

Papel da calprotectina fecal como marcador de doença inflamatória intestinal numa população de doentes com espondilite anquilosante

Fecal calprotectin's role as marker of inflammatory bowel disease in an ankylosing spondylitis' population

D. MARTINS¹, J. PINHO², P. SOUSA¹, M. CARVALHO², E. CANCELA¹, J. CALDAS², T. CARVALHO³, C. SANTIAGO⁴, A. SILVA¹, P. MINISTRO¹

RESUMO

Introdução: A associação entre espondilite anquilosante (EA) e doença inflamatória intestinal (DII) é conhecida: 7-12% da população com EA receberá o diagnóstico de DII.

Objetivo: Avaliação da calprotectina fecal (CF) como marcador de inflamação intestinal numa população de doentes com EA.

Métodos: Doentes com EA foram recrutados a partir da consulta de fisioterapia. Foram registados dados demográficos, clínicos, farmacológicos, efetuadas colheitas de sangue, de fezes e ileocolonosopia com biópsias. Pacientes com ileoscopia anormal e FC > 50 mg/kg foram propostos a realizar enterografia por tomografia (TC).

Resultados: Vinte-dois doentes completaram o estudo: 31,8% apresentavam dor abdominal frequente; 50% estavam sob AINEs; 45,4% sob imunossupressor; 27,3% tinham FC > 50 mg/Kg. Nem a toma de AINEs nem de imunossupressores mostraram associação estatística com o valor de CF. 28,6% tinham lesões endoscópicas, 54,5% achados inflamatórios no exame histopatológico. Dois em nove tinham lesões ileais na TC (22%). A elevação da CF mostrou boa especificidade (≥80%) e valor preditivo negativo (≥70,6%) para lesões endoscópicas.

Conclusões: A CF é um teste específico para o diagnóstico de inflamação intestinal nesta população e pode tornar-se uma ferramenta útil para evitar o uso de exames endoscópicos invasivos em doentes com valores normais de CF.

ABSTRACT

Background: The association between ankylosing spondylitis (AS) and inflammatory bowel disease (IBD) is well known: 7-12% of patients with AS will be diagnosed with IBD.

Aim: Fecal calprotectin (FC) evaluation as marker of bowel inflammation in an AS population.

Methods: AS patients were recruited from physiatry consultation. Demographic, clinical and pharmacological history data were collected. Blood, stool tests and ileocolonoscopy with biopsies were done. Patients with abnormal ileoscopy and FC > 50 mg/Kg were proposed to do a tomographic enterography.

Results: Twenty-two patients completed the study: 31,8% of patients had frequent abdominal pain; 50% were receiving NSAIDs; 45,4% immunosuppressant; 27,3% had FC > 50 mg/kg. Neither NSAIDs nor immunosuppressants showed statistical association with FC. 28,6% had endoscopic lesions, 54,5% inflammatory lesions in the histopathological exam. Two in nine patients had TC ileal lesions (22%). FC elevation has good specificity (≥80%) and negative predictive value (≥70,6%) for endoscopic lesions.

Conclusions: FC is a specific test for the diagnosis of intestinal inflammation in this population and may appear as a useful tool to avoid the use of invasive endoscopic examinations in patients with normal FC values.

INTRODUÇÃO

A espondilite anquilosante (EA) e a doença inflamatória intestinal (DII) são doenças inflamatórias crónicas, com espectros clínicos distintos, relativamente bem definidos e de etiologia não esclarecida.^{1,2}

É frequente observar-se algum grau de inflamação intestinal assintomática em 50-60% dos doentes com EA,³ mas apenas 7-12% dos pacientes com EA serão diagnosticados com DII; por outro lado, a prevalência de EA na DII é de 4-20%.^{4,5,6}

Um estudo populacional Britânico mostrou que no momento do diagnóstico de EA 3,7% dos doentes apresentavam DII simultaneamente; com incidência

de DII de 2,4/1000 pessoas-ano, incidência cumulativa aos 20 anos de 7,5% e *hazard ratio* ajustado de 3,3 para diagnóstico de DII na EA.¹ Uma revisão sistemática de *Stolwijk* et al. sobre o mesmo tema mostrou prevalência agrupada de DII na EA de 6,8%.⁷

Embora se tratem de patologias manifestamente diferentes, elas parecem manter um tronco comum. Ambas apresentam um componente genético importante. Adicionalmente, é cada vez mais conhecida a complexa relação entre o microbioma intestinal e a regulação imunológica do hospedeiro, verificando-se padrões de microbiota semelhantes na DII e EA.⁸ Contudo, a desregulação da mucosa parece

¹Serviço de Gastrenterologia do Centro Hospitalar Tondela, Viseu; ²Serviço de Medicina Física e Reabilitação do Centro Hospitalar Tondela, Viseu;

³Serviço de Anatomia Patológica do Centro Hospitalar Tondela, Viseu; ⁴Serviço de Radiologia do Centro Hospitalar Tondela, Viseu

Correspondência: Diana Martins · E-mail: dianacpmartins@gmail.com · Morada: Avenida Rei Dom Duarte, 3504-509, Viseu · Centro Hospitalar Tondela, Viseu · Telemóvel: 918 721 359

Patrocínios: O trabalho não recebeu qualquer tipo de patrocínio.

Artigo premiado em *ex-aequo* no XXVI Congresso Nacional de Coloproctologia, em Novembro de 2016, com o Prémio Medtronic "Investigação em Coloproctologia 2016."

■ QUADRO 1

Características dos participantes

| Característica | Média ± DP |
|-------------------------------------|---|
| Idade (anos) | 52,5 ± 11 |
| Período de seguimento por EA (anos) | 17 ± 11 |
| | Frequência relativa (%) e absoluta |
| Género masculino | 54,5 (n=12) |
| Dor abdominal (> 1 vez/semana) | 31,8 (n=7) |
| Apendicectomia prévia | 13,6 (n=3) |
| Tabagismo (atual ou passado) | 22,7 (n=5) |
| Consumo de álcool | 50 (n=11) |
| Consumo de AINEs | 50% (n=11) |
| Consumo IBPs | 50% (n=11) |
| Medicação imunossupressora | 45,4 (n=10) |
| Antecedente de Uveítes | 31,8 (n=7) |
| Antecedente de Psoríase | 27,3 (n=6) |

Abreviaturas: AINEs - anti-inflamatórios não esteroides; DP - desvio padrão; EA - espondilite anquilosante; IBP - inibidores da bomba de prótons.

ser a via através da qual, a carga genética assume o seu potencial quando confrontada com fatores ambientais predisponentes, existindo teorias de mimetismo antigénico entre os antigénios bacterianos intestinais e antigénios da articulação, com reação imunológica cruzada disfuncional.⁹ Estes mecanismos imunológicos similares são comprovados pela elevada concentração de anticorpos séricos como os anticorpos *anti-Saccharomyces cerevesiae* (ASCA), anti-citoplasma de neutrófilos (p-ANCA), associados com actividade anti-*Pseudomonas* (anti-I2), anti-porina C da membrana externa da *Eschericia coli* (anti-OmpC) e anti-flagelina (anti-CBir1), característicos da DII, em coortes de doentes com EA.^{2,10,11,12}

Os sintomas abdominais são frequentes na população em geral e particularmente nos doentes com EA, muitas vezes medicados com anti-inflamatórios não esteroides (AINEs). Habitualmente o estudo destes doentes passa por um estudo analítico. Parâmetros inflamatórios séricos como a proteína C reativa

(PCR) e a velocidade de sedimentação (VS) continuam a ser amplamente utilizados como marcadores séricos na DII, são contudo inespecíficos, sobretudo em doentes com patologia autoimune conhecida. Assim, muitas vezes estes doentes necessitam de ser submetidos a estudo endoscópico para exclusão de lesões da mucosa, com todos os inconvenientes e desconforto que esse estudo acarreta.

Neste sentido vários marcadores séricos, urinários e fecais têm sido estudados no âmbito da DII. A calprotectina fecal (CF) é um dos marcadores mais bem estudados e com papel comprovado neste contexto. Trata-se de uma proteína maioritariamente derivada dos neutrófilos mas também de macrófagos e células epiteliais, que funciona como marcador fecal não invasivo de inflamação intestinal. Apresenta elevada sensibilidade e especificidade para identificar indivíduos sintomáticos que necessitam de estudos mais invasivos (nomeadamente ileocolonoscopia), para monitorizar a evolução dos doentes, a resposta

■ QUADRO 2

Resultados analíticos dos doentes

| Parâmetro | Média ou mediana ± DP ou AIQ |
|----------------------------------|------------------------------|
| Hemoglobina (x 10 ⁹) | 14,2 ± 1,9 |
| Leucócitos (x 10 ⁹) | 6,2 ± 1,9 |
| Neutrófilos (x 10 ⁹) | 3,7 (AIQ 1,7) |
| Plaquetas | 217 000 (AIQ 81 000) |
| VS (mm) | 7 (AIQ 9) |
| PCR ultrasensível (mg/dL) | 0,46 (AIQ 1,36) |
| CF (mg/Kg) | 19,5 (AIQ 89,8) |

Abreviaturas: AIQ - amplitude inter-quartilica; CF - calprotectina fecal; DP - desvio padrão; PCR - proteína C reactiva; VS - velocidade de sedimentação.

à terapêutica, avaliar recorrência pós-cirúrgica, apresentando boa correlação com índices endoscópicos e histológicos.^{13,14} Embora o exame *gold-standard* para diagnóstico de DII seja a ileocolonosopia total com biópsias, a CF é um teste mais cómodo e bem-tolerado, que parece permitir selecionar doentes que necessitam de estudo adicional para exclusão de DII.

Um estudo piloto mostrou níveis de CF elevados (> 50 mg/kg, normais se < 50 mg/kg) em 41% dos pacientes com EA³, realçando uma possível nova aplicação da CF na seleção de doentes que poderão beneficiar de estudos mais invasivos.

O objetivo do nosso trabalho foi avaliar o papel da CF como marcador não invasivo de DII numa população de doentes com EA e estabelecer a acuidade da CF (*cut-off* 50 mg/kg e 200 mg/kg) para o diagnóstico endoscópico e histológico de inflamação intestinal.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção de doentes

Estudo *cross-seccional*, piloto, unicêntrico, em que se procedeu a recrutamento consecutivo de pacientes com diagnóstico de EA seguidos em consulta externa de Fisiatria. Todos os pacientes eram adultos (≥18 anos), capazes de fornecer o consentimento informado por escrito e cumpriam os critérios de Nova Iorque modificados para o diagnóstico de EA.¹⁵

Pacientes com diagnóstico prévio de DII foram excluídos do estudo.

O estudo foi aprovado pela comissão de ética do hospital.

Colheita de dados e exames complementares

Os dados demográficos, clínicos e farmacológicos foram colhidos durante entrevista médica. Os doentes foram convidados a participarem no estudo após explicação do propósito do mesmo. Foi entregue e assinado o consentimento informado. Foi dado ao doente frasco para recolha de fezes, explicado o método de recolha das mesmas e dadas recomendações, nomeadamente, em relação à toma de AINEs, que deveria ser suspensa por um período mínimo de duas semanas antes da recolha da amostra.¹⁶ Durante a mesma marcação foi realizado exame físico. Efetuado agendamento através de contacto telefónico para análises ao sangue, entrega da amostra de fezes para mensuração da calprotectina fecal e realização de ileocolonosopia sob anestesia com biópsias aleatórias por segmentos (íleon, cego e colon ascendente, colon transversal, colon descendente, colon sigmóide e reto). A limpeza intestinal foi avaliada pelo médico que realizou o exame endoscópico como adequada ou inadequada. O exame histopatológico avaliou a presença de alteração arquitetural das vilosidades e das criptas, do epitélio, presença de infiltrado inflamatório, envolvimento da muscular da mucosa e da submucosa, presença de erosão ou ulceração da mucosa. Um único anatomopatologista experiente definiu se se encontravam presentes alterações inflamatórias ileocólicas crónicas. As lesões encontradas durante os exames foram submetidas a terapêutica adequada, segundo as recomendações atuais. Todos os participantes foram contactados por telefone

■ QUADRO 3

S, E, VPP e VPN da CF no diagnóstico de lesões endoscópicas

| | S (%) | E (%) | VPP (%) | VPN (%) |
|---------------------|-------|-------|---------|---------|
| CF \geq 50 mg/kg | 28,6 | 80 | 60 | 70,6 |
| CF \geq 200 mg/kg | 14,3 | 93,3 | 50 | 70 |

■ QUADRO 4

S, E, VPP e VPN da CF no diagnóstico de lesões histopatológicas

| | S (%) | E (%) | VPP (%) | VPN (%) |
|---------------------|-------|-------|---------|---------|
| CF \geq 50 mg/kg | 16,7 | 70 | 40 | 41,2 |
| CF \geq 200 mg/kg | 8,3 | 90 | 50 | 45 |

Abreviaturas: CF - calprotectina fecal; E - especificidade; S - sensibilidade; VPP - valor preditivo positivo; VPN - valor preditivo negativo.

e informados acerca dos resultados dos exames. Aqueles com elevação da CF (> 50 mg/dL) ou lesões na ileocoloscopia (ulcero-erosivas ou pólipos) foram convocados para consulta externa de Gastroenterologia. Aos pacientes com CF > 50 mg/kg ou aqueles com lesões ulceroerosivas ileais foi proposta realização de estudo adicional por enterografia por Tomografia Computadorizada (TC). Os indivíduos com alterações na TC mantiveram seguimento em consulta de Gastroenterologia e foram orientados de acordo com a clínica e achados dos exames complementares de diagnóstico.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada com recurso ao programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 22. As variáveis contínuas foram apresentadas através da média e desvio padrão (DP) ou mediana e amplitude interquartilica (AIQ), de acordo com a normalidade da distribuição da variável. As variáveis categóricas foram descritas pelas frequências relativas e absolutas. A sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo da CF em prever a inflamação endoscópica e histológica foi calculada com recurso a *crosstabs*. A correlação entre variáveis contínuas foi efetuada através dos índices de correlação de *Spearman*. A associação entre variáveis categóricas foi calculada com recurso ao teste qui-quadrado ou teste de *Fisher*, quando apropriado. Para todos os testes $p \leq 0,05$ foi indicador de significado estatístico.

RESULTADOS

Trinta e seis indivíduos foram inicialmente avaliados e foi-lhes proposta a participação no estudo. Catorze doentes abandonaram o estudo: 11 por desistência/ indisponibilidade para realizarem os exames complementares ou não estarem contactáveis durante o agendamento dos mesmos; 4 por apresentarem contraindicação relevante para anestesia e 1 por ter realizado colonoscopia sem possibilidade de intubação ileal. Vinte e dois completaram o seguimento. As características demográficas, clínicas e antecedentes farmacológicos dos participantes (Quadro 1). Nenhum dos doentes apresentava diarreia, muco- ou retorragias, perda ponderal ou massa abdominal. Apenas um paciente apresentava história familiar de doença inflamatória intestinal. Dos doentes sob imunossupressão ($n = 10$), 4 estavam sob monoterapia com terapêutica biológica, 5 com Metotrexato e 1 com terapêutica combinada.

Os resultados analíticos séricos dos doentes (Quadro 2). 22,7% dos doentes ($n = 5$) apresentavam valores de CF ≥ 50 mg/kg (média 103,6 mg/kg) e 9,1% ($n = 2$) CF ≥ 200 mg/kg; 36,4% dos doentes com CF ≥ 50 mg/kg estavam medicados com AINEs de forma crónica. Não se verificou associação estatística entre a toma de AINEs ou imunossupressão e valores de CF ≥ 50 mg/kg ($p = 0,348$ e $p = 0,48$, respetivamente) ou ≥ 200 mg/kg ($p = 0,78$ e $p = 0,48$, respetivamente).

Não se verificou correlação com significado estatístico entre os valores de Leucócitos, Neutrófilos, VS e PCR e os valores de CF ($p = 0,71$; 0,68; 0,88 e 0,22

respetivamente). Observou-se correlação negativa, estatisticamente significativa, fraca, entre o valor de hemoglobina e o da CF ($r = -0,54$, $p = 0,009$) e correlação positiva, estatisticamente significativa e fraca entre o valor das plaquetas e o da CF ($r = 0,52$, $p = 0,013$).

Todos os doentes apresentaram limpeza intestinal adequada para observação satisfatória da mucosa. Sete doentes (31,8%) apresentaram lesões ulceroerosivas na ileocolonosopia. O exame histopatológico revelou alterações inflamatórias em 54,5% ($n = 12$) dos doentes. Não se verificou associação com significado estatístico entre os achados endoscópicos e a CF ≥ 50 mg/dL ($p = 0,5$), bem como entre os achados histológicos e valores de CF ≥ 50 mg/dL ($p = 0,39$). Os valores de sensibilidade (S), especificidade (E), valor preditivo positivo (VPP) e negativo (VPN) da CF (*cut-off* de 50 e 200 mg/dL) foram calculados para o diagnóstico de lesões endoscópicas e histopatológicas (Quadro 3 e 4).

Dez pacientes foram propostos para enterografia por TC: 6 por a CF ≥ 50 mg/dL, 3 por lesões ulceroerosivas ileais e 1 por ambas; 9 realizaram o exame, 1 perdeu seguimento. Dois doentes (22%) tinham lesões ileais – espessamento do íleon terminal.

DISCUSSÃO

No nosso estudo reportamos uma população de doentes com EA sem sintomas ou sinais sugestivos de DII, excepto queixas de dor abdominal de intensidade e frequência variável mas relativamente prevalentes neste grupo de doentes. Os valores de CF desta população foram relativamente mais baixos que em estudos prévios,³ mas apresentaram uma distribuição não normal, com uma elevada AIQ. Verificou-se correlação com significado estatístico entre o valor da CF e o da hemoglobina (negativa) e o das plaquetas séricas (positiva), correlação que embora fraca, poderá traduzir valores menores de hemoglobina, por um lado, e trombocitose, por outro, durante o processos inflamatórios. Não se observou correlação entre a CF e os leucócitos, neutrófilos, PCR e VS. Embora derivada maioritariamente do citoplasma dos neutrófilos, a CF não tem demonstrado uma boa correlação com o valor de glóbulos brancos séricos, com a PCR ou a VS.^{15,17} Tratando-se de marcadores inespecíficos de inflamação estes poderão estar alterados apenas pela doença de base do doente ou pela terapêutica em curso, nomeadamente pela

terapêutica imunossupressora. De facto, verificou-se um elevado número de doentes sob terapêutica crónica com AINEs e/ou terapêutica biológica ou imunossupressora clássica. Comparativamente ao estudo de Matzkies et al.³, valores mais baixos de CF no presente estudo podem estar relacionados com a importância dada à suspensão da medicação crónica com AINEs por, pelo menos, 2 semanas (versus 2 dias); por outro lado, foram incluídos no estudo doentes sob terapêutica biológica e sob imunossupressão, o que poderá ter contribuído para o perfil de valores de CF mais reduzidos no nosso trabalho. Não se verificou, contudo, associação com significado estatístico entre os valores de CF e a utilização prévia de AINEs ou imunossupressores.

Embora a CF não constitua um bom método de rastreio de DII na nossa população pela sua baixa sensibilidade, ela apresenta elevada especificidade para o diagnóstico inflamação intestinal macro- e microscópica na ileocolonosopia. Assim, o doseamento da CF é uma ferramenta que se associa a baixo número de falsos negativos, permitindo tranquilizar os doentes em que o seu valor é normal e assim reduzir o número de exames endoscópicos realizados neste contexto.

Como já amplamente estudado em relação à síndrome de intestino irritável a CF parece predizer a ausência de doença orgânica quando em valores normais.^{18,19}

Recentemente a relação entre a EA e a DII tem sido alvo de vários estudos (1-12). O aumento da permeabilidade e inflamação intestinal têm sido observados em doentes com EA, variando a frequência com que esta inflamação é reportada de acordo com o método utilizado para a sua avaliação.² Métodos invasivos como a ileocolonosopia com biópsias demonstraram inflamação macroscópica e microscópica em 25-60% destes doentes, enquanto métodos não invasivos se associam a inflamação comprovada em 5-10% dos casos.²

O nosso estudo visa preencher uma lacuna na avaliação do papel de métodos não invasivos na abordagem destes doentes e na determinação da prevalência da inflamação intestinal macro e microscópica.

Este estudo apresenta limitações: o tamanho pequeno da amostra, a possível influência da terapêutica que os doentes mantinham em curso sobre os resultados dos exames complementares (quer os AINEs, quer os imunossupressores) e a mensuração

única da CF. Novos estudos prospetivos, controlados, com maior número de doentes, deverão ser desenvolvidos a fim de definir o papel dos marcadores não invasivos de DII neste subgrupo de doentes.

CONCLUSÃO

A CF é um teste específico para o diagnóstico de inflamação intestinal na população em estudo e pode tornar-se uma ferramenta útil para evitar o uso de exames endoscópicos invasivos em doentes com valores baixos de CF. Estudos longitudinais e controlados serão necessários para determinar o seu valor preditivo negativo mas sobretudo o seu papel na identificação de doentes com inflamação intestinal subclínica e em maior risco de desenvolver DII sintomática. ■

BIBLIOGRAFIA

1. Stolwijk C, et al. The epidemiology of extra-articular manifestations in ankylosing spondylitis: a population-based matched cohort study. *Ann Rheum Dis.* 2014; 0:1–6.
2. Rudwaleit M, Baeten D. Ankylosing spondylitis and bowel disease. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2006; 20:451-71.
3. Matzkies FG, et al. Markers of intestinal inflammation in patients with ankylosing spondylitis: a pilot study. *Arthritis Research & Therapy* 2012; 14:R261.
4. De Vos M, et al. Joint Involvement Associated with Inflammatory Bowel Disease. *Dig Dis.* 2009; 27:511–515.
5. De Vlam K, et al. Spondyloarthropathy is underestimated in inflammatory bowel disease: prevalence and HLA association. *J Rheumatol.* 2000; 27:2860-5.
6. Mielants H, Bosch F. Inflammatory bowel disease spondyloarthritis: epidemiology, clinical features, and treatment in Ankylosing Spondylitis and the Spondyloarthropathies. 1 edition. Edited by: Weisman MH, Reveille JD, van der Heijde D. Philadelphia, PA: Mosby; 2006.
7. Stolwijk C, et al. Prevalence of extra-articular manifestations in patients with ankylosing spondylitis: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis.* 2015; 74(1):65-73.
8. Gill T, et al. The Intestinal Microbiome in Spondyloarthritis. *Curr Opin Rheumatol.* 2015; 27(4):319-25.
9. Leirisalo-Repo M, et al. High frequency of silent inflammatory bowel disease in spondyloarthropathy. *Arthritis Rheum.* 1994; 37:23–31.
10. De Vries M, et al. Gut Inflammatory Bowel Disease pANCA, ASCA, and OmpC Antibodies in Patients without Ankylosing Spondylitis. *The Journal of Rheumatology* 2010; 37:11.
11. Mundwiler ML, et al. Inflammatory bowel disease serologies in ankylosing spondylitis patients: a pilot study. *Arthritis Research & Therapy* 2009; 11(6):R177.
12. Wallis D et al. Elevated serum anti-flagellin antibodies implicate subclinical bowel inflammation in ankylosing spondylitis: an observational study. *Arthritis Research & Therapy* 2013 Oct; 15(5):R166.
13. Iborra M, et al. Noninvasive Testing for Mucosal Inflammation in Inflammatory Bowel Disease. *Gastrointest Endoscopy Clin N Am.* 2016; 641–656.
14. Linden S van der, et al. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York Criteria. *Arthritis Rheum.* 1984; 27(4):361-8.
15. Ministro P Martins D. Fecal biomarkers in inflammatory bowel disease: how, when and why? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017; 11(4):317-328.
16. Rendek Z et al. Effect of oral diclofenac intake on faecal calprotectin. *Scand. J. Gastroenterol.* 2016; 51(1):28–32.
17. Mosli MH et al. C-Reactive Protein, Fecal Calprotectin, and Stool Lactoferrin for Detection of Endoscopic Activity in Symptomatic Inflammatory Bowel Disease Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am. J. Gastroenterol.* 2015; 110(6):802–819.
18. D'Haens G, et al. Fecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2012; 18(12):2218-2224.
19. Menees SB, et al. A Meta-Analysis of the Utility of C-Reactive Protein, Erythrocyte Sedimentation Rate, Fecal Calprotectin, and Fecal Lactoferrin to Exclude Inflammatory Bowel Disease in Adults With IBS. *Am. J. Gastroenterol.* 2015; 110(3):444-454.