

Lek. Agnieszka Sieczkowska

## **Wpływ terapii inhibitorami pompy protonowej na rozwój bakteryjnego przerostu flory jelita cienkiego**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych  
w zakresie medycyny

Promotor: prof. dr hab. n. med. Barbara Kamińska  
Katedra i Klinika Pediatrii, Gastroenterologii,  
Hepatologii i Żywienia Dzieci  
Gdański Uniwersytet Medyczny

GDAŃSK 2018

## WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

IPP / PPI - inhibitory pompy protonowej / proton pump inhibitors

SBBO / SIBO - small bowel bacterial overgrowth / small intestinal bacterial overgrowth

WTO - wodorowe testy oddechowe

GHBT - a glucose hydrogen breath test

GHMBT - a glucose hydrogen / methane breath test

ppm - parts per million

H<sub>2</sub> - wodór

CH<sub>4</sub> - metan

## 1. WSTĘP

Inhibitory pompy protonowej (IPP) to grupa leków, których działanie polega na hamowaniu produkcji kwasu solnego w komórkach okładzinowych żołądka. Są one stosowane od 30 lat w terapii schorzeń górnego odcinka przewodu pokarmowego zależnych od nadmiernego wydzielania kwasu solnego takich jak wrzód trawienny żołądka / dwunastnicy, refluksowe zapalenie przełyku czy zespół Zollingera-Ellisona. Uważa się, że IPP to leki selektywne i skuteczne, o wysokim profilu bezpieczeństwa i nielicznych działaniach niepożądanych (<5%) [1]. Dlatego stosowane są bardzo powszechnie, bardzo często niezgodnie z obowiązującymi wytycznymi i bez wyraźnych wskazań lekarskich, niejednokrotnie w terapii długotrwałej [2-5]. Wśród najczęstszych pozarejestacyjnych zastosowań wymienia się terapię nieswoistych dolegliwości gastroenterologicznych, leczenie „gastroprotekcyjne” oraz profilaktykę wrzodu stresowego u pacjentów z niskim ryzykiem wystąpienia krwawienia [6-8].

W ostatnich latach obserwuje się znaczny wzrost użycia IPP. Należą one do 10 najczęściej przepisywanych i kupowanych leków na świecie [9-11]. Omeprazol był najczęściej przyjmowanym lekiem w Hiszpanii w 2010 r. oraz piątym najczęściej przepisywanym w Holandii w 2013 roku [9,10]. Esomeprazol był czwartym najczęściej przepisywanym lekiem w USA w latach 2014-2015 [11]. W Australii w latach 1995-2006 częstość stosowania IPP zwiększyła się aż o 1318% [12]. Podobny trend obserwuje się w innych częściach świata [13,14]. Nadużywanie IPP oraz innych preparatów hamujących wydzielanie kwasu solnego dotyczy również populacji dziecięcej [15-17]. W USA w latach 2002-2006 częstość przyjmowania tych leków wśród dzieci poniżej 4 roku życia zwiększyła się o 56%. Ocenia się, że aż 3% dzieci w tej grupie wiekowej przyjmuje leki hamujące wydzielanie kwasu solnego. Brak jest danych na temat częstości stosowania IPP w populacji dziecięcej w Polsce, jednakże obserwacje z naszego ośrodka pokazują, że IPP są coraz częściej stosowane u dzieci, również w terapii długotrwałej i poza wskazaniami rejestracyjnymi.

W związku z ogromną skalą nadużywania IPP, w piśmiennictwie pojawia się coraz więcej doniesień na temat szkodliwości stosowania tych leków. Wykazano, że długotrwałe przyjmowanie IPP może prowadzić do zwiększonej podatności na zakażenia przewodu

pokarmowego (*Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp. czy *Clostridium difficile*) i dróg oddechowych, rozwoju osteoporozy, interakcji z innymi środkami farmaceutycznymi, a także do rozwoju różnych objawów ze strony przewodu pokarmowego takich jak bóle brzucha, wzdęcia oraz przewlekła biegunka [18-24]. Wymienione objawy gastroenterologiczne są najczęściej skutkiem rozwoju bakteryjnego przerostu flory jelita cienkiego (ang. small bowel / intestinal bacterial overgrowth, SBBO / SIBO), który definiowany jest jako wzrost liczby niepatogennych bakterii w początkowym odcinku jelita cienkiego (powyżej  $10^5$  komórek bakteryjnych w mililitrze treści jelitowej) zwykle bytujących w jelicie grubym [25]. W warunkach fizjologicznych, obecność kwasu solnego w żołądku uniemożliwia namnażanie się większości bakterii (wyjątek stanowi *Helicobacter pylori*). Długotrwałe stosowanie IPP które powoduje stan hipo- lub nawet achlorhydrii może prowadzić do nadmiernej proliferacji bakterii w żołądku oraz jelicie cienkim i prawdopodobnie jest jednym z ważniejszych czynników ryzyka rozwoju SBBO [25]. Przegląd piśmiennictwa na temat szkodliwości stosowania IPP oraz obserwowany w naszym ośrodku wzrost częstości używania tych leków zainspirował mnie do zaplanowania badania oceniającego związek pomiędzy przyjmowaniem IPP a rozwojem SBBO.

Obraz kliniczny SBBO charakteryzuje się dużą zmiennością i nasileniem objawów. Najczęściej obserwuje się łagodne, niespecyficzne objawy ze strony przewodu pokarmowego takie jak ból brzucha, biegunka czy wzdęcia. U niektórych pacjentów mogą wystąpić objawy niedoboru witaminy B12 i witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, a u dzieci zmniejszenie masy ciała, niedożywienie oraz upośledzenie wzrostu [26-29].

Diagnostyka SBBO opiera się na metodach bezpośrednich oraz pośrednich [30-33]. Metodą bezpośrednią jest badanie mikrobiologiczne treści jelita cienkiego pobranej podczas gastrokopii, jednakże ze względu na inwazyjność i wysoki koszt jest ona rzadko stosowana w codziennej praktyce klinicznej [32,33]. Alternatywną i nieinwazyjną metodą diagnostyki SBBO są wodorowe testy oddechowe (WTO). Zasada działania WTO oparta jest na fakcie, iż w warunkach fizjologicznych człowiek nie wydziela wodoru ( $H_2$ ) na czczo czy w spoczynku, a jego jedynym źródłem w wydychanym powietrzu jest fermentacja węglowodanów w świetle jelita z udziałem bakterii beztlenowych [30,31,34]. Bakterie metabolizują węglowodany wytwarzając przy tym  $H_2$ , który szybko dyfunduje do naczyń krwionośnych zaopatrujących ścianę jelita, stąd dostaje się do krążenia ogólnego, a następnie do pęcherzyków płucnych, skąd wydostaje się na zewnątrz organizmu z powietrzem wydychanym. W związku z tym

stężenie  $H_2$  w powietrzu wydychanym koreluje z natężeniem powstawania  $H_2$  w jelicie. Pomiar  $H_2$  w powietrzu wydychanym przeprowadzany jest przy użyciu chromatografu gazowego (Quintron Microlyzer model SC, Quintron Instrument Company, Milwaukee, WI, USA) a wynik jest wyrażony jako liczba cząsteczek  $H_2$  na milion cząsteczek powietrza (parts per million, ppm). Dodatkowy pomiar stężenia metanu ( $CH_4$ ) w powietrzu wydychanym podczas WTO jest wysoce zalecany, gdyż zwiększa czułość testu oddechowego. Obecność  $CH_4$  w powietrzu wydychanym rzadko stwierdza się u małych dzieci, jednakże obserwuje się go aż u 30-62% młodzieży i dorosłych [35-38]. Za jego produkcję w świetle jelita i dalszy transport do płuc odpowiedzialne są szczepy *Methanobrevibacter smithii*, które zużywają  $H_2$  do produkcji  $CH_4$  zmniejszając przy tym zawartość  $H_2$  w powietrzu wydychanym co często prowadzi do fałszywie ujemnych wyników WTO w przypadku braku pomiaru  $CH_4$ .

Zgodnie z konsensusem dotyczącym WTO opublikowanym w 2009 roku w Rzymie przez grupę ekspertów (Gasbarrini et al.), wodorowy test oddechowy po obciążeniu glukozą (glucose hydrogen breath test, GHBT) jest obecnie najbardziej rekomendowaną metodą diagnostyki SBBO ze względu na wysoką czułość i swoistość testu, niski koszt, nieinwazyjność oraz prostotę wykonania badania [30]. Glukoza jest szybko i całkowicie wchłaniana w jelicie cienkim, dlatego w warunkach fizjologicznych podczas GHBT stężenie  $H_2$  w powietrzu wydychanym pozostaje na poziomie podobnym jak na czczo. Jednakże u chorych z SBBO, podczas GHBT obserwuje się wzrost zawartości  $H_2$  w powietrzu wydychanym wkrótce po podaniu glukozy. Zgodnie z włoskim konsensusem dotyczącym WTO z 2009 roku, dodatni wynik GHBT stwierdza się wówczas, gdy wystąpi wzrost zawartości  $H_2$  powyżej 10-12 ppm ponad poziom wyjściowy. W 2017 roku ustalono nowy amerykański konsensus dotyczący wodorowo-metanowych testów oddechowych zmieniając nieco kryteria dodatniego wyniku GHBT [39]. Autorzy konsensusu podają, że wzrost stężenia  $H_2$  powyżej 20 ppm ponad poziom wyjściowy wskazuje na SBBO. Wciąż brak jest oficjalnych rekomendacji dotyczących interpretacji metanowych testów oddechowych, jednakże większość badaczy, w tym również autorzy amerykańskiego konsensusu, za dodatni wynik przyjmują  $CH_4 \geq 10$  ppm lub wzrost zawartości  $CH_4 \geq 10$  ppm powyżej wartości wyjściowej [39-41].

Problem występowania SBBO podczas stosowania inhibitorów pompy protonowej wśród pacjentów dorosłych był przedmiotem kilkunastu badań naukowych, a szczególne zainteresowanie tym tematem obserwuje się w ostatnich 8 latach [40,42-56]. Pierwsza

metaanaliza z 2012 roku obejmująca 11 badań do których włączono 3134 dorosłych, wykazała że istnieje związek między leczeniem IPP a rozwojem SBBO, ale tylko w przypadku użycia badania mikrobiologicznego treści jelitowej jako narzędzia badawczego [57]. Natomiast wyniki ostatnio opublikowanej metaanalizy obejmującej 19 badań oraz 7055 pacjentów pokazują, że przyjmowanie IPP w sposób umiarkowany zwiększa ryzyko rozwoju SBBO zarówno w przypadku użycia metod bezpośrednich jak i pośrednich diagnostyki SBBO [58]. Sprzeczne wyniki badań są prawdopodobnie związane z różnicami w metodologii badań, w tym zastosowania różnych narzędzi diagnostycznych oraz różnych kryteriów dla rozpoznania SBBO, jak również w części przypadków z niewielkimi i / lub niejednorodnymi grupami badawczymi. Ponadto znaczna większość badań oceniających związek pomiędzy leczeniem IPP z rozwojem SBBO za pomocą testów oddechowych, uwzględnia jedynie pomiar  $H_2$  w powietrzu wydychanym. Powstaje zatem pytanie, czy dodatkowy pomiar  $CH_4$  podczas testu oddechowego ma wpływ na ocenę częstości występowania SBBO podczas stosowania IPP?

W trakcie planowania i podczas trwania badania, brak było publikacji oceniających wpływ stosowania IPP na częstość występowania SBBO w populacji pediatrycznej. Pierwsze doniesienie na ten temat ukazało się w 2013 roku. Hegar i wsp. przeprowadzili GHBT wśród 70 dzieci z Indonezji, które przez miesiąc przyjmowały IPP wykazując że aż 30% z nich rozwinęło w tym czasie SBBO [59]. Autorzy nie oceniali jednak stężenia  $CH_4$  podczas GHBT. Kolejna publikacja dotycząca wpływu IPP na rozwój SBBO u dzieci ukazała się w 2014 roku. Rosen i wsp. również wykazali, jednakże za pomocą bezpośrednich posiewów treści jelitowych, związek między przyjmowaniem IPP a rozwojem SBBO [60].

Na podstawie powyższych przesłanek zaplanowano 2 badania oryginalne (1 u dzieci i 1 wśród dorosłych), aby odpowiedzieć na pytanie: czy stosowanie IPP ma wpływ na rozwój SBBO u dzieci i dorosłych jeśli oceny dokonujemy za pomocą pomiarów stężenia  $H_2$  i  $CH_4$  w powietrzu wydychanym?

## 2. CELE PRACY

Pierwszym celem pracy była ocena wpływu terapii inhibitorami pompy protonowej na rozwój bakteryjnego przerostu flory jelita cienkiego u dzieci za pomocą pomiarów stężenia  $H_2$  i  $CH_4$  w powietrzu wydychanym. Dodatkowym celem badania była ocena częstości występowania poszczególnych objawów klinicznych w przebiegu SBBO w tej grupie pacjentów.

Celem drugiego badania była ocena częstości występowania SBBO u pacjentów dorosłych przewlekle leczonych IPP w porównaniu do grupy kontrolnej za pomocą pomiarów stężenia  $H_2$  i  $CH_4$  w powietrzu wydychanym oraz próba identyfikacji czynników ryzyka rozwoju SBBO.

Zaplanowano również szczegółowy przegląd piśmiennictwa celem aktualizacji stanu wiedzy na temat SBBO oraz zastosowania testów oddechowych w populacji dziecięcej.

### 3. WYKAZ PUBLIKACJI BĘDĄCYCH PRZEDMIOTEM ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Cele pracy zostały zrealizowane w cyklu 5 spójnych tematycznie doniesień opublikowanych w latach 2015-2018, w tym 2 prac oryginalnych [Publikacja 1 i 5], 2 poglądowych [Publikacja 2 i 3] oraz 1 listu do redakcji [Publikacja 4]:

1. Sieczkowska A, Landowski P, Zagozdzon P, Kaminska B, Lifschitz C. Small Bowel Bacterial Overgrowth Associated with Persistence of Abdominal Symptoms in Children Treated with a Proton Pump Inhibitor. *J Pediatr*. 2015; 166:1310-1312.e1. [https://www.jpeds.com/article/S0022-3476\(15\)00005-0/fulltext](https://www.jpeds.com/article/S0022-3476(15)00005-0/fulltext)

IF = 3.890

2. Sieczkowska A, Landowski P, Kamińska B, Lifschitz C. Small Bowel Bacterial Overgrowth in Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2016; 62:196-207. [https://journals.lww.com/jpgn/fulltext/2016/02000/Small\\_Bowel\\_Bacterial\\_Overgrowth\\_in\\_Children.6.aspx](https://journals.lww.com/jpgn/fulltext/2016/02000/Small_Bowel_Bacterial_Overgrowth_in_Children.6.aspx)

IF = 2.799

3. Sieczkowska A, Landowski P, Kamińska B, Lifschitz C. Testy oddechowe w diagnostyce gastroenterologicznej u dzieci. *Standardy Med Pediaatria*. 2017; 14:100-110. <http://www.standardy.pl/artykuly/id/1227#>

IF = 0

4. Sieczkowska A, Landowski P, Zagozdzon P, Kaminska B, Lifschitz C. The association of proton pump inhibitor therapy and small bowel bacterial overgrowth in children. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2017; 29:1190-1191. [https://journals.lww.com/eurojgh/Citation/2017/10000/The\\_association\\_of\\_proton\\_pump\\_inhibitor\\_therapy.16.aspx](https://journals.lww.com/eurojgh/Citation/2017/10000/The_association_of_proton_pump_inhibitor_therapy.16.aspx)

IF = 1.968



5. Sieczkowska A, Landowski P, Gibas A, Kamińska B, Lifschitz C. Long-term proton pump inhibitor therapy leads to small bowel bacterial overgrowth as determined by breath hydrogen and methane excretion. *J Breath Res.* 2018; 12:036006. <http://iopscience.iop.org/article/10.1088/1752-7163/aa9dcf/meta>

IF = 4.318

Łączna wartość IF za publikacje będące przedmiotem rozprawy doktorskiej: 12.975.

### **Założenia i najważniejsze spostrzeżenia z poszczególnych publikacji:**

1. Znaczny wzrost użycia IPP u dzieci, sprzeczne wyniki dotyczące ryzyka rozwoju SBBO podczas stosowania IPP wśród dorosłych oraz brak badań dotyczących tego problemu w populacji dziecięcej stały się podstawą do zaplanowania badania, którego celem była ocena wpływu 3-miesięcznej terapii IPP na rozwój SBBO u dzieci. Badanie miało charakter prospektywny, kohortowy. Do badania włączono grupę 40 dzieci z refluksowym zapaleniem przełyku rozpoznanym na podstawie endoskopii górnego odcinka przewodu pokarmowego, u których zaplanowano leczenie IPP. Wodorowy-metanowy test oddechowy po spożyciu glukozy (a glucose hydrogen / methane breath test, GHMBT) przeprowadzono przed i po 3-miesiącach leczenia IPP. Wykazano, że częstość występowania SBBO była istotnie statystycznie wyższa po terapii IPP (22.5%) niż przed leczeniem (2.5%), ( $p=0.001$ ). Przyjmowanie IPP nie miało natomiast wpływu na częstość występowania podwyższonego stężenia  $\text{CH}_4$  w powietrzu wydychanym (12.5% przed leczeniem vs. 10% po leczeniu IPP). Porównano również częstość występowania 9 objawów klinicznych (ból brzucha, wymioty, nudności, biegunka, zaparcie, zgaga, uczucie pełności w jamie brzusznej, wzdęcie oraz odbijanie) w 4-stopniowej skali (0: prawie nigdy, 1: 1-2 razy w tygodniu, 2: 2-3 razy w tygodniu, 3: 3 lub więcej razy w tygodniu) u dzieci z dodatnim i negatywnym wynikiem testu oddechowego w kierunku SBBO. Wykazano, że dzieci z SBBO, w porównaniu do dzieci które nie rozwinęły SBBO, miały wyższy całkowity wynik (sumę punktów) dla bólów brzucha ( $p=0.002$ ), uczucia pełności w jamie

brzuszej ( $p=0.003$ ) oraz odbijania ( $p=0.001$ ). Podsumowując, wyniki badania wykazały, że 3-miesięczna terapia IPP w sposób istotny zwiększa ryzyko rozwoju SBBO u dzieci.

2. Celem drugiej pracy było przeprowadzenie szczegółowego przeglądu piśmiennictwa oraz aktualizacja stanu wiedzy na temat częstości występowania oraz czynników ryzyka rozwoju SBBO, patogenezы, dostępnej diagnostyki, częstości występowania objawów klinicznych i powikłań oraz sposobów leczenia SBBO w populacji dziecięcej. Do marca 2015 r. przeszukano następujące bazy danych: MEDLINE, PubMed and Web of Science. Wszystkie dostępne publikacje dotyczące SBBO u dzieci opublikowane w języku angielskim zostały uwzględnione w pracy. Na podstawie zgromadzonego piśmiennictwa wykazano, że SBBO u dzieci współwystępuje często z innymi chorobami, głównie gastroenterologicznymi (takimi jak zespół jelita drażliwego, zespół krótkiego jelita, nietrzymanie stolca itd.), ale również w przebiegu jednostek chorobowych takich jak mukowiscydoza czy zaburzenia odporności. Uwzględniając najnowsze doniesienia, na SBBO narażone są również dzieci przyjmujące leki hamujące wydzielanie kwasu solnego oraz żyjące w złych warunkach socjalno-bytowych. W pracy opisano również trudności diagnostyczne związane z rozpoznaniem SBBO, a także brak wytycznych dotyczących leczenia tej jednostki chorobowej w populacji dziecięcej.
3. Celem kolejnej pracy była aktualizacja stanu wiedzy na temat testów oddechowych w diagnostyce gastroenterologicznej u dzieci. Omówiono wskazania do wykonania poszczególnych testów oddechowych oraz szczegółowo opisano metodologię poszczególnych testów, w tym GHMBT. Przedstawiono również aktualne wytyczne oraz trudności dotyczące interpretacji testów oddechowych w populacji dziecięcej.
4. Kolejna publikacja była listem do redakcji czasopisma *European Journal of Gastroenterology and Hepatology* dotycząca pracy „Risk of small intestinal bacterial overgrowth with chronic use of proton pump inhibitors in children” (Cares i wsp.) opublikowanej w 2017 r., w której wykazano potencjalny związek między przyjmowaniem IPP a rozwojem SBBO u dzieci [61]. Autorzy uznali jednocześnie, że

ich doniesienie jest drugą publikacją i pierwszą w języku angielskim oceniającą ryzyko rozwoju SBBO podczas stosowania IPP u dzieci. W odpowiedzi napisano, że jest to czwarta praca dotycząca tego tematu oraz podano, że istnieją jeszcze 2 wcześniejsze publikacje, w tym nasza [Publikacja 1], w których wykazano zwiększone ryzyko rozwoju SBBO podczas terapii IPP u dzieci.

5. Znaczne zainteresowanie tematem rozwoju SBBO podczas leczenia IPP w ostatnich latach, spójne wyniki w populacji pediatrycznej oraz bardzo sprzeczne w populacji dorosłych stały się podstawą do zaplanowania kolejnego badania, którego celem była ocena związku pomiędzy przewlekłym leczeniem IPP a występowaniem SBBO. Zaplanowano ponadto próbę identyfikacji czynników ryzyka rozwoju SBBO oraz szczegółową ocenę oraz porównanie poziomów  $H_2$  i  $CH_4$  pomiędzy pacjentami przyjmującymi IPP a grupą kontrolną. Narzędziem badawczym był GHMBT. Do badania zakwalifikowano 67 pacjentów przewlekle leczonych IPP (PPI treated patients, PPIT) oraz 62 nieprzyjmujących IPP (comparison, C). Wykazano znamienne częstsze występowanie SBBO u pacjentów z grupy PPIT w stosunku do C (44.8% vs. 21%,  $p=0.005$ , OR = 3.06, 95% CI 1.40-6.66). Stwierdzono także, że wszystkie wartości  $H_2$  (wartość na czczo, wartość maksymalna oraz średnie stężenie) były wyższe u pacjentów leczonych IPP w porównaniu do grupy kontrolnej, nawet jeśli brano pod uwagę wyłącznie PPIT oraz C z prawidłowym wynikiem testu oddechowego. Nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie w wartościach  $CH_4$  pomiędzy obydwoma grupami, jednakże wykazano, że aż 19.4% z PPIT oraz 12,9% z C miałyby wyniki fałszywie ujemne testu oddechowego gdyby nie przeprowadzono pomiaru  $CH_4$ . Nie znaleziono związku między występowaniem SBBO a płcią, wiekiem, BMI, paleniem papierosów, otyłością, innymi współistniejącymi chorobami oraz przyjmowanymi lekami. Nie wykazano również korelacji pomiędzy SBBO a czasem leczenia IPP, przyjmowaną dawką i rodzajem stosowanego preparatu.

#### 4. PODSUMOWANIE

Praca przedstawia badania mające na celu ocenę wpływu leczenia IPP na rozwój SBBO, zarówno u dzieci jak i dorosłych. Pierwsza publikacja [Publikacja 1] jest jednym z 3 pierwszych doniesień dotyczących zwiększonego ryzyka rozwoju SBBO podczas leczenia IPP u dzieci oraz pierwszą uwzględniającą dodatkowo pomiary  $\text{CH}_4$  w tej grupie pacjentów. Wyniki tego badania wydają się szczególnie istotne w związku z obserwowanym wzrostem przyjmowania IPP w populacji dziecięcej.

Wyniki drugiego badania oryginalnego [Publikacja 5] przeprowadzonego wśród pacjentów dorosłych również wykazały, że istnieje związek pomiędzy przyjmowaniem IPP a występowaniem SBBO. Jest to pierwsza publikacja która zawiera tak szczegółową analizę stężeń gazów wydychanych podczas testu oddechowego u pacjentów dorosłych leczonych IPP w porównaniu do grupy kontrolnej. Istotnym i nowym odkryciem w naszej pracy było wykazanie, że pacjenci przyjmujący leki z tej grupy mają wyższe wszystkie stężenia  $\text{H}_2$  (poziom na czczo, maksymalny i średnie stężenie) w porównaniu do pacjentów nieprzyjmujących IPP, zarówno porównując pacjentów z dodatnim (IPP+ SBBO+ vs. IPP-SBBO+) jak i z ujemnym wynikiem testu oddechowego w kierunku SBBO (IPP+ SBBO- vs. IPP- SBBO-).

Wnikliwy przegląd piśmiennictwa wykazał, że dane dotyczące SBBO u dzieci oraz zastosowania testów oddechowych w tej populacji są dosyć ograniczone i istnieje potrzeba dalszych badań oceniających znaczenie kliniczne SBBO oraz celem ustalenia wytycznych dotyczących diagnostyki, w tym interpretacji testów oddechowych, i leczenia tej jednostki chorobowej w populacji dziecięcej.

## 5. WNIOSKI

1. 3-miesięczna terapia IPP u dzieci w sposób istotny zwiększa ryzyko rozwoju SBBO. Wydaje się zatem, że dzieci przyjmujące IPP, szczególnie w terapii długotrwałej, powinny mieć rutynowo wykonywane testy oddechowego w kierunku SBBO przed leczeniem oraz / lub w trakcie terapii zwłaszcza w przypadku utrzymywania się lub wystąpienia nowych, innych objawów ze strony przewodu pokarmowego.
2. Częstość występowania SBBO jest znamienne wyższa u dorosłych długotrwałe leczonych IPP w porównaniu do grupy kontrolnej. Ponadto pacjenci przyjmujący leki z tej grupy mają wyższe wszystkie pomiary  $H_2$  w porównaniu do pacjentów nieprzyjmujących IPP, zarówno porównując pacjentów z dodatnim jak i z ujemnym wynikiem testu oddechowego w kierunku SBBO. Można zatem przypuszczać, że część pacjentów przyjmujących IPP z ujemnym wynikiem testu oddechowego (IPP+ SBBO-) może mieć “podprogowe” SBBO i w przyszłości rozwinąć SBBO. Prawdopodobnie ta grupa pacjentów powinna być dalej monitorowana w przypadku kontynuowania leczenia IPP.
3. Dodatkowy pomiar  $CH_4$  podczas GHMBT zmniejsza ilość wyników fałszywie ujemnych u dorosłych. Wydaje się zatem, że warto zawsze podczas testu oddechowego mierzyć również stężenie  $CH_4$ .

**The impact of proton pump inhibitor treatment on small bowel  
bacterial overgrowth development**

## 1. INTRODUCTION

Proton pump inhibitors (PPI) are a group of drugs whose main action is a reduction of hydrochloric acid production by parietal cells in the stomach. They have been used for treatment of upper gastrointestinal acid-related disorders such as peptic gastric / duodenal ulcer disease, reflux esophagitis or Zollinger-Ellison for 30 years. PPIs are considered to be highly effective with a good safety profile and low rate of adverse effects (<5%) which probably contribute to overprescription and prolonged therapy frequently without evidence-based indications [1-5]. The most often off-label indications for the use of PPIs are nonspecific gastrointestinal discomfort, gastroprotective therapy and prophylaxis of stress ulcer in patients with low risk of ulcer-related bleeding [6-8].

The frequency of PPI usage has increased significantly in recent years. PPI are among the top 10 most widely used medications in the world [9-11]. Omeprazole became the most commonly consumed active compound in Spain in 2010 and was the fifth most prescribed medication in the Netherlands in 2013 [9,10]. Esomeprazole was the fourth most prescribed drug in the USA in 2014/2015 [11]. In Australia, the use of PPI from 1995 to 2006 increased by 1318% [12]. A similar trend in PPI use is observed in other parts of the world [13,14]. The overuse of PPI and other drugs inhibiting gastric acid secretion is also noticed in pediatric population [15-17]. The use of PPI in children under 4 years from 2002 to 2006 increased by 56% in the USA. It is estimated that up to 3% children in this age group take drugs that inhibit gastric acid secretion. There is no data assessing the frequency of PPI use in children in Poland, however we observe an increasing use of PPI among pediatric patients in our region, frequently applied in chronic therapy and beyond off-label indications.

There is an increasing number of studies indicating that prolonged gastric acid suppression may lead to a number of gastrointestinal (GI) and systemic complications such as enteric infections including *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp. and *Clostridium difficile*, various GI disturbances (i.e. diarrhea, abdominal pain and/or flatulence), pneumonia and osteoporosis [18-24]. Some of these complications may be associated with the development of small bowel / intestinal bacterial overgrowth (SBBO / SIBO), a condition defined as the presence of  $>10^5$  colony forming units / ml of bacteria in an aspirate of fluid from the upper small intestine [25]. Under physiological conditions presence of hydrochloric acid in the

stomach inhibits excessive bacterial proliferation in the upper small intestine (except *Helicobacter pylori*). Hypochlorhydria or achlorhydria resulting from long-term PPI treatment is considered as one of the most important predisposing factors for the development of SBBO [25].

SBBO symptoms vary widely among individuals and may include mild, nonspecific signs such as abdominal pain, diarrhea or flatulence, as well as more severe complications like deficiencies in fat-soluble vitamins or vitamin B or malnutrition and growth stunting in children [26-29].

Diagnostic procedures used for the detection of SBBO are divided into direct and indirect tests [30-33]. The most direct method of SBBO diagnosis is microbiological culture of jejunal aspirate obtained during gastroscopy [32,33]. This method, however, is not performed in routine practice because of its invasive nature, high cost and relatively low sensitivity. Alternative and less invasive tests for the diagnosis of SBBO are hydrogen breath tests (HBT) based on bacterial metabolism. As humans do not produce  $H_2$  when fasting or at rest, it is assumed that hydrogen ( $H_2$ ) in the expired air derives from the anaerobic microbial metabolism of carbohydrates in the intestinal lumen [30,31,34].  $H_2$  is absorbed by intestinal mucosa into the bloodstream and transported to the lungs, where it is exhaled. Thus the concentration of  $H_2$  in the expired air correlates with the level of  $H_2$  production in the intestinal lumen.  $H_2$  concentrations in the expired air is measured using a gas chromatography (Quintron Microlyzer model SC, Quintron Instrument Company, Milwaukee, WI, USA). Results are expressed as parts per million (ppm). Additional measurement of methane ( $CH_4$ ) in the expired air is highly recommended since it increases the sensitivity of the breath test. Small children rarely exhale  $CH_4$ , however as many as 30-62% of the teenagers and adult population harbors high concentrations of methanogenic flora (*Methanobrevibacter smithii*) capable of transforming  $H_2$  into  $CH_4$  which may be responsible for false negative results if only  $H_2$  is measured [35-38].

The 1<sup>st</sup> Rome  $H_2$  - Breath Testing Consensus Conference Working Group recommended the glucose  $H_2$  breath test as the best tool for the diagnosis of SBBO owing to its high diagnostic accuracy, simplicity, low cost and non-invasiveness [27]. When glucose is administered as a substrate, it gets rapidly absorbed in the small bowel and breath  $H_2$  remains at baseline levels. However, whenever  $H_2$  producing bacteria contaminate the small bowel, breath  $H_2$  will increase soon after the glucose is administered. In accordance with the



recommendations of the 1<sup>st</sup> Rome H<sub>2</sub>-Breath Testing Consensus Conference Working Group, a H<sub>2</sub> increase of 10-12 ppm or more over the baseline value is considered as being compatible with the diagnosis of SBBO [30]. However in 2017 a new North American Consensus on hydrogen and methane-based breath testing in gastrointestinal disorders was published presenting slightly different criteria for a positive GHBT [39]. The Consensus recommend to use a rise in H<sub>2</sub> of  $\geq 20$  ppm during a GHBT for SBBO as cutoff for the test to be considered positive. There is still a lack of accepted standard cutoff values for CH<sub>4</sub> breath positivity, however most of the authors, including those of the North American Consensus, suggest that excessive CH<sub>4</sub> production should be recognized when CH<sub>4</sub> levels  $\geq 10$  ppm or in case of CH<sub>4</sub> increase of 10 ppm over the baseline [39-41].

There are several studies evaluating effects of PPI treatment on SBBO development in adults [40,42-56]. A notable interest in this subject has been observed in the last 8 years. The first meta-analysis on the topic published in 2012, including 11 studies and 3134 subjects, showed that PPI use was associated with increased risk of SBBO, but only when the diagnosis was made by duodenal or jejunal aspirate test [57]. However the results of a new recently published meta-analysis, including 19 studies and 7055 subjects, indicate that use of PPI moderately increases the risk of SBBO when studies that employed small bowel aspirates culture as well as GHBT as diagnostic tests for SBBO were included [58]. Results of these studies have been contradictory, presumably because of the use of different research methodologies and study designs including varying diagnostic tests and criteria for diagnosis of SBBO as well as different, sometimes small and / or nonhomogeneous, study groups. Furthermore, most of the studies assessing effect of PPI therapy on SBBO development diagnosed by breath tests include only H<sub>2</sub> measurements. So there is a question if additional measurement of CH<sub>4</sub> can decrease the level of false negative results of a GHBT?

During planning the research, there were no publication assessing effects of PPI treatment on SBBO development in children. The first study on the topic was published in 2013. Hegar et al. performed a GHBT after one month of omeprazole therapy among 70 Indonesian children and reported positive test result in 30% of patients [59]. However, the authors did not measure CH<sub>4</sub> in the expired air. The second publication evaluating the frequency of SBBO development during PPI therapy in children was published in 2014 [60]. Rosen et al. confirmed, by performing gastric aspirates, that acid-suppression in children results in gastric bacterial overgrowth.

On the basis of above findings we planned 2 original studies (1 in children and 1 in adults) and profound literature search to answer the question if use of PPI influence SBBO development in children and adults as determined by breath  $H_2$  and  $CH_4$  excretion?

## **2. AIMS OF THE STUDY**

The first aim of the study was to assess whether a 3-month PPI treatment induces SBBO in children as determined by breath H<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> excretion. The additional aim of this study was to evaluate if SBBO causes any symptoms in children.

A subsequent aim of the study was to compare the prevalence of SBBO in adults taking PPI (PPIT) with controls not taking them (C) as determined by breath H<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> excretion. We also tried to identify potential predictors of SBBO development.

Furthermore, a profound literature search was conducted in order to review and update information about SBBO and use of breath tests in children.

### 3. LIST OF PUBLICATIONS

The aims of the study have been addressed in a series of 5 thematically consistent papers published in years 2015-2018, which include 2 original papers [Publication 1,5], 2 overview papers [Publication 2,3] and one letter to the editor [Publication 4]:

1. Sieczkowska A, Landowski P, Zagozdzon P, Kaminska B, Lifschitz C. Small Bowel Bacterial Overgrowth Associated with Persistence of Abdominal Symptoms in Children Treated with a Proton Pump Inhibitor. *J Pediatr*. 2015; 166:1310-1312.e1. [https://www.jpeds.com/article/S0022-3476\(15\)00005-0/fulltext](https://www.jpeds.com/article/S0022-3476(15)00005-0/fulltext)  
IF = 3.890
2. Sieczkowska A, Landowski P, Kamińska B, Lifschitz C. Small Bowel Bacterial Overgrowth in Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2016; 62:196-207. [https://journals.lww.com/jpgn/fulltext/2016/02000/Small\\_Bowel\\_Bacterial\\_Overgrowth\\_in\\_Children.6.aspx](https://journals.lww.com/jpgn/fulltext/2016/02000/Small_Bowel_Bacterial_Overgrowth_in_Children.6.aspx)  
IF = 2.799
3. Sieczkowska A, Landowski P, Kamińska B, Lifschitz C. Testy oddechowe w diagnostyce gastroenterologicznej u dzieci. *Standardy Med Pediatría*. 2017; 14:100-110. <http://www.standardy.pl/artykuly/id/1227#>  
IF = 0
4. Sieczkowska A, Landowski P, Zagozdzon P, Kaminska B, Lifschitz C. The association of proton pump inhibitor therapy and small bowel bacterial overgrowth in children. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2017; 29:1190-1191. [https://journals.lww.com/eurojgh/Citation/2017/10000/The\\_association\\_of\\_proton\\_pump\\_inhibitor\\_therapy.16.aspx](https://journals.lww.com/eurojgh/Citation/2017/10000/The_association_of_proton_pump_inhibitor_therapy.16.aspx)  
IF = 1.968

5. Sieczkowska A, Landowski P, Gibas A, Kamińska B, Lifschitz C. Long-term proton pump inhibitor therapy leads to small bowel bacterial overgrowth as determined by breath hydrogen and methane excretion. *J Breath Res.* 2018; 12:036006. <http://iopscience.iop.org/article/10.1088/1752-7163/aa9dcf/meta>

IF = 4.318

The total value of IF for presented publications = 12.975

### **The thesis and major findings of the publications:**

1. A significant increase in PPI usage in children, contradictory results of the studies addressing the influence of PPI treatment on SBBO development in adults and lack of studies on the topic in the pediatric population inspired us to plan a study assessing the effect of 3-month PPI therapy on SBBO development in children. It was a prospective, cohort study including 40 children diagnosed with reflux esophagitis by upper endoscopy. Treatment was PPI for 3 months. Prior to and after PPI treatment, patients underwent a glucose hydrogen / methane breath test (GHMBT) to determine the presence of SBBO. The frequency of SBBO was significantly higher after PPI therapy (22.5%) than before treatment (2.5%),  $p=0.001$ . We did not notice a significant change in the overall prevalence of  $\text{CH}_4$  producers (12.5% before vs. 10% after PPI use). We also assessed the frequency of 9 gastrointestinal clinical signs (abdominal pain, nausea, vomiting, diarrhea or constipation, heartburn, bloating, flatulence and eructation), the frequency of events were scored as follows: 0 (almost never), 1 (less than once a week), 2 (1-2 times a week) to 3 (3 or more times a week). After PPI therapy, SBBO-positive children, compared with SBBO-negative patients, showed a higher mean symptom frequency score for abdominal pain ( $p=0.002$ ), bloating ( $p=0.003$ ) and burping ( $p=0.001$ ). In conclusion, results of this study show that 3-month PPI therapy significantly increases the risk of SBBO.

2. The aim of the second publication was to perform a detailed literature search and update information about the pathogenesis, available diagnostic procedures as well as prevalence of SBBO, with particular emphasis on identifying risk factors in the pediatric population. We discussed clinical manifestations, consequences of SBBO and the controversy surrounding available treatment options in children. A comprehensive literature search was performed in March 2015, using MEDLINE, PubMed and Web of Science databases. The search was limited to articles published in English. On the basis of available publications, we found that SBBO co-occurs with a variety of childhood conditions, not only with GI diseases (such as irritable bowel syndrome, short bowel syndrome, encopresis etc.), but also with other disorders including cystic fibrosis or immunodeficiency. Recent data show that SBBO affects also children living in unsanitary conditions or treated with proton pump inhibitors. Furthermore, we described diagnostic challenges associated with SBBO detection in children and lack of established guidelines for SBBO therapy in this population.
3. The aim of the next overview study was to perform a literature search and update information about breath testing in children. We presented the indications for various breath tests and described their methodology, including a GHMBT. In this review, we also presented the actual recommendations for breath testing and discussed difficulties with interpretation of results of various breath tests in children.
4. The next publication was a letter to the editor of European Journal of Gastroenterology and Hepatology relating to the paper „Risk of small intestinal bacterial overgrowth with chronic use of proton pump inhibitors in children” by Cares et al. published in 2017 [61]. The authors state that their results indicate a potential risk of SBBO in chronic PPI users. They also declared that their study was the second study and the first study in English literature measuring the risk of SBBO in children taking PPI. As we do not agree with this statement, we wrote to the editor that we are aware of two other previous publications, including our publication [Publication 1], in the English literature on the same topic.

5. An increasing interest in the topic of PPI influence on SBBO development, consistent results of the studies addressing this problem in pediatric population and contradictory results of studies in adults inspired us to plan a study assessing whether long-term PPI treatment is associated with presence of SBBO in adults. We also searched for the potential predictors of a positive breath test result and assessed the differences in H<sub>2</sub> / CH<sub>4</sub> excretion patterns in patients taking PPI compared with those not taking the medication. The study included 67 PPI treated patients (PPIT) and 62 not-receiving PPI (C, comparison). PPIT and C underwent a GHMBT to determine the presence of SBBO. The prevalence of SBBO was significantly higher in PPIT compared to C (44.8% vs. 21%, p=0.005, OR = 3.06, 95% CI 1.40-6.66). We also found that PPIT had all H<sub>2</sub> test parameters (baseline H<sub>2</sub> levels, maximum peak of H<sub>2</sub> as well as mean H<sub>2</sub> through the whole test) significantly higher than C. Even those PPIT who did not meet criteria of breath test positivity had statistically higher breath H<sub>2</sub> levels compared to C. Although we did not observe significant differences in CH<sub>4</sub> excretion between groups, 19.4% of PPIT and 12.9% of C would have had a false-negative HMBT results had CH<sub>4</sub> not been taken into account. No significant association was found between age, sex, BMI, smoking habits, obesity and other comorbidities as well as medication use in both patients receiving and not receiving PPI. We also observed no effect of type and dose of PPI or duration of PPI treatment on the odds of having a positive GHMBT in PPIT.

#### **4. SUMMARY**

This series of articles assess whether PPI treatment is associated with SBBO development in children as well as in adults. The first publication [Publication 1] is the third study in the English literature reporting the risk of SBBO development during PPI therapy in children and the first which additionally include assessment of CH<sub>4</sub> levels in expired air. The results of this study are particularly relevant to pediatricians since so many children receive PPI for prolonged periods of time.

The results of the second original paper [Publication 5], which was conducted among adults, also showed that there is an association between PPI use and SBBO development. It is the first study which demonstrate such a precise analysis and comparison of H<sub>2</sub> / CH<sub>4</sub> excretion parameters in patients taking PPI compared to control group. The novel and important finding of our study was that PPIT compared to C have higher all H<sub>2</sub> parameters, even if their peak breath H<sub>2</sub> or CH<sub>4</sub> did not meet criteria to be considered as having SBBO.

A detailed literature review has shown that data concerning SBBO and breath testing in pediatric population are rather limited and there is a strong need for further studies assessing the clinical significance of SBBO in children and establishing the gold standard for SBBO diagnosis as well as guidelines for its treatment in this population.



## 5. CONCLUSIONS

1. 3-month PPI-treatment increases the risk of SBBO development in children. Thus it seems that children using PPI, particularly in prolonged therapy, should undergo SBBO before and / or during treatment, especially in case of GI symptoms persistence or new GI symptoms development.
2. The frequency of SBBO is significantly higher in patients using PPI compared to those not taking. Furthermore, PPIT compared to C have higher all H<sub>2</sub> parameters even if their peak breath H<sub>2</sub> or CH<sub>4</sub> did not meet criteria to be considered as having SBBO. These results suggest that some of PPIT (PPI+SBBO-) could have “subliminal SBBO”. Perhaps this group of patients should be further monitored while continuing PPI therapy as they probably have higher risk of SBBO development.
3. An additional measurement of CH<sub>4</sub> during a GHMBT reduces the number of falsely negative breath test results. Thus it seems that CH<sub>4</sub> level should be assessed routinely in all patients which undergo breath test.

## **Piśmiennictwo:**

1. Relly JP. Safety profile of the proton pump inhibitors. *Am J Health Syst Pharm.* 1999; 56:11-7.
2. van Vliet EP, Otten HJ, Rudolphus A, Knoester PD, Hoogsteden HC, Kuipers EJ, Siersema PD. Inappropriate prescription of proton pump inhibitors on two pulmonary medicine wards. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2008; 20:608-12.
3. Ramirez E, Lei SH, Borobia AM, Piñana E, Fudio S, Muñoz R, Campos A, Carcas AJ, Frias J. Overuse of PPIs in patients at admission, during treatment, and at discharge in a tertiary Spanish hospital. *Curr Clin Pharmacol.* 2010; 5:288-97.
4. Bustamante Robles KY1, Ticse Aguirre R, Cánepa Rondo IF, Costta Herrera CG, Vasquez Kunze S, Soto Arquiniño L, Sosa Valle H. Frequency of proton pump inhibitor prescription based in clinical practice guidelines in hospitalized patients in two academic hospitals in Lima Peru *Rev. Gastroenterol Peru.* 2012; 32:44-9.
5. Lombardo L, Giostra A, Viganò L, Tabone M, Grassi A, Gionco M, Rovera G, Bo A, Malvasi P and Use and Appropriateness Study Mauriziano Hospital Group. Misuse of Proton Pump Inhibitors: A Survey on a General Population In Proton Pump Inhibitors (PPIs). Ed Barbara Parkers Nova Sci Publ Inc NY. 2015; 51-59.
6. Kazberuk M, Brzósko S, Hryszko T, Naumnik B. Nadużywanie inhibitorów pompy protonowej i jego konsekwencje. *Postępy Hig Med Dosw.* 2016; 70:1112-1116.
7. Kelly OB, Dillance C, Pachett SE, Harewood GC, Murray FE. The inappropriate prescription of oral proton pump inhibitors in the hospital setting: a prospective cross-sectional study. *Dig Dis Sci* 2015; 60:2280-2286.
8. Lanas A, Ferrandez A. Inappropriate prevention of NSAID-induced gastrointestinal events among long-term users in the elderly. *Drugs Aging.* 2007; 24:121-131.
9. The Dutch Foundation for Pharmaceutical Statistics (SFK). Facts and figures. 2014; 36.
10. Martín de Argila de Prados C, Aguilera Castro L, Rodríguez de Santiago E. PPIs: Between overuse and underprescription when really necessary. *Rev Esp Enferm Dig.* 2015; 107:649-651.
11. Medscape.com. 100 best-selling, most prescribed branded drugs through March. 2015

12. Hollingworth S, Duncan EL, Martin JH. Marked increase in proton pump inhibitors use in Australia. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2010; 19:1019-1024.
13. Bashford JN, Norwood J, Chapman SR. Why are patients prescribed proton pump inhibitors? Retrospective analysis of link between morbidity and prescribing in the General Practice Research Database. *BMJ.* 1998; 317:452-6.
14. Nishtala PS, Soo L. Proton pump inhibitors utilisation in older people in New Zealand from 2005 to 2013. *Intern Med J.* 2015; 45:624-9. doi: 10.1111/imj.12757.
15. Hassall E. Over-prescription of acid-suppressing medications in infants: how it came about, why it's wrong, and what to do about it. *J Pediatr.* 2012; 160:193-198.
16. Orenstein SR, Hassall E. S.R. Infants and proton pump inhibitors: tribulations, no trials. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007; 45:395-398.
17. Balistreri WF. The reflex to treat reflux – let's be conservative regarding gastroesophageal reflux (GER)! *J Pediatr.* 2008; 152: pA1.
18. Canani RB, Cirillo P, Roggero P, Romano C, Malamisura B, Terrin G, Passariello A, Manguso F, Morelli L, Guarino A; Working Group on Intestinal Infections of the Italian Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (SIGENP). Therapy with gastric acidity inhibitors increases the risk of acute gastroenteritis and community-acquired pneumonia in children. *Pediatrics.* 2006; 116:e817-20.
19. Targownik LE, Lix LM, Metge CJ, Prior HJ, Leung S, Leslie WD. Use of proton pump inhibitors and risk of osteoporosis-related fractures. *CMAJ* 2008; 179:319-26.
20. Bouwknecht M, van Pelt W, Kubbinga ME, Weda M, Havelaar AH. Potential association between the recent increase in campylobacteriosis incidence in the Netherlands and proton-pump inhibitor use - an ecological study. *Eurosurv.* 2014; 19:1-6.
21. Leonard J, Marshall JK, Moayyedi P. Systemic review of the risk of enteric infection in patients taking acid suppression. *Am J Gastroenterol.* 2007; 102:2047-56.
22. Janarthanan S, Ditah I, Adler DG, Ehrinpreis MN. Clostridium difficile-associated diarrhea and proton pump inhibitor therapy: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 2012; 107:1001-10.
23. McDonald EG, Milligan J, Frenette C, Lee TC. Continuous proton pump inhibitor therapy and the associated risk of recurrent Clostridium difficile infection *JAMA Intern Med.* 2015; 175:784-91.

24. Bavishi C, Dupont HL. Systemic review: the use of proton pump inhibitors and increased susceptibility to enteric infection. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012; 34:1269-81.
25. Gabrielli M, D'Angelo G, Di Rienzo T, Scarpellini E, Ojetti V. Diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth in the clinical practice. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013; 17:30-5.
26. Sachdev AH, Pimentel M. Gastrointestinal bacterial overgrowth: pathogenesis and clinical significance. *Ther Adv Chronic Dis.* 2013; 4:223-31. doi:10.1177/2040622313496126.
27. de Boissieu D, Chaussain M, Badoual J, Dupont C. Small-bowel bacterial overgrowth in children with chronic diarrhea, abdominal pain, or both. *J Pediatr.* 1996; 128:203-7.
28. Davidson GP, Robb TA, Kirubakaran CP. Bacterial contamination of the small intestine as an important cause of chronic diarrhea and abdominal pain: diagnosis by breath hydrogen test. *Pediatrics.* 1984; 74:229-35.
29. Korterink JJ, Benninga MA, van Wering HM, et al. Glucose hydrogen breath test for small intestinal bacterial overgrowth in children with abdominal pain-related functional GI disorders. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015; 60:498-502.
30. Gasbarrini A, Corazza GR, Gasbarrini G, et al. Methodology and indications of H<sub>2</sub>-breath testing in GI diseases: the Rome Consensus Conference. 1st Rome H<sub>2</sub>-Breath Testing Consensus Conference Working Group. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009; 29(Suppl 1):1-49.
31. Malik BA, Xie YY, Wine E, Huynh HQ. Diagnosis and pharmacological management of small intestinal bacterial overgrowth in children with intestinal failure. *Can J Gastroenterol.* 2011; 25:41-5.
32. Corazza GR, Menozzi MG, Strocchi A, Rasciti L, Vaira D, Lecchini R, Avanzini P, Chezzi C, Gasbarrini G. The diagnosis of small bowel bacterial overgrowth. Reliability of jejunal culture and inadequacy of breath hydrogen testing. *Gastroenterology.* 1990; 98:302-9.
33. Stotzer PO, Brandberg A, Kilander AF. Diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth in clinical praxis: a comparison of the culture of small bowel aspirate, duodenal biopsies and gastric aspirate. *Hepatogastroenterology.* 1998; 45:1018-22.

34. Ghoshal UC. How to Interpret Hydrogen Breath Tests. *J Neurogastroenterol Motil.* 2011; 17:312-7.
35. de Lacy Costello BP, Ledochowski M, Ratcliffe NM. The importance of methane breath testing: a review. *J Breath Res.* 2013; 7:024001. doi: 10.1088/1752-7155/7/2/024001.
36. Sahakian AB, Jee SR, Pimentel M. Methane and the gastrointestinal tract. *Dig Dis Sci.* 2010; 55:2135-43.
37. McKay LF, Eastwood MA and Brydon WG. Methane excretion in man - a study of breath, flatus and faeces. *Gut.* 1985; 26:69-74.
38. Cloarac D, Bornet F, Gouilloud S, Barry LJ, Salim B and Galmiche JP. Breath hydrogen response to lactulose in healthy subjects: relationship to methane producing status. *Gut.* 1990; 31:300-4.
39. Rezaie A, Buresi M, Lembo A, Lin H, McCallum R, Rao S, Schmulson M, Valdovinos M, Zakko S, Pimentel M. Hydrogen and Methane-Based Breath Testing in Gastrointestinal Disorders: The North American Consensus. *Am J Gastroenterol.* 2017; 112:775-784.
40. Enko D, Kriegshäuser G. Functional <sup>13</sup>C-urea and glucose hydrogen/methane breath tests reveal significant association of small intestinal bacterial overgrowth in individuals with active *Helicobacter pylori* infection. *Clin Biochem.* 2017; 50:46-49.
41. Rana SV, Sharma S, Kaur J, Sinha SK, Singh K. Comparison of lactulose and glucose breath test for diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth in patients with irritable bowel syndrome. *Digestion.* 2012; 85:243-7.
42. Ratuapli SK, Ellington TG, O'Neill MT, Umar SB, Harris LA, Foxx-Orenstein AE, Burdick GE, Dibaise JK, Lacy BE, Crowell MD. Proton Pump Inhibitor Therapy Use Does Not Predispose to Small Bowel Bacterial Overgrowth. *Am J Gastroenterol.* 2012; 107:730-5.
43. Law D, Pimentel M. Proton Pump Inhibitor therapy does not affect Hydrogen production on lactulose breath test in subjects with IBS. *Dig Dis Sci.* 2010; 55:2302-8.
44. Ohbayashi T. Effect of the proton pump inhibitor on breath hydrogen and methane concentrations. *Teikyo Med J.* 1999; 22:197-206.
45. Fujiwara Y, Watanabe T, Muraki M, Yamagami H, Tanigawa T, Shiba M, Tominaga K, Arakawa T. Association between chronic use of proton pump inhibitors and small-

- intestinal bacterial overgrowth assessed using lactulose hydrogen breath tests. *Hepatogastroenterology*. 2015; 62:268-72.
46. Fried M, Siegrist H, Frei R, Froehlich F, Duroux P, Thorens J, Blum A, Bille J, Gonvers JJ, Gyr K. Duodenal bacterial overgrowth during treatment in outpatients with omeprazole. *Gut*. 1994; 35: 23-6.
  47. Lombardo L, Foti M, Ruggia O, Chiecchio A. Increased incidence of small intestinal bacterial overgrowth during proton pump inhibitor therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2010; 8:504-8.
  48. Compare D, Pica L, Rocco A, De Giorgi F, Cuomo R, Sarnelli G, Romano M, Nardone G. Effects of long-term PPI treatment on producing bowel symptoms and SIBO. *Eur J Clin Invest*. 2011; 41:380-6.
  49. Jacobs C, Coss Adame E, Attaluri A, Valestin J, Rao SS. Dysmotility and proton pump inhibitor use are independent risk factors for small intestinal bacterial and/or fungal overgrowth. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013; 37 1103-11.
  50. Del Piano M, Anderloni A, Balzarini M, Ballarè M, Carmagnola S, Montino F, Orsello M, Pagliarulo M, Tari R, Soattini L, Sforza F, Mogna L, Mogna G. The innovative potential of *Lactobacillus rhamnosus* LR06, *Lactobacillus pentosus* LPS01, *Lactobacillus plantarum* LP01, and *Lactobacillus delbrueckii* Subsp. *delbrueckii* LDD01 to restore the "gastric barrier effect" in patients chronically treated with PPI: a pilot study. *J Clin Gastroenterol*. 2012; 46 18-26.
  51. Thorens J, Froehlich F, Schwizer W, Saraga E, Bille J, Gyr K, Duroux P, Nicolet M, Pignatelli B, Blum AL, Gonvers JJ, Fried M. Bacterial overgrowth during treatment with omeprazole compared with cimetidine: a prospective randomised double blind study. *Gut*. 1996; 39:54-9.
  52. Lewis SJ, Franco S, Young G, O'Keefe SJ. 1996 Altered bowel function and duodenal bacterial overgrowth in patients treated with omeprazole. *Aliment Pharmacol Ther*. 1996; 10:557-61.
  53. Pereira SP, Gainsborough N, Dowling RH. Drug-induced hypochlorhydria causes high duodenal bacterial counts in the elderly. *Aliment Pharmacol Ther*. 1998; 12:99-104.
  54. Choung RS, Ruff KC, Malhotra A, Herrick L, Locke GR 3rd, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Talley NJ, Saito YA. Clinical predictors of small intestinal bacterial overgrowth by duodenal aspirate culture. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011; 33:1059-67.

55. Hutchinson S, Logan R. The effect of long-term omeprazole on the glucose-hydrogen breath test in elderly patients. *Age Ageing*. 1997; 26:87-9.
56. Giamarellos-Bourboulis EJ, Pylaris E, Barbatzas C, Pistiki A, Pimentel M. Small intestinal bacterial overgrowth is associated with irritable bowel syndrome and is independent of proton pump inhibitor usage. *BMC Gastroenterol*. 2016; 16:67.
57. Lo WK, Chan WW. Proton pump inhibitor use and the risk of small intestinal bacterial overgrowth: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013; 11:483-90.
58. Su T, Lai S, Lee A, He X, Chen S. Meta-analysis: proton pump inhibitors moderately increase the risk of small intestinal bacterial overgrowth. *J Gastroenterol*. 2018; 53: 27-36.
59. Hegar B, Hutapea EI, Advani N, Vandenplas Y. A double-blind placebo-controlled randomized trial on probiotics in small bowel bacterial overgrowth in children treated with omeprazole. *J Pediatr. (Rio J)* 2013; 89:381-7.
60. Rosen R, Amirault J, Liu H, Mitchell P, Hu L, Khatwa U, Onderdonk A. Changes in Gastric and Lung Microflora With Acid Suppression: Acid Suppression and Bacterial Growth. *JAMA Pediatr*. 2014; 168:932-7.
61. Cares K, Al-Ansari N, Macha S, Zoubi N, Zaghloul H, Thomas R, Lalinsky P, El-Baba M. Short article: Risk of small intestinal bacterial overgrowth with chronic use of proton pump inhibitors in children. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2017; 29:396-399