Eugênio do Nascimento s/nº, bairro Dom Bosco

CEP: 36038-330 – Juiz de Fora – MG

Fone: (32) 4009-5302

E-mail: zeeugenioricci@outlook.com

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr. (a) está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa “**Supercrescimento bacteriano de intestino delgado em pacientes com doença de Crohn: prevalência, preditores e associação com inflamação sistêmica e intestinal**”.

Neste estudo pretendemos demonstrar os benefícios do uso do teste respiratório nos portadores de doença de Crohn do ambulatório de Doença Inflamatória Intestinal do HU-CAS/ UFJF, em especial no diagnóstico do supercrescimento bacteriano.

Desejamos com este trabalho demonstrar a importância, facilidade e benefícios do uso rotineiro do teste respiratório com hidrogênio em pacientes portadores de doença de Crohn, resultando numa futura redução de gastos e riscos com exames e tratamentos desnecessários associado a uma melhor satisfação dos mesmos.

Realizaremos uma entrevista com o senhor (a), consulta de dados do seu prontuário eletrônico e realização do teste respiratório com hidrogênio. Este estudo não vai atrapalhar algum tratamento que o senhor (a) esteja fazendo e poderá causar riscos ou problemas mínimos, como o incômodo de responder às perguntas e à realização do teste respiratório.

Para realização do teste respiratório com hidrogênio exalado as seguintes orientações deverão ser seguidas: jejum de 12 horas, não fazer uso antibióticos nas quatro semanas que o precedem, evitar alimentos ricos em fibras na véspera do exame, evitar fumar, dormir e exercitar-se vigorosamente por pelo menos 30 minutos antes do início e durante o teste, além de não comer ou beber, exceto água, durante a realização do mesmo.

Após agendamento prévio, os testes serão executados pelos pesquisadores no setor de Endoscopia Digestiva do HU-CAS/ UFJF. O teste inicia-se com a ingestão de 200 ml de solução contendo água e glicose. Em seguida, cada participante deverá soprar o ar normalmente respirado em uma bolsa de plástico específica antes da ingestão da solução e a cada 15 minutos, por um período de até 3 horas. As amostras coletadas serão submetidas à leitura por um aparelho específico, fornecendo os resultados que serão interpretados pelos pesquisadores.

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido (a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre

para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido pelo pesquisador.

O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo.

Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão.

O (A) Sr (a) não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável, no Departamento de Gastroenterologia do HU - UFJF e a outra será fornecida a você.

Eu, _____, portador do documento de Identidade _____ fui informado (a) dos objetivos do estudo "Avaliação do uso do teste respiratório com hidrogênio exalado como ferramenta no diagnóstico de supercrescimento bacteriano em pacientes portadores de doença de Crohn", de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Juiz de Fora, _____ de _____ de 20__

Nome/ Assinatura participante/ Data

Nome/ Assinatura pesquisador/ Data

Nome Assinatura testemunha Data

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o
CEP HU – Comitê de Ética em Pesquisa HU/UFJF
Hospital universitário Unidade Santa Catarina
Prédio da Administração Sala 27
CEP 36036-110
E-mail: cep.hu@ufjf.edu.br