



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CLÍNICA MÉDICA

**PROBABILIDADE DE ARTRITE REUMATÓIDE A PARTIR DA TESTAGEM
PARA FATOR REUMATÓIDE E ANTICORPOS ANTIPEPTÍDEO CITRULINADO
CÍCLICO**

Inês Guimarães da Silveira

Tese de Doutorado

Porto Alegre

2005

S587p **Silveira, Inês Guimarães da**

Probabilidade de artrite reumatóide a partir da testagem para fator reumatóide e anticorpos anti-peptídeo citrulinado cíclico / Inês Guimarães da Silveira; orient. Henrique Luiz Staub; co-orient. Carlos Alberto von Mühlen. Porto Alegre: PUCRS, 2005.

50f.: il. graf. tab.

Tese (Doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Área de Concentração: Clínica Médica.

1. ARTRITE REUMATÓIDE/imunologia. 2. PROBABILIDADE. 3. FATOR REUMATÓIDE. 4. PEPTÍDEOS CÍCLICOS. 5. CITRULINA/imunologia. 6. PROTEÍNAS/imunologia. 7. PROGNÓSTICO. 8. ANTICORPOS/uso diagnóstico. 9. AUTO-ANTICORPOS. 10. VALOR PREDITIVO DOS TESTES. 11. PEPTÍDEO CITRULINADO CÍCLICO. 12. ESTUDOS TRANSVERSAIS. I. Staub, Henrique Luiz. II. Von Mühlen, Carlos Alberto. III. Título.

C.D.D. 616.72
C.D.U. 616.72-002:577.27(043.2)
N.L.M. WE 346



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CLÍNICA MÉDICA

**PROBABILIDADE DE ARTRITE REUMATÓIDE A PARTIR DA TESTAGEM
PARA FATOR REUMATÓIDE E ANTICORPOS ANTIPEPTÍDEO CITRULINADO
CÍCLICO**

Inês Guimarães da Silveira

Tese apresentada como requisito para obtenção do título de Doutor em Medicina, no Curso de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, área de concentração em Clínica Médica, da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre

2005

Orientador:

Prof. Dr. Henrique Luiz Staub

Mestre em Imunologia pela Universidade de Londres, UK;

Doutor em Medicina pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul;

Professor Adjunto da Faculdade de Medicina da PUCRS.

Co-Orientador:

Prof. Dr. Carlos Alberto von Mühlen

Doutor em Medicina pela Universidade do Norte do Reno-Westfália, Alemanha;

Professor Titular de Reumatologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da PUCRS .

Este trabalho foi subvencionado pela Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da PUCRS (PROPESC-PUCRS) e pelo Hospital São Lucas da PUCRS.

Os testes dos anticorpos anti-CCP foram gentilmente fornecidos pelo Laboratório INOVA inc., Califórnia, USA, por intermédio do Dr. Rufus Burlingame e do Dr. Carlos Alberto von Mühlen.

Ao Renato, cujo companheirismo e apoio tornaram possível esse trabalho.

Aos meus filhos, Luísa, Carolina, Leticia e Gustavo .

Ao meu pai (†) e a minha mãe.

AGRADECIMENTOS

Ao Henrique Luiz Staub, amigo de longa data, pela orientação segura, instigante, agradável, e competente.

Ao Carlos Alberto von Mühlen, o responsável pelo nascimento desse trabalho, pela competência e auxílio.

Ao Mauro Keiserman, pelos fundamentos da reumatologia, pelo exemplo, amizade, pelo estímulo e apoio.

Ao Mário Wagner, pela competência, disponibilidade, orientação, ensino e estímulo ao estudo da epidemiologia clínica.

Ao Marcus Franck, pela amizade, estímulo e apoio sempre que necessário.

Aos colegas, Maria Mercedes Picarelli, Édson Antonini, Everton Hinterholtz, Tatiana Karenini Muller, Mariana Schoeler, residentes e pós-graduandos, Vinícius Batistella, Rodrigo Bohrer Krás Borges, Fiorella Rehbein Santos e Eduardo Luis Pochmann, pela compreensão e pelo auxílio quando solicitado.

À amiga Ana Lígia Bender, vice-diretora da Faculdade de Farmácia da PUCRS, pelo auxílio técnico, pelo convívio e por possibilitar esse estudo enquanto chefe do setor de Imunologia do Laboratório Clínico do Hospital São Lucas da PUCRS.

Ao Laboratório Clínico do Hospital São Lucas da PUCRS, especialmente aos seus funcionários, pela disponibilidade.

Ao Dr. Rufus Burlingame, pelas idéias iniciais e sugestões para a realização desse trabalho.

Às colegas Reumatologistas Aline Ranzolin e Nádia Schiavo que muito auxiliaram no início do estudo, como médicas residentes.

Aos meus monitores e alunos de graduação da Faculdade de Medicina da PUCRS, Alexandre Borba, Alice Araújo, Carolina Sampaio, David Biernfeld, Rosana Jungblut e Samir dos Santos, bolsista de iniciação científica do CNPQ, pela responsabilidade, competência e auxílio inestimável.

À equipe administrativa do serviço de Reumatologia, na pessoa da amiga Heidi Medina, essencial para o funcionamento de tudo, e sua fantástica equipe, Valéria Medina e Desirée Porto dos Santos.

À querida amiga e colega Maria Teresa Sanseverino, pela ajuda sempre que necessária, especialmente com um programa de referências bibliográficas, e pela orientação na área de bioquímica.

À Sônia Aparecida da Silva Mantovani, e funcionários do curso de Pós-Graduação, pela competência, disponibilidade e organização.

À bibliotecária Rosária Maria Lúcia Prena Geremia, pela elaboração da ficha catalográfica.

Ao Maurício da Silveira Piccini, pelo auxílio técnico na correção desse trabalho.

Ao Laboratório Metanalysis, Porto Alegre, pelo auxílio, em especial à Luciana e à Ondina.

A Inova Diagnostics, Inc., San Diego, EUA, pela colaboração nos testes sorológicos.

Ao Giquitibá Moraes de Melo pelo competência de sempre e o excelente trabalho gráfico.

Às pessoas fundamentais na organização das minhas funções, Sílvia Regina da Rosa Viana, e Rosa Maria Oliveira da Silva, sem as quais não conseguiria realizar esse estudo.

Aos pacientes, que são o motivo do desenvolvimento da pesquisa clínica.

A Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Reitor, Vice-Reitor, diretores da Faculdade de Medicina, professores, funcionários e alunos, pela contribuição na minha formação à nível de Graduação e Pós-Graduação.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	xii
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE FIGURAS	xv
RESUMO.....	xvi
SUMMARY	xviii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	2
2.1 ARTRITE REUMATÓIDE.....	2
2.1.1 Conceito	2
2.1.2 Epidemiologia.....	2
Prevalência e incidência.....	2
Fatores de risco.....	3
2.1.3 Etiologia	3
Fatores genéticos	3
Fatores ambientais	4
Fatores imunológicos.....	5
2.1.4 Patogênese	5
2.1.5 Apresentação Clínica	5
2.1.6 Diagnóstico	6
2.1.7 Laboratório	8
2.1.8 Auto-anticorpos na AR	8
2.2 FATORES REUMATÓIDES.....	8
2.3 ANTICORPOS ANTIPROTEÍNAS CITRULINADAS	9
2.3.1 Histórico	9
2.3.2 Fator antiperinuclear	10
2.3.3 Antiestrato córneo de esôfago	11
2.3.4 Anti-filagrina	11
2.3.5 Anti-Sa	12
2.3.6 Anticorpos contra proteínas citrulinadas	12
2.3.7 Citrulinação	12
2.3.8 Anti-CCP	14

2.3.9 Utilidade clínica	14
2.3.10 Possibilidades futuras	15
3. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	16
3.1 HIPÓTESES	16
3.1.1 Hipóteses conceituais	16
3.1.2 Hipóteses operacionais	16
4. OBJETIVO:.....	18
5. MATERIAL E MÉTODOS:.....	19
5.1 Delineamento.....	19
5.2 População.....	19
5.3 Local	19
5.4 Período	19
5.5 Critérios de inclusão e exclusão	20
5.6 Características da população	20
5.7 Metodologia	21
5.8 Análise estatística.....	23
5.9 Ética.....	23
6. RESULTADOS:.....	24
6.1. CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA.....	24
6.2 DESEMPENHO DOS TESTES DO ANTI-CCP E DO FATOR REUMATÓIDE.....	26
6.2.1. ARTRITE REUMATÓIDE INICIAL.....	29
6.2.2. NÍVEIS SÉRICOS DIFERENTES PARA OS TESTES DO ANTI-CCP E DO FATOR REUMATÓIDE.....	30
6.2.3. TESTES COMBINADOS DO ANTI-CCP E DO FATOR REUMATÓIDE	31
7. DISCUSSÃO	32
A SELEÇÃO.....	32
AFERIÇÃO.....	34
DESEMPENHO DIAGNÓSTICO DO ANTI-CCP	35
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
ANEXOS	

LISTA DE ABREVIATURAS

ACPA: anticorpos antiproteínas citrulinadas

ACR: “American College of Rheumatology”

AKA: “antiKeratin antibody” ou antiestrato córneo de esôfago

AR: artrite reumatóide

Anti-CCP: “anti-cyclic citrullinated peptide” ou antipeptídeo citrulinado

cíclico

BiP: “immunoglobulin binding protein”

CA: câncer, neoplasia maligna

DAI: doenças auto-imunes, não-reumatológicas

DP: desvio padrão

DTC: doenças difusas do tecido conjuntivo

EAS: espondiloartropatias soronegativas

ELISA: “enzyme-linked immunosorbent assay”

FAN: fator antinuclear

FAP: fator antiperinuclear

FR: fator reumatóide

HLA: “human leucocyte antigen”

hnRNP-A2: “heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2”

ICC: “intraclass correlation coefficient”

IC95%: intervalo de confiança de 95%

IgA: imunoglobulina de classe A

IgG: imunoglobulina de classe G

IgM: imunoglobulina de classe M

HTLV1: “human lymphotropic virus I”

LES: lupus eritematoso sistêmico

MBP: proteína básica da mielina

OUT: outras doenças não-classificadas

PAD: “peptidyl arginine deiminase” ou peptidil arginina deaminase

PCR: proteína C reativa

PPT: probabilidade pós-teste

PTPN22: “protein tyrosine phosphatase nonreceptor 22”

ROC: “receiver operating characteristic”

RPM: reumatismos de partes moles e osteoartrite

RV: razão de verossimilhança

TNF- α : “Tumoral Necrosis Factor”

VPN: valor preditivo negativo

VPP: valor preditivo positivo

VHS: velocidade de hemossedimentação globular

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Características Clínico-demográficas de 768 pacientes.	26
TABELA 2. Desempenho dos testes do antipeptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP) e do fator reumatóide no diagnóstico da artrite reumatóide (AR).	29
TABELA 3. Desempenho dos testes do antipeptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP) e do fator reumatóide no diagnóstico da artrite reumatóide(AR) com menos de dois anos de evolução	29
TABELA 4. Razão de verossimilhança e probabilidades pós-teste para fator reumatóide (FR) e anticorpos anti-CCP.	30
TABELA 5. Probabilidade de doença após a combinação de likelihood ratios ou razão de verossimilhança do fator reumatóide (FR) e do anti-CCP	31

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Teste positivo de imunofluorescência indireta do fator antiperinuclear em célula da mucosa bucal. Grânulos queratohialinos fluorescentes ao redor do núcleo corado por brometo de etídio (400X). 10
- Figura 2. Teste de imunofluorescência indireta de corte transversal de esôfago de rato, mostrando padrão linear laminar do anticorpo antiestrato córneo de esôfago. 11
- Figura 3. Conversão enzimática de resíduos de arginina em citrulina, catalisada pela enzima peptidil arginina deaminase na presença de íons cálcio. Modificado de W.J.van Venrooij em *Arthritis Res.* 2000; 2(4): 249–251. 13
- Figura 4. Fluxograma do estudo. 25
- Figura 5. Distribuição dos 768 pacientes em diferentes diagnósticos com Box plots em uma escala log de resultados de anticorpos anti-CCP: artrite reumatóide (AR), doenças do tecido conjuntivo e vasculites (DTC), espondiloartropatias soronegativas (EAS), reumatismos de partes moles e osteoartrite (RPM), doenças auto-imunes não reumatológicas (DAI), neoplasias (CA) e doenças não-classificáveis nos grupos anteriores (OUT). 27
- Figura 6. Curva ROC (Receiver-operating characteristic curve) para anti-CCP e fator reumatóide. 28

RESUMO

INTRODUÇÃO: O diagnóstico precoce da artrite reumatóide (AR) é fundamental para a decisão terapêutica e para o prognóstico. O fator reumatóide (FR) é o teste clássico na triagem para AR, enquanto o teste para anticorpo antipeptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP) é potencialmente mais específico.

OBJETIVO: Avaliar a probabilidade de AR em uma população brasileira não-selecionada a partir da testagem do fator reumatóide (FR) e do anti-CCP.

MATERIAL E MÉTODOS: Foram selecionados 1025 soros consecutivos para quais foi solicitado FR no laboratório central de referência para atendimentos primário, secundário e terciário, independente do motivo ou da origem da solicitação, no período de 6 meses. Foram realizados os testes do FR IgM por nefelometria (Dade Behring, Marburg, Alemanha) e do anti-CCP IgG de segunda geração por ELISA (Inova Diagnostics Inc., San Diego, EUA) com pontos de corte de 15 UI/mL e 20 U/mL, respectivamente. Foram excluídos 62 soros de pacientes com menos de 18 anos de idade e 23 soros solicitados 2 vezes. O diagnóstico de AR foi definido de acordo com os critérios de classificação do ACR. Na análise estatística foram calculadas as medidas de desempenho dos testes, curva ROC, teste de McNemar para comparações emparelhadas e regressão logística. O nível de significância adotado foi de $\alpha = 0,05\%$.

RESULTADOS: Dos 940 soros restantes, 172 pacientes foram excluídos por falta de definição diagnóstica. O presente estudo compreendeu um total de 768 pacientes, que foram classificados em AR (132) e sem AR (636). Os últimos incluíram: outras doenças difusas do tecido conjuntivo (102), espondiloartropatias soronegativas (38), reumatismo de partes moles e osteoartrite (264), doenças auto-imunes não-reumatológicas (42), neoplasias (30) e outras doenças não-classificadas (160). Não houve diferenças estatísticas significativas entre os grupos com e sem AR em relação ao sexo e à origem ambulatorial ou hospitalar. Os níveis de anticorpos anti-CCP foram significativamente mais elevados no grupo com AR ($P < 0,001$), independente dos ajustes para sexo, idade, tempo de duração dos sintomas e FR. Os níveis de FR foram também significativamente mais elevados na AR ($P < 0,001$), mas após aplicação do modelo de regressão logística estas diferenças não se consumaram ($P = 0,15$). A probabilidade pré-teste de AR no grupo de 768 pacientes foi de 17%. A área sob a curva ROC para anti-CCP foi de 0,83 (IC95% = 0,78-0,88) e para FR foi de 0,79 (IC95% = 0,74-0,84). As sensibilidades e especificidades para anti-CCP e FR foram de 62 e 64% (0,83), e de 97 e 90% ($P < 0,001$), respectivamente. O valor preditivo positivo (VPP) para anti-CCP foi de 79% e para FR de 56% ($P < 0,001$), e o valor preditivo negativo foi de 92% em ambos os testes. A razão de verossimilhança (RV) foi de 17,9 para anti-CCP e de 6,2 para FR ($P < 0,005$). Quarenta pacientes com AR tinham menos de 2 anos de doença e apresentaram diferenças estatisticamente significativas quanto às especificidades ($P = 0,001$), VPPs ($P = 0,018$) e RVs ($P < 0,001$) para anti-CCP. Foram calculados RVs para diferentes pontos de corte de ambos os testes, e encontrados RVs significativas acima de 50 U para anti-CCP e 200 U para FR. Quando os testes foram combinados com pontos de corte sugeridos

comercialmente, apenas a associação de ambos os testes positivos gerou RV acima de 10 (43,4) e uma probabilidade pós-teste de 90%.

CONCLUSÕES: O teste do anti-CCP teve um desempenho melhor em relação ao FR em uma população brasileira com baixa probabilidade pré-teste, sendo mais específico que FR para AR, incluindo doença inicial. Níveis séricos acima de 50 U/mL para anti-CCP e acima de 200 UI/mL para FR aumentaram a probabilidade de AR. Considerando os pontos de corte comerciais, a combinação de ambos os testes positivos gerou maior probabilidade de doença em uma população com baixa suspeição de AR.

SUMMARY

INTRODUCTION: Early diagnosis of rheumatoid arthritis (RA) is fundamental both for the therapeutic decision and for prognostic determination. Detection of the rheumatoid factor (RF) is the classical test used in screening for RA but the anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) test has potentially greater specificity.

OBJECTIVE: To evaluate the probability of RA in a randomly-selected Brazilian population from tests of RF and anti-CCP antibodies.

MATERIALS AND METHODS: 1025 consecutive sera were selected when RF was requested from the laboratory of the central reference hospital for primary, secondary and tertiary care, without specifying the reason or origin of the request but covering a period of six months. The RF IgM Nephelometry test (*Dade Behring, Marburg, Germany*) and the second-generation anti-CCP IgG ELISA (*Inova Diagnostics Inc., San Diego, USA*) were performed with cut-off points of 15 IU/mL and 20 U/mL respectively. Sera from 62 patients of less than 18 years were excluded as well as 23 patients whose sera had been requested twice. The RA diagnosis was defined in accordance with the ACR classification criteria. In the statistical analysis, we calculated the results of the ROC Curve, the McNemar test for paired comparison and the logistical regression. An Alfa = 0.05% significance level was used.

RESULTS: Of the 940 sera samples remaining for our study, those of 172 patients were excluded for lack of diagnostic definition. The present study thus comprised a total of 768 patients of whom 132 were classified as having AR while 636 were found free of the disease. These latter included: 102 cases of other connective tissue diseases; 38 of seronegative spondyloarthropathies; 264 with rheumatism of the soft tissues and osteoarthritis; 42 with non-rheumatic, auto-immune diseases; 30 cases of neoplasia and 160 other non-classified diseases. No significant differences were found between the groups with and without RA in relation to gender or the hospital or outpatient origins. The levels of the anti-CCP antibodies were significantly higher in the group with RA ($P < 0.001$) independently of the adjustment for gender, age, period of duration of the symptoms or the RF. The RF levels were also initially significantly higher in the RA group ($P < 0.001$) but when the logistical regression model was applied, these differences were not confirmed ($P = 0.15$). The probability pre-test for RA in the group of 768 patients was 17%. The area under the ROC curve for the anti-CCP was 0.83 (IC95%= 0.78-0.88) and for the RF it was 0.79 (IC95%=0.74-0.84). The sensitivities and specificities for anti-CCP and FR were 62 and 64% ($P = 0.83$), and 97 and 90% ($P < 0.001$), respectively. The positive predictive value (PPV) for anti-CCP was 79% and for FR 56% ($P < 0.001$) and the negative predictive value was 92% in both tests. The likelihood ratio (LR) was 17.9 for the anti-CCP and 6.2 for the FR ($P < 0.005$). Forty RA patients had suffered from the disease for less than 2 years and showed statistically significant differences in respect of the specificities ($P = 0.001$), PPVs ($P = 0.018$) and LRs ($P < 0.001$) of the anti-CCP. We calculated the LRs for different cut-off points in both tests and found LRs significant above 50 U for anti-CCP and above 200 IU for the FR. When the tests were combined with

commercially-suggested cut-off points, only the association of both the positive tests generated LR above 10 (43.4) and a posttest probability of 90%.

CONCLUSIONS: The anti-CCP test demonstrated superior performance in relation to the RF in a Brazilian population with a low pre-test probability and was more specific than RF in RA even in the cases of the initial onset of the disease. Sera levels above 50 U/ml for anti-CCP and above 200 IU/ml for RF indicated an increased probability of RA. Considering the commercial cut-off points, the combination of the two positive tests anti-CCP and RF can improve the probability of detection of the disease in a population with low suspicion of RA.

1. INTRODUÇÃO

O diagnóstico diferencial de síndromes clínicas articulares é um desafio constante da prática reumatológica.

A artrite reumatóide (AR) é a doença difusa do tecido conjuntivo mais freqüente. Tivemos grandes progressos na fisiopatogenia da AR nas duas últimas décadas, gerando novos medicamentos. Estudos prognósticos demonstraram que o dano articular com seqüelas está relacionado ao início tardio do tratamento com drogas modificadoras da doença. Quanto mais precoce o diagnóstico e o tratamento, melhor é o prognóstico.

Como conseqüência, o interesse por testes mais específicos no auxílio do diagnóstico diferencial das poliartrites aumentou. Revisando o fator reumatóide, estudos mostraram uma positividade baixa no primeiro ano de doença, variando de 15 a 50%, e pouca especificidade.

Uma família de auto-anticorpos na AR ganhou importância nos últimos anos: os anticorpos contra proteínas citrulinadas. Entre eles, o anti-CCP (antipeptídeo citrulinado cíclico) de segunda geração tem demonstrado melhor sensibilidade e especificidade em relação aos anteriores.

O interesse do estudo foi analisar o desempenho do teste em uma população semelhante à população no qual há interesse clínico.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ARTRITE REUMATÓIDE

2.1.1 Conceito

A artrite reumatóide (AR) é uma doença sistêmica, crônica, inflamatória, auto-imune, de etiologia desconhecida, que compromete várias articulações, tendo como característica a formação de erosões ósseas e, conseqüentemente, deformidades (1).

2.1.2 Epidemiologia

Prevalência e incidência

A AR ocorre em todas as raças e países. A prevalência mundial varia em torno de 0,5 a 1% dos adultos, dados de vários estudos europeus e norte-americanos (2). Existem diferenças em determinadas regiões do mundo, como em uma população de índios norte-americanos na qual a prevalência foi de 5% (2, 3). Estudos de populações da Nigéria, África do Sul, sudeste asiático, China e Japão encontraram baixa prevalência, menor de 0,3% (3). Existem dois estudos de prevalência no Brasil. Sato *et al* encontraram 0,2 % em uma população de origem japonesa no interior de São Paulo (4), e Marques Neto *et al* em estudo multicêntrico brasileiro mostraram uma variação de 0,2 a 1% conforme a macrorregião estudada (5). As diferenças populacionais sugerem haver diferenças genéticas envolvidas na AR. Curiosamente, observações recentes têm apontado uma diminuição na incidência da doença nos últimos 30 anos, relacionando a possibilidade de fatores ambientais estarem envolvidos na sua etiopatogenia (3, 6, 7). Os estudos sobre incidência anual são muito variáveis. Um estudo em uma população de Massachusetts, entre 1987 e 1990, encontrou uma incidência de 22 por 100.000 habitantes/ano no sexo masculino e de 66 por 100.000 habitantes/ano no feminino (8). Em relação ao sexo, a AR é mais freqüente em mulheres, em torno de 2 a 3 vezes (9). A incidência da doença aumenta com a idade.(3)

A AR está associada a um aumento da mortalidade, com uma diminuição da expectativa de vida em torno de 3 a 10 anos (2, 10).

Fatores de risco

Vários fatores de risco foram associados a AR, como fatores genéticos, ambientais e hormonais. Um estudo recente associou o fumo, a presença de anticorpos antipeptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP) e HLA-DRB1 como fatores de risco para AR, necessitando outros estudos (11).

Em pacientes do sexo masculino com AR, os níveis de hormônios sexuais, em especial testosterona, são mais baixos do que os homens sem AR. Hormônios sexuais femininos podem ter um papel protetor, já que o uso de anticoncepcional oral e gravidez diminuem o risco (3).

2.1.3 Etiologia

A etiologia da AR é desconhecida, embora haja evidências de que fatores genéticos, imunológicos e ambientais estejam envolvidos.

Fatores genéticos

Os estudos de agregação familiar e de gêmeos monozigóticos e dizigóticos demonstram que AR é uma doença complexa, provavelmente com penetrância incompleta, variância genética e envolvimento de genes múltiplos.

As moléculas DR localizam-se na superfície de células apresentadoras de antígeno e permitem o reconhecimento do antígeno pelo linfócito T. As regiões hipervariáveis na molécula DR são importantes para esse reconhecimento. A associação de AR com antígenos HLA-DR4, descrita em 1978 por Stastny, ainda é o fator genético mais estudado (12). Uma determinada seqüência de aminoácidos localizada na terceira região hipervariável da cadeia DRβ1 é responsável por essa associação. Essa seqüência associada a AR ficou conhecida como “epítipo compartilhado”. Quando presente, a AR é mais grave e com mais manifestações extra-articulares do que pacientes com epítipo compartilhado negativo. O epítipo compartilhado ocorre em torno de 20% da população de raça branca, e estima-se que a chance desse indivíduo de desenvolver a doença seja de 1 em 20. As associações do sistema HLA com AR

possuem nomenclaturas diferentes conforme o método de detecção - por sorologia, por técnica de cultura mista de linfócitos, ou biologia molecular. Estudos reforçam a associação do HLA-DRB1 com doença articular mais grave e presença de manifestações extra-articulares (13-15). Estima-se que apenas 30 a 50% do risco genético poderia ser explicado pelos genes localizados na região HLA. Outros genes estão sendo pesquisados, como genes associados ao controle de citocinas, especialmente fator de necrose tumoral- α (TNF- α), assim como regiões genéticas associadas a outras doenças auto-imunes (3, 16, 17). Recentemente, foi demonstrada uma associação do gene PTPN22 com doenças auto-imunes e sua variante PTPN22 620W, em dois estudos independentes, conferiu um risco para AR de 1,5 a 2 (18-20). Interesse no gene responsável pela enzima peptidil arginina deaminase (PAD) e sua relação com anticorpos anti-CCP tem originado estudos que sugerem que PAD4 confere suscetibilidade para AR (21-23).

Fatores ambientais

A hipótese de que fatores ambientais seriam gatilhos em pacientes geneticamente predispostos para o desenvolvimento de AR continua sendo investigada. Não há evidência conclusiva de que agentes infecciosos causem AR, mas há modelos animais que sugerem uma associação. Entre os agentes infecciosos principais já envolvidos temos: Mycoplasma, Parvovírus B19, Chamydia, micobactérias, bactérias entéricas, vírus da Rubéola, retrovírus (HTLV1 e lentivírus), e em especial o vírus de Epstein-Barr (24).

Mcgrow em 1999 descreveu pela primeira vez a purificação da enzima peptidil arginina deaminase (PAD) em um procariótico envolvido na patogênese da periodontite, o Porphyromonas gingivalis (25). Propôs que essa enzima seria um dos fatores virulentos para ocorrer a doença periodontal na presença da bactéria (25). Como a PAD está envolvida na formação de anticorpos anti-CCP (antipeptídeo citrulinado cíclico), recentemente, um grupo de New Jersey levantou a hipótese de que indivíduos predispostos a infecção periodontal pelo Porphyromonas gingivalis desencadeariam uma resposta humoral a partir da exposição de antígenos pela ação da PAD, com formação de anticorpos contra proteínas citrulinadas, tendo como alvo principal a fibrina deaminada (26).

Fatores imunológicos

A presença de auto-anticorpos com diferentes especificidades na AR sugere a hipótese de uma etiologia auto-imune (27). A aquisição de auto-antigenicidade é uma característica de proteínas modificadas. A IgG modificada, alvo do fator reumatóide, é reconhecida há anos. Recentemente, as proteínas citrulinadas despertaram interesse, por serem alvo de anticorpos específicos na AR (28).

A identificação de antígenos endógenos, especialmente colágeno do tipo II, causando AR em modelos experimentais, reforça uma participação na etiopatogenia da AR (29).

Outros auto-antígenos implicados na etiopatogenia da AR são: BiP, hnRNP A2 e epítipo compartilhado HLA-DR (30).

2.1.4 Patogênese

A AR é desencadeada por gatilho desconhecido. Seu órgão alvo é a sinóvia, onde macrófagos, células sinoviais e linfócitos T e B vão interagir levando a uma proliferação dos tecidos sinoviais, produção aumentada de líquido sinovial e infiltração do panus nos tecidos ósseos e cartilagosos adjacentes. Essas alterações serão responsáveis pelas manifestações clínicas e radiológicas. O papel dos linfócitos T e B na iniciação e perpetuação da AR parece ser muito importante. Os linfócitos T, em especial do tipo Th1 ativados, predominam nos tecidos sinoviais. Esses linfócitos ao serem ativados por antígeno ou antígenos desconhecidos apresentados por macrófagos, linfócitos B ou sinoviócitos no contexto DR, secretam citocinas, em especial interleucina-1 (IL-1) e TNF- α , que auxiliam a perpetuação do processo inflamatório.

A participação do sistema humoral é evidenciada através da importância do fator reumatóide (FR) e auto-anticorpos mais específicos contra proteínas citrulinadas (31).

2.1.5 Apresentação Clínica

A AR é caracterizada pelo envolvimento de articulações diartrodiais e manifestações extra-articulares variáveis. O envolvimento de bursas e tendões ocorre com frequência, podendo predominar no início da doença. Qualquer

articulação pode ser afetada, mas em geral há comprometimento de articulações metacarpofalangianas, interfalangianas proximais e metatarsfalangianas, assim como punhos e joelhos. As articulações são afetadas freqüentemente de forma simétrica, poupando as interfalangianas distais, sacroilíacas e a coluna lombar. A sinovite é pior pela manhã. A rigidez matinal que demora geralmente mais de uma hora para obter melhora máxima, e o envolvimento de mãos são manifestações típicas e de aparecimento inicial da doença. Sintomas como febre, fadiga, perda de peso, dores musculares difusas podem acompanhar, ou mesmo preceder o quadro articular. Também a atrofia muscular ao redor da articulação inflamada pode ocorrer precocemente, contribuindo para a incapacidade funcional nas atividades diárias. No exame físico, há edema e dor a palpação de região articular e periarticular, com limitação do movimento (32, 33).

O início dos sintomas pode ser de forma insidiosa ou aguda. Na insidiosa, o paciente só consegue definir o mês aproximado do início da doença. No início agudo ou subagudo, o paciente define a data do início dos sintomas, em torno de 15 a 25% dos casos, em geral, poliarticular com febre. Outros padrões de apresentação são: monoarticular, reumatismo palindrômico, polimialgia-like, e manifestações extra-articulares. O reumatismo palindrômico é caracterizado por episódios recorrentes e de remissão espontânea de oligoartrite sem dano residual radiológico. O início da AR em idosos pode ser indistinguível da polimialgia reumática, com mialgias e artralguas principalmente da região de cinturas escapular e pélvica (33). Manifestações extra-articulares ocorrem em menos de 10% dos pacientes como vasculite, alterações oculares, pulmonares, renais, cardíacas e neurológicas (34). Os nódulos reumatóides estão presentes em torno de 30% dos pacientes, já demonstrado em estudos no nosso meio (35, 36). A síndrome de Sjögren ocorre em torno de 10 a 38% dos pacientes com AR (36, 37).

2.1.6 Diagnóstico

O diagnóstico na AR envolve os quadros clínico, laboratorial e radiológico. Os critérios de classificação de doença para AR do Colégio Americano de Reumatologia (ACR) (anexo 1) compreendem 5 critérios clínicos, um teste laboratorial e um radiológico (38). O teste laboratorial recomendado pelo ACR é o fator reumatóide. Esses critérios são utilizados mundialmente para

uniformização dos estudos clínicos. Com quatro critérios clínicos podemos fazer diagnóstico de AR, ou seja, apenas utilizando anamnese e exame físico. No entanto, muitas vezes há dúvida diagnóstica e terapêutica.

O quadro clínico reconhecido pelo ACR é a apresentação clássica da doença, com rigidez matinal mínima de uma hora, envolvimento de mãos, simetria, mais de três articulações comprometidas e nódulos reumatóides. Utilizando esses critérios, poderá ser difícil o diagnóstico da AR nos seus primeiros meses de doença. Atualmente, é reconhecida a importância da precocidade do diagnóstico para iniciar o mais cedo possível o tratamento com medicamentos modificadores da doença, e prevenir erosões ósseas (39-41). O interesse sobre artrite reumatóide nas suas fases iniciais resultou na utilização por pesquisadores da nomenclatura de artrite reumatóide inicial ou precoce, determinado por períodos que variam de 3 a 24 meses de evolução, desde o início dos sintomas articulares, conforme o estudo (42, 43). No entanto, não há um consenso sobre esse assunto (44).

Muitos pacientes apresentam casos incomuns, em especial, no início da doença. Por outro lado, a preocupação de utilizar como critério classificatório de AR alterações radiológicas e de mãos, pode gerar diagnósticos tardios ou mesmo dúvida diagnóstica em pacientes com alguns anos de doença, que podem ter alterações clássicas radiológicas em pés, por exemplo.

Para auxiliar o diagnóstico precoce da AR vem sendo utilizada a ultrassonografia para estudo da articulação, bursa e tendão (33), com interesse recente na ultrassonografia de alta frequência com doppler, bem como a ressonância magnética (45-47).

A avaliação do paciente com AR também deve ser dirigida para a identificação de parâmetros sugestivos de mau prognóstico, como início da doença em idade precoce, altos títulos de FR, velocidade de hemossedimentação (VHS) e a proteína C reativa (PCR) persistentemente aumentadas, artrite em mais de 20 articulações, manifestações extra-articulares, e presença de erosões ósseas nos dois primeiros anos de doença (32). Devemos monitorizar o paciente com exames laboratoriais e radiológicos, para avaliação dos parâmetros citados e de efeitos colaterais do uso de medicamentos, bem como a densitometria óssea também será útil para o acompanhamento do paciente com AR (48).

2.1.7 Laboratório

Na avaliação inicial do paciente com AR utilizamos o hemograma, plaquetas e provas de atividade inflamatória como a VHS e a PCR. Podemos encontrar uma anemia de doença crônica, normocítica e normocrômica, e trombocitose. A VHS e a PCR podem estar aumentadas na AR, havendo boa correlação com períodos de atividade da doença (49).

Entre os testes comerciais utilizados para auxílio diagnóstico estão o fator reumatóide, amplamente utilizado na prática clínica, e o anti-CCP, teste novo, reconhecido no meio científico pela sua alta especificidade na AR.

2.1.8 Auto-anticorpos na AR

A AR é uma doença auto-imune sistêmica, ou seja, produz anticorpos que reconhecem antígenos presentes nas células e tecidos do próprio indivíduo. Conseqüentemente, podemos encontrar outros auto-anticorpos circulantes nos pacientes com AR além do FR e do anti-CCP. Auto-anticorpos são utilizados no auxílio diagnóstico e, muitas vezes, como marcadores prognósticos, facilitando o acompanhamento clínico e terapêutico (50).

Estudos randomizados, controlados, demonstram que a depleção seletiva de linfócitos B com a utilização de anticorpos anti-CD20 em pacientes com AR leva a uma melhora clínica sustentada (51-53). Esse fato aponta a importância dos linfócitos B, e dos auto-anticorpos, na fisiopatogenia da AR (53).

Os anticorpos antinucleares ocorrem em 14 a 50% dos casos de AR (27). Anticorpos anti-RA33, cujo alvo são ribonucleoproteínas heterogêneas A2 (hnRNP-A2), ocorrem em torno de 30% dos pacientes com AR, mas também em pacientes com LES e com doença mista do tecido conjuntivo (54, 55). Outros auto-anticorpos foram descritos, entre eles os anticorpos anti-BiP têm despertado interesse mais recente, com um teste de ELISA com sensibilidade de 73% e especificidade de 71% (55, 56).

2.2 FATORES REUMATÓIDES

Descritos pela primeira vez em 1940 por Waaler, FRs são auto-anticorpos dirigidos contra determinantes antigênicos da porção Fc da molécula de IgG, utilizados na suspeita de AR e de outras doenças auto-imunes (57).

Podem ser detectados em 60 a 80% dos pacientes com AR. É considerado um teste sensível, mas pouco específico, com especificidade em torno de 70% (27, 58). Apesar de estarem presentes antes do surgimento dos sintomas na AR, sua sensibilidade é mais baixa nos primeiros anos de doença, em torno de 40% (54, 59).

Fatores reumatóides podem ser de diferentes isotipos, como IgA, IgG e IgM, sendo este último o mais detectado pelos testes usualmente utilizados. Entre os testes, temos os de aglutinação (Látex e Waaler-Rose), radioimunoensaio, imunofluorescência indireta, ELISA e a nefelometria que está sendo adotada por vários laboratórios devido a sua precisão na análise quantitativa (60-62). O FR IgM é o melhor isotipo para a triagem diagnóstica, enquanto que o FR IgA associa-se a pior prognóstico radiológico (49, 63).

FRs podem ser encontrados no soro de pacientes com outras doenças difusas do tecido conjuntivo (20-60%), doenças auto-imunes, doenças infecciosas, hiperglobulinemias, doenças neoplásicas e indivíduos saudáveis (27, 64). Além disso, o FR serve para classificar os pacientes em soropositivos e soronegativos, o que auxilia na determinação de características evolutivas próprias e orientação terapêutica (39). Pacientes soropositivos e com altos títulos têm associação com doença mais grave, manifestações extra-articulares, principalmente nódulos reumatóides (65-67). A associação da presença do FR com aumento da mortalidade de origem cardiovascular tem despertado interesse (68-70).

2.3 ANTICORPOS ANTIPROTEÍNAS CITRULINADAS

2.3.1 Histórico

Em 1964, Nienhuis e Mandema em Groningen, na Holanda, investigavam a presença de fator antinuclear (FAN) em soros de pacientes com lupus eritematoso sistêmico (LES), AR e outras doenças, utilizando células da mucosa oral humana como substrato. Identificaram uma fluorescência citoplasmática presente praticamente apenas em pacientes com AR e chamaram o teste de fator antiperinuclear (FAP) (71) .

Quinze anos depois Young *et al* descreveram outro auto-anticorpo altamente específico para AR, cujo antígeno encontra-se presente na camada superficial do epitélio do esôfago de rato, denominado anticorpo antiestrato córneo ou antiqueratina (AKA) (72).

Hoet, em 1991, identificou a pró-filagrina como o antígeno alvo do FAP e, dois anos depois, Simon demonstrou que a filagrina seria o alvo do AKA (73, 74). Sebbag propôs então, que ambos fazem parte de uma mesma família de auto-anticorpos reunidos sob a denominação de anticorpos anti-filagrina (75).

Nos anos seguintes, diferentes testes foram desenvolvidos utilizando filagrina (76, 77). No entanto, o entendimento sobre o porquê da relação da sinóvia e da filagrina, uma proteína envolvida em processos de mucosa e epiderme, era ainda uma incógnita. Finalmente, em 1998, van Venrooij e sua equipe ao procurarem um hapteno como um elo no processo, identificaram a citrulina como alvo dos anticorpos anti-filagrina (78).

2.3.2 Fator antiperinuclear

O antígeno localiza-se ao redor do núcleo nos grânulos quérato-hialinos de células da mucosa oral humana (79, 80). Esses grânulos contêm como alvo antigênico uma proteína insolúvel: a pró-filagrina (81, 82).

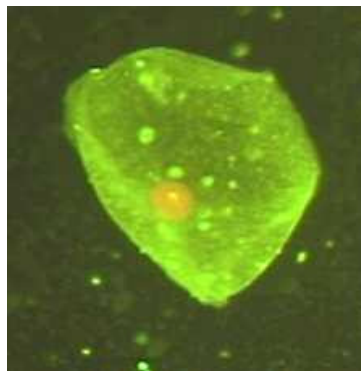


Figura 1. Teste positivo de imunofluorescência indireta do fator antiperinuclear em célula da mucosa bucal. Grânulos quérato-hialinos fluorescentes ao redor do núcleo corado por brometo de etídio (400X).

A sensibilidade do FAP na AR varia de 37 a 87% e a especificidade de 73 a 99% (73, 83-85) .

A utilidade clínica do teste é auxiliar no diagnóstico de AR, em especial nos primeiros anos de doença, havendo resultados contraditórios em relação à atividade e gravidade da doença (36, 86, 87).

Santos e Andrade estudaram 176 brasileiros com AR e detectaram uma sensibilidade de 59% e especificidade de 95% (88). Em população semelhante, Silveira e von Mühlen encontraram uma sensibilidade de 57% e especificidade de 98% (36). Em ambos os estudos não houve associação com gravidade da doença ou manifestações extra-articulares (36, 88).

2.3.3 Antiestrato córneo de esôfago

O antígeno, presente na camada superficial do epitélio de esôfago de rato, foi identificado em 1993 como filagrina (74, 89). A filagrina interage e alinha os filamentos de citoqueratinas. O precursor da filagrina, a pró-filagrina, estocada nos grânulos quérato-hialinos, durante a diferenciação de células granulosas para células cornificadas, sofre modificações liberando unidades funcionais de filagrina (81, 82, 90).

Conseqüentemente, a partir dessas descobertas, firmou-se a hipótese de que o FAP e o AKA constituíssem uma mesma população de auto-anticorpos.

A sensibilidade do AKA varia de 16 a 69%, sendo de 40% em estudo brasileiro, com especificidade de 88 a 100%(85, 88).

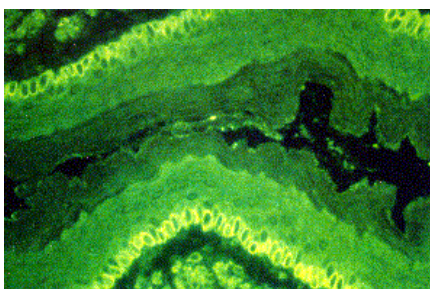


Figura 2. Teste de imunofluorescência indireta de corte transversal de esôfago de rato, mostrando padrão linear laminar do anticorpo antiesttrato córneo de esôfago.

2.3.4 Anti-filagrina

Com a identificação antigênica do FAP e do AKA, e com a confirmação por Sebbag *et al* em 1995 de que FAP e AKA são anticorpos reativos com a filagrina, vários grupos desenvolveram novos testes como detecção por *immunoblott* com proteína extraída de epitélio de esôfago de rato, filagrina

deaminada recombinante de rato, filagrina da epiderme humana, filagrina humana recombinante, e ELISA a partir da filagrina humana de epiderme (75, 77, 78, 91-95).

2.3.5 Anti-Sa

Em 1994, Despres descreve o sistema Sa como uma nova família de auto-anticorpos específicos na AR (96). Sa são as primeiras letras do nome do paciente com AR em que foi identificado este sistema antigênico, encontrado na placenta, baço e tecido sinovial (96, 97). A sensibilidade é em torno de 21-43% e a especificidade de 92-100% para diagnóstico de AR (27, 97, 98). Em 2004, Vossenaar e colaboradores confirmaram que o antígeno do anti-Sa é a vimentina citrulinada. Portanto, anticorpos anti-Sa fazem parte também da família de anticorpos contra proteínas citrulinadas ou ACPA (99).

2.3.6 Anticorpos contra proteínas citrulinadas

O entendimento de que os alvos antigênicos do FAP, do AKA e da anti-filagrina eram comuns a todos, levou a identificação de que os epítomos eram gerados por uma modificação pós-translacional da (pró) filagrina (100). Esse processo transforma resíduos de arginina em resíduos de citrulina (figura 3) (100, 101). Foi demonstrado que anticorpos anti-filagrina são sintetizados localmente e secretados por plasmócitos do panus, sugerindo a presença do antígeno na sinóvia (102). No entanto, como a filagrina não é expressa na articulação, foi sugerido que in vivo esses anticorpos reagiriam com proteínas citrulinadas da sinóvia e in vitro, por reação cruzada, com a (pró) filagrina (101). O estudo através da imunohistoquímica da sinóvia com ACPA demonstrou a presença local de várias proteínas citrulinadas, salientando-se duas: fibrina de cadeia α e de cadeia β (103). A fibrina citrulinada é, provavelmente, o principal alvo antigênico dos ACPA, incluindo anti-Sa (101).

2.3.7 Citrulinização

A citrulina é um aminoácido considerado não-padrão, que não pode ser incorporado por proteínas durante a síntese proteica. O metabolismo da citrulina ocorre de duas formas: proteínas citrulinadas e uma forma livre, sob ação das enzimas óxido nítrico sintetase, ornitina carbamil transferase, e arginino-succinato

sintetase (104). A proteína citrulinada é gerada pela deaminação da arginina, processo de modificação translacional que ocorre durante apoptose e durante a diferenciação terminal celular, em indivíduos saudáveis e em modelos animais com artrite induzida (105). Os processos de modificação translacional levam ou a perda ou a ganho de função. A citrulinação é catalisada por uma família de enzimas cálcio-dependente, chamada peptidil arginina deaminase (PAD) (106). A consequência desse processo é a perda de uma carga positiva e uma alteração estrutural da proteína, alterando sua função (107) .

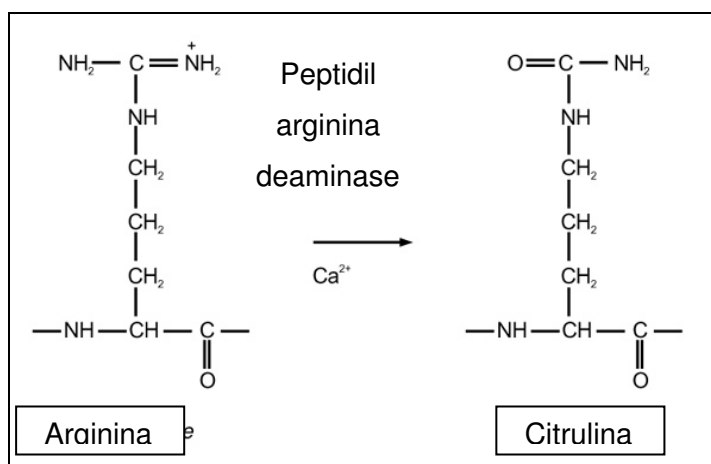


Figura 3. Conversão enzimática de resíduos de arginina em citrulina, catalisada pela enzima peptidil arginina deaminase na presença de íons cálcio. Modificado de W.J.van Venrooij em *Arthritis Res.* 2000; 2(4): 249–251.

Existem cinco isotipos de enzimas PAD em mamíferos (PAD1-PAD4 e PAD6). Os substratos da PAD são proteínas com importantes funções estruturais, como por exemplo, proteínas de filamentos intermediários, proteína básica da mielina (MBP), histonas, e fibrina (107) . Ambas PAD2 e PAD4 são expressas na sinóvia e no sistema nervoso central e são as mais importantes para estudos em AR e Esclerose Múltipla (108) . Proteínas citrulinadas e PAD4 não foram encontradas em articulações saudáveis de modelos animais, apenas em articulações inflamadas (109) . Necessitam elevados níveis de cálcio para sua

atividade enzimática; como células normais apresentam baixos níveis, a PAD é ativada apenas em situações anormais em que se elevam níveis de cálcio, como morte celular ou estágios finais da diferenciação de células da epiderme (107)

A partir desse conhecimento, surgiram estudos sobre os genes envolvidos na regulação dessas enzimas. Foi identificado em japoneses um haplótipo de PADI4 associado a maior suscetibilidade para AR, no entanto não encontraram mesma associação em europeus (110-112) .

2.3.8 Anti-CCP

O anti-CCP foi introduzido comercialmente através de um teste de ELISA pelo grupo de pesquisa liderado pelo Prof. Walther van Venrooij com peptídeos sintéticos a partir da citrulina - cfc1,cf0,cfc1-cyc,cf0-cyc (78, 113). Há estudos em populações europeia, asiática e no continente americano (114-122). O teste é distribuído, através de três grandes empresas: Axis-Shield, Euro-diagnóstica e Inova Diagnostics. Uma grande vantagem é o acordo entre elas de utilizar os placas com peptídeos semelhantes para os testes(123). Estudos demonstram uma boa reprodutibilidade desses testes auxiliando a comparação entre eles (124-127).

2.3.9 Utilidade clínica

ACPAs e anti-CCP são anticorpos muito específicos para AR, e podem aparecer precocemente (128, 129). Esses testes são marcadores de doença erosiva com pior evolução (49, 130, 131) Estudos evidenciaram a presença de anti-CCP e FR IgM até 10 anos antes do início dos sintomas da doença, sugerindo uma participação na sua fisiopatogenia (59, 132, 133). Há associação do anti-CCP com HLA-DRB1, indicando doença mais grave, com possibilidades futuras para avaliação prognóstica (134-136).

O tratamento com agentes biológicos poderia influenciar nos níveis séricos de anti-CCP e FR, mas há diferenças nos resultados e nas drogas utilizadas (137-142) . A depleção de linfócitos B na terapia com anticorpo monoclonal anti-CD20 levaria a uma diminuição nos níveis séricos de anti-CCP e FR (51)

Estudos encontraram uma associação negativa da presença de anticorpos anti-CCP com síndrome de Sjögren primária, LES, Granulomatose de

Wegener, polimialgia reumática, reumatismo palindrômico, doença mista do tecido conjuntivo, artropatia associada ao vírus C da hepatite e osteoartrite erosiva (117, 143-151) . A prevalência dos anticorpos anti-CCP na artrite psoriásica variou de 6 a 16% em diferentes estudos (152-155). Um estudo comparando aspectos histológicos da artrite psoriásica e da AR não encontrou presença de peptídeos citrulinados na sinóvia de pacientes com artrite psoriásica (156). Esses estudos indicam a possibilidade da solicitação do anti-CCP para diagnóstico diferencial com essas doenças.

Na artrite idiopática da infância, a positividade do anti-CCP apresentou-se em geral muito baixa, variando em torno de 2 a 8% na maioria dos estudos. (124, 157-161). Dois outros estudos encontraram uma positividade maior na artrite idiopática da infância com apresentação clínica poliarticular, inclusive Low e colaboradores utilizaram outros peptídeos citrulinados além do anti-CCP (124, 162). Até o momento, não há indicação da solicitação do teste do anti-CCP para diagnóstico diferencial das doenças inflamatórias em crianças.

2.3.10 Possibilidades futuras

Há um grande interesse no entendimento dos ACPA na fisiopatogenia da AR. A principal hipótese atual do papel dos anticorpos ACPA sugere que uma inflamação subclínica poderia induzir citrulinização de proteínas endógenas. Isso ocorreria não necessariamente nas articulações, mas em qualquer outra região do corpo humano. Anticorpos antiproteínas citrulinadas, em um contexto genético, seriam geradas, com potencial de desencadear uma inflamação articular, iniciando AR (109) . A observação futura sobre o papel desse auto-anticorpos deve esclarecer as dúvidas atuais. Por outro lado, se ACPAS estão envolvidos na indução de complexos imunes, na amplificação e perpetuação da resposta inflamatória na AR, uma nova possibilidade terapêutica poderia ser o bloqueio na formação desses complexos imunes (107).

Novos peptídeos, assim como novos testes, estão sendo desenvolvidos, entretanto, o anti-CCP é o único teste novo com aplicação na prática reumatológica. Não há um consenso sobre incluir anti-CCP ou ACPA para compor critério de classificação diagnóstica do ACR até o momento, mas é uma idéia defendida há alguns anos por pesquisadores europeus (107) .

3. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

O diagnóstico diferencial de síndromes clínicas articulares é um grande problema na Reumatologia. Estudos sugerem que o teste do anticorpo antipeptídeo citrulinado cíclico apresenta melhor desempenho para auxílio diagnóstico inicial da AR. Nossa proposta foi avaliar este teste frente à probabilidade de AR simulando condições nas quais haveria necessidade de solicitá-lo, e comparando-o com o FR. Diferentemente de outras populações estudadas, nas quais o grupo é composto por pacientes com artrite inicial ou com doença bem estabelecida, optamos por uma pesquisa original onde estudamos uma ampla população não selecionada para a qual foi solicitado FR por médico generalista ou especialista, seja para auxílio diagnóstico ou acompanhamento de doença.

Para avaliar a probabilidade de ter AR e determinar os valores absolutos do teste que dariam o melhor desempenho para o diagnóstico de AR, foi testado o anti-CCP nos pacientes e determinado o motivo da solicitação do FR.

3.1 HIPÓTESES

3.1.1 Hipóteses conceituais

3.1.1.1 A probabilidade de AR a partir de testagem positiva para FR e anticorpos anti-CCP é alta;

3.1.1.2 Na avaliação inicial do paciente com artrite devemos solicitar anticorpos anti-CCP e FR concomitantemente;

3.1.1.3 A presença de anticorpos anti-CCP em pacientes com AR inicial é de auxílio diagnóstico.

3.1.2 Hipóteses operacionais

3.1.2.1 A probabilidade de AR a partir de testagem positiva para FR e anticorpos anti-CCP é baixa;

3.1.2.2 Na avaliação inicial do paciente com artrite não devemos solicitar anticorpos anti-CCP e FR concomitantemente;

3.1.2.3 A presença de anticorpos anti-CCP em pacientes com AR inicial não é de auxílio diagnóstico.

4. OBJETIVO:

Avaliar a probabilidade de AR a partir da testagem para FR e anticorpos anti-CCP em uma população não-selecionada.

5. MATERIAL E MÉTODOS:

5.1 DELINEAMENTO

Característica do estudo: transversal.

-Variáveis principais: fator reumatóide e anticorpos anti-CCP.

-Desfecho: artrite reumatóide.

5.2 POPULAÇÃO

A população do estudo foi selecionada através da inclusão de todos os pacientes que realizaram o teste para FR de forma consecutiva pelo laboratório central do Hospital São Lucas da PUCRS no período previamente estabelecido pelo estudo.

5.3 LOCAL

O presente estudo tem origem na realização do teste do FR pelo Laboratório Central do Hospital São Lucas da PUCRS. Este laboratório recebe solicitações de exames de todo o Hospital São Lucas da PUCRS, incluindo emergência, ambulatório e internação de origem previdenciária, outros convênios e particular, sendo um hospital geral. O mesmo laboratório é referência para um Centro Clínico anexo ao hospital com atendimento privativo. Da mesma forma é referência para exames laboratoriais oriundos do atendimento primário da Vila Nossa Senhora de Fátima, região do Campus aproximado da PUCRS.

5.4 PERÍODO

A coleta de dados do estudo teve duração total de 18 meses.

O período de inclusão de pacientes transcorreu no período de 15 de abril até 15 de outubro de 2003. O tempo de seis meses foi determinado a partir de um estudo piloto sobre o número de solicitações do teste FR durante um mês no

laboratório alvo, com estimativa de 30 % de casos que não preencheriam os critérios de inclusão e exclusão, objetivando um número mínimo de 600 pacientes.

Um ano após a inclusão do paciente era feita a revisão do diagnóstico para identificar alterações do quadro clínico e confirmação do diagnóstico, no período de abril à outubro de 2004.

5.5 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Os critérios de inclusão foram os seguintes:

- adultos, com idade igual ou acima de 18 anos;
- ter coletado o exame do FR no período de 15 de abril a 15 de outubro de 2003 independente do motivo ou do médico solicitante;
- identificação do motivo da solicitação do FR com definição diagnóstica até 1 ano após a coleta.

O critério de exclusão consistiu de:

- amostras realizadas de forma repetida em um mesmo paciente, durante os seis meses do estudo, sendo excluídas as solicitações seguintes.

5.6 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO

Foram selecionados 1025 soros consecutivos do laboratório central do Hospital São Lucas da PUCRS. Desses, 858 foram provenientes de solicitações dos ambulatórios e emergências do Hospital, do Campus Avançado da Vila Nossa Senhora de Fátima e do Centro Clínico da PUCRS. Os 167 soros restantes eram de pacientes internados no mesmo hospital e período.

Dos 1025 soros, 593 eram oriundos do sistema único de saúde (SUS) e 432 eram convênios e particulares.

Foram excluídos 62 soros que não preenchiam o primeiro critério de inclusão, tendo idades menores de 18 anos. Em 23 pacientes houve solicitação repetida, sendo excluídas as segundas amostras sorológicas, de acordo com critério já descrito.

Conseqüentemente, 940 pacientes foram investigados para identificar o motivo da solicitação do teste do FR. Uma equipe envolvendo monitores, médicos residentes, reumatologistas e a pesquisadora e coordenadora, durante os 6 meses da seleção dos pacientes, entrou em contato com os pacientes acessíveis, apresentou termo de consentimento informado, e coletou informações como idade, sexo, origem, nome e especialidade do médico solicitante, tempo de duração de sintomas articulares, motivo da solicitação do FR e diagnóstico ou hipótese referente à solicitação (anexo 2). Os pacientes que não puderam ser contactados, tiveram os dados coletados através da revisão do prontuário médico, do contato com o médico solicitante ou encaminhamento à equipe da reumatologia para avaliação. Os soros foram armazenados a -4°C para posterior testagem do anti-CCP.

Equipe semelhante à anterior, um ano depois, a partir de abril de 2004, revisou o motivo de solicitação do teste e o diagnóstico final. Os métodos empregados foram: avaliação em reconsultas, revisão de prontuário, contato telefônico ou contato com o médico responsável. A equipe do estudo era cega para os testes do FR e anti-CCP. Nesta etapa, 151 pacientes permaneceram sem identificação do motivo da solicitação ou diagnóstico, portanto sem preencher critério de inclusão. Outros 21 pacientes continuavam com dúvida diagnóstica se seria AR, sem preencher critérios de classificação da AR, sendo excluídos. Esses últimos, assim como os diagnósticos definidos de AR foram revisados por reumatologistas experientes que não participaram do estudo.

5.7 METODOLOGIA

A testagem para FR IgM foi efetuada através de um analisador nefelométrico comercial BNII (Dade Behring, Marburg, Alemanha). Partículas de poliestireno recobertas com complexo antígeno-anticorpo de globulina humana/anti-globulina humana de ovelha são aglutinadas quando misturadas com amostras contendo fatores reumatóides. A intensidade de luz dispersa é dependente do conteúdo de FR. O ponto de corte do FR foi menor ou igual a 15 UI/mL.

O teste de ELISA semi-quantitativo para anti-CCP IgG de segunda geração foi realizado segundo instruções técnicas para QUANTA Lite TM Anti-

CCP ELISA do laboratório INOVA Diagnostics Inc., San Diego, CA, EUA. Soros controles pré-diluídos e soros diluídos de pacientes foram adicionados em duplicata e incubados por 30 minutos em temperatura ambiente, permitindo que qualquer anticorpo anti-CCP presente se ligasse ao peptídeo citrulinado cíclico sintético que se encontrasse na superfície da microplaca. Após a lavagem da placa, é acrescentada a cada poço anticorpos anti-IgG humana marcada com enzima, e incubada à temperatura ambiente por 30 minutos. Depois da lavagem, a atividade da enzima remanescente foi medida ao acrescentar o substrato cromogênico ^{TMB} por 30 minutos, e a densidade óptica foi medida em 450 nm usando uma leitora de microplaca. A reatividade para cada amostra foi então calculada dividindo a média da densidade óptica da amostra pela média da densidade óptica do soro controle positivo fraco. O soro foi classificado pelo fabricante como negativo (<20 Unidades), positivo fraco (20- 39 Unidades), positivo moderado (39-59 Unidades), ou positivo forte (>60Unidades).

$$\text{Amostra (em unidades)} = \frac{\text{densidade óptica da amostra}}{\text{densidade óptica do controle positivo fraco}} \times \text{controle positivo fraco (em unidades)}$$

Os testes foram realizados de forma cega em todos os 1025 soros da amostra, em período não relacionado a rotina laboratorial. Para evitar erro sistemático foi realizado um experimento de cada vez, com cada kit contemplando 100 poços, em um total de 11 experimentos. O ponto de corte considerado positivo, de acordo com o ponto de corte mínimo sugerido pelo kit comercial, foi igual ou maior do que 20 U/mL.

Para o diagnóstico de AR foram considerados como “padrão ouro” os critérios de classificação do ACR (anexo 1). Pacientes com AR foram classificados como doentes, e sem AR, como controles, para fins de análise estatística. O diagnóstico dos controles na área da reumatologia baseou-se nos critérios de classificação do ACR, da comunidade europeia, ou classificação como indeterminados dentro de doenças do tecido conjuntivo (DTC), espondiloartropatias soronegativas (EAS), e reumatismos de partes moles ou osteoartrite (RPM). Outros diagnósticos não-reumatológicos foram aceitos conforme os pressupostos de cada área, subdivididos em doenças auto-imunes

não-reumatológicas (DAI), neoplasias malignas (CA) e outras doenças não classificadas (OUT).

5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados quantitativos foram descritos por média e desvio padrão, mediana e amplitude interquartil, enquanto que para as variáveis categóricas foram utilizadas a frequência absoluta e o percentual. Para as comparações das variáveis quantitativas com distribuição gaussiana usou-se análise de variância (ANOVA) e teste *t* de Student, e para distribuição não-gaussiana testes de Mann-Whitney e de Kruskal-Wallis. A comparação de proporções independentes foi realizada por qui-quadrado e de proporções emparelhadas pelo teste de McNemar.

Para avaliar o desempenho diagnóstico dos testes foram calculados sensibilidades, especificidades, razões de verossimilhança (RV), valores preditivos positivo e negativo (VPP e VPN) e seus respectivos intervalos de confiança de 95% (IC95%). Também foi calculada curva ROC e sua área com intervalo de confiança de 95%.

Adicionalmente, para avaliar as diversas relações envolvidas utilizou-se um modelo de regressão logística.

O nível de significância adotado foi de $\alpha=0,05$.

Foram utilizados os programas MEDCALC for Windows (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium) e SPSS for Windows, versão 11.5 (SPSS Inc., Chicago, EUA) para a execução da análise dos dados.

5.9 ÉTICA

O estudo desenvolvido foi realizado em conformidade com as resoluções do Conselho Nacional de Saúde. O projeto deste estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

O modelo do Consentimento Informado encontra-se no anexo 3.

6. RESULTADOS:

6.1. CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA

Foram selecionados 1025 soros consecutivos do laboratório central do Hospital São Lucas da PUCRS. Destes, 858 (84%) foram provenientes de solicitações dos ambulatórios e emergências do Hospital, do Campus Avançado da Vila Nossa Senhora de Fátima e do Centro Clínico da PUCRS. Os 167 (16%) soros restantes eram de pacientes internados no mesmo hospital e período.

Dos 1025 soros, 593 eram oriundos do sistema único de saúde (SUS) e 432 eram convênios e particulares. Foram excluídos 62 soros que não preenchiam o primeiro critério de inclusão, com idades menores de 18 anos. Em 23 pacientes houve solicitação repetida, sendo excluídas as segundas amostras sorológicas, de acordo com critério já descrito. Estas amostras foram estudadas para avaliar a reprodutibilidade do teste, sendo encontrado um coeficiente de correlação intra-classe de 0,98 (ICC) entre 23 amostras repetidas em um intervalo médio de $3,7 \pm 1,3$ meses no período de 6 meses do estudo (anexo 4).

Conseqüentemente, 940 pacientes foram investigados para identificar o motivo da solicitação do teste do FR. Nesta etapa, 151 pacientes permaneceram sem identificação do motivo da solicitação ou diagnóstico, portanto sem preencher critério de inclusão. Outros 21 pacientes continuavam com dúvida diagnóstica se seria AR, sem preencher no mínimo 4 critérios de classificação para AR pelo ACR por dois reumatologistas, em mais de uma consulta médica, sendo excluídos. Portanto não foi possível confirmação diagnóstica em 172 casos. Os motivos principais foram: atendimento via emergência em que não houve contato com a reumatologia, ou ausência de dados na entrada do exame para identificação completa do paciente ou seu médico. Os dados demográficos e laboratoriais destes 172 pacientes encontram-se no anexo 5.

FLUXOGRAMA

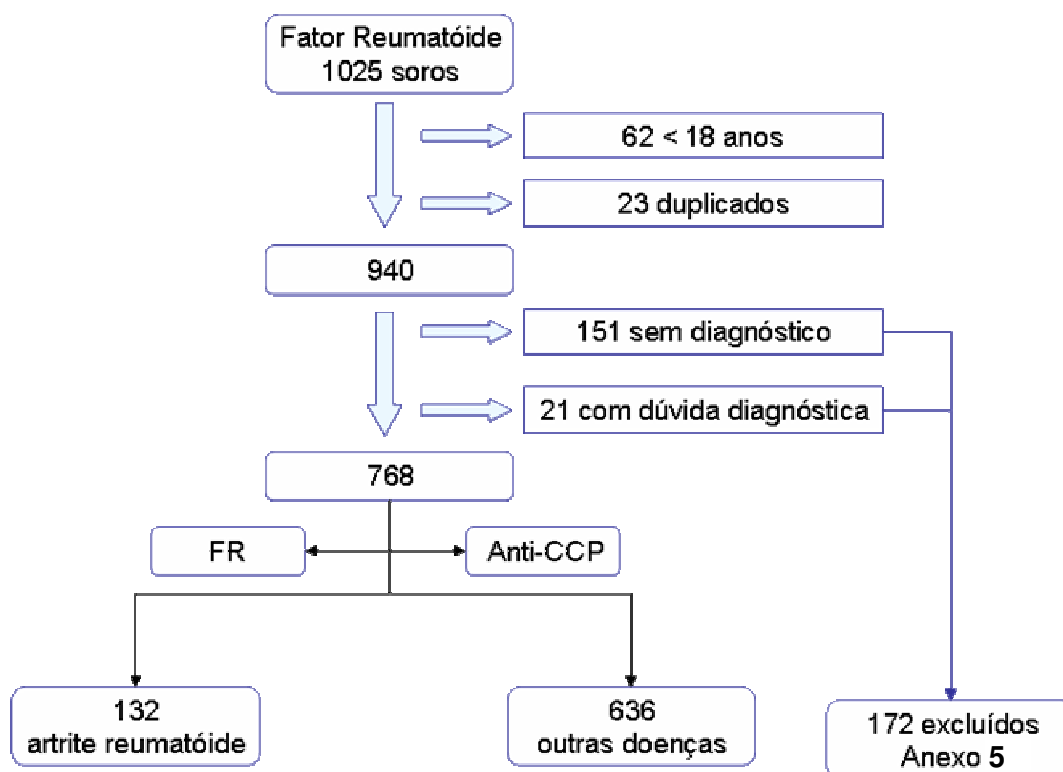


Figura 4. Fluxograma do estudo.

Finalmente, o número total do estudo foi de 768 pacientes. A solicitação do teste do FR por reumatologistas foi de 47% (359) e por não-reumatologistas de 53% (409), não havendo diferença estatisticamente significativa ($P= 0,06$). A positividade do anti-CCP e do FR foi de 13 % e 19 %, respectivamente. A positividade dos 2 testes foi maior quando solicitada por reumatologistas (anexo 6).

As características demográficas do grupo são apresentadas na tabela 1. Foram encontrados vários diagnósticos resumidos e agrupados em 7 subgrupos: artrite reumatóide (AR), doenças do tecido conjuntivo e vasculites (DTC), espondiloartropatias soronegativas (EAS), reumatismos de partes moles e osteoartrite (RPM), doenças auto-imunes não reumatológicas (DAI), neoplasias (CA) e doenças não-classificáveis nos grupos anteriores (OUT) . A especificação dos diagnósticos mais prevalentes e os resultados do FR e anti-CCP nestes grupos encontram-se em anexos 7.

A prevalência ou probabilidade pré-teste foi de 17%. A proporção de pacientes com AR em relação ao sexo feminino/masculino foi de 3,7: 1. Pacientes

sem AR eram mais jovens, enquanto que pacientes com AR tinham sintomas articulares há mais tempo.

TABELA 1 .Características Clínico-demográficas de 768 pacientes.

Característica	Total (%) N=768	Artrite Reumatóide (%) N=132	Sem Artrite Reumatóide (%) N=636	P
Sexo				
Feminino	605 (79%)	104 (79%)	501 (79%)	0.606
Masculino	163 (21%)	28 (21%)	135 (21%)	
Idade (anos)	52 ± 15	56 ±15	52 ±15	0.006*
Duração (meses)	12 (0 -720)	60 (2-720)	6 (0-360)	0.001*
Origem				
Ambulatoriais	621 (81%)	111 (84%)	510 (80%)	0.544
Hospitalizados	147 (19%)	21 (16%)	126 (20%)	

Dados apresentados como contagens e percentual, médias ±DP, ou medianas (amplitude interquartil: P25 a P75).

No grupo de 132 pacientes com AR, 30% tinham a doença há menos de 2 anos, enquanto que 23% tinham mais de 10 anos de evolução.

6.2 DESEMPENHO DOS TESTES DO ANTI-CCP E DO FATOR REUMATÓIDE

Os níveis de anticorpos anti-CCP foram significativamente mais elevados no grupo com AR quando comparados com o grupo sem AR ($P<0,001$), como mostra a figura 5. Esta diferença continuou significativa após o ajuste para sexo, idade, tempo de duração dos sintomas e FR, em um modelo de regressão logística. Os níveis de FR foram também significativamente mais elevados na AR ($P<0,001$), mas após aplicação do modelo de regressão logística estas diferenças não se consumaram ($P=0,15$).

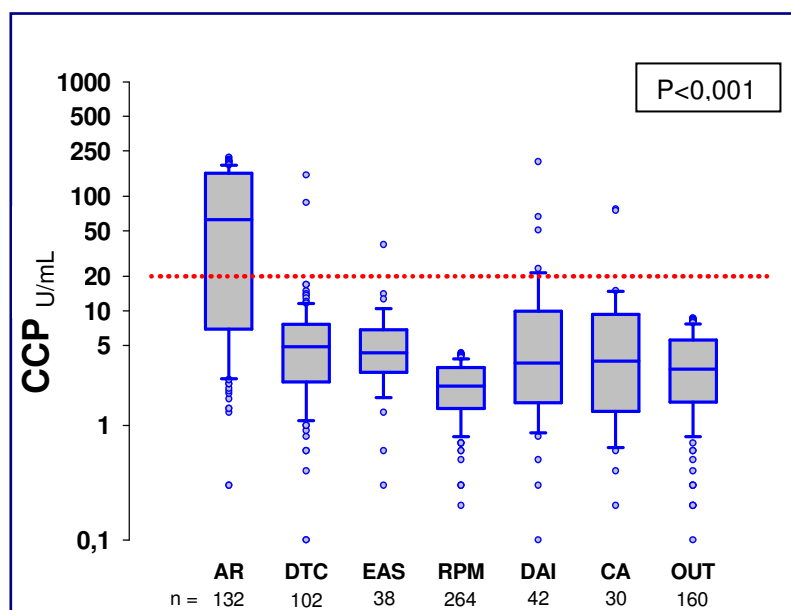


Figura 5. Distribuição dos 768 pacientes em diferentes diagnósticos em uma escala log de resultados de anticorpos anti-CCP: artrite reumatóide (AR), doenças do tecido conjuntivo e vasculites (DTC), espondiloartropatias soronegativas (EAS), reumatismos de partes moles e osteoartrite (RPM), doenças auto-imunes não reumatológicas (DAI), neoplasias (CA) e doenças não-classificáveis nos grupos anteriores (OUT).

O desempenho do anti-CCP e do FR estão demonstrados pela curva ROC na figura 6. A área sob a curva (AUC) para anti-CCP foi de 0.83 (CI=0.78-0.88), e para RF foi de 0.79 (CI= 0.74-0.84), mostrando uma diferença pequena em favor do anti-CCP.

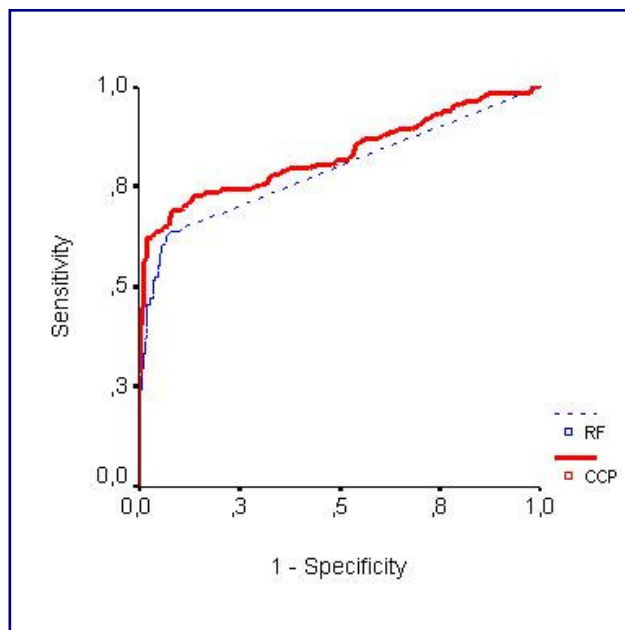


Figura 6. Curva ROC (Receiver-operating characteristic curve) para anti-CCP e fator reumatóide.

As medidas de desempenho do anti-CCP e do FR foram calculadas utilizando-se uma tabela 2 X 2, considerando os pontos de corte comerciais, com resultados na TABELA 2 .

O teste do anti-CCP apresentou especificidade e VPP mais elevados do que FR. Resultados de anti-CCP acima de 20 U/mL originam uma RV de 17,9 e FR acima de 15UI/mL uma RV de 6,2. Portanto, é 17,9 vezes mais provável encontrar um teste de anti-CCP positivo em pacientes com AR do que em pacientes sem AR. Por outro lado, a RV do FR expressa que é 6,2 vezes mais provável ter um teste de FR positivo em pacientes com AR do que pacientes sem AR.

Entre os pacientes soronegativos (48) com AR, 10 apresentaram anti-CCP positivo, e destes, 4 tinham menos de 2 anos de doença.

TABELA 2. Desempenho dos testes do anti-peptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP) e do fator reumatóide no diagnóstico da artrite reumatóide (AR).

Característica do teste	Anti-CCP		Fator reumatóide		P	IC 95%
	AR n = 132	Sem AR n = 636	AR n = 132	Sem AR n = 636		
Positivo	82	22	84	65		
Negativo	50	614	48	571		
Sensibilidade	62%		64%		0.83	-10.4 a 14.4
Especificidade	97%		90%		<0.001*	4.2 a 9.8
Valor preditivo positivo	79%		56%		<0.001*	11.0 a 35.0
Valor preditivo negativo	92%		92%		0.99	-3.1 a 3.1
Razão de verossimilhança positiva	17.9		6.2		<0.001*	—
Razão de verossimilhança negativa	0.4		0.4		0.84	—

6.2.1. ARTRITE REUMATÓIDE INICIAL

Dos 132 pacientes com AR, 40 (30%) tinham menos de 2 anos de doença (AR inicial). A probabilidade pré-teste foi de 9% neste subgrupo. Resultados do anti-CCP e do FR em AR inicial encontram-se na tabela 3.

TABELA 3. Desempenho dos testes do anti-peptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP) e do fator reumatóide no diagnóstico da artrite reumatóide (AR) com menos de dois anos de evolução .

Característica do teste	Anti-CCP		Fator reumatóide		P	IC 95%
	AR n = 40	Sem AR n = 404	AR n = 40	Sem AR n = 404		
Positivo	25	15	23	40		
Negativo	15	389	17	364		
Sensibilidade	62%		57%		0.48	-7.6 a 17.6
Especificidade	96%		90%		0.098*	<-0.1 a 12.9
Valor preditivo positivo	62%		36%		<0.001*	13.6 a 38.4
Valor preditivo negativo	96%		95%		0.92	-48 a 6.8
Razão de verossimilhança positiva	16.8		5,8		0.002*	—
Razão de verossimilhança negativa	0.4		0.5		0.49	—

As especificidades, VPP e RV foram significativamente mais elevadas para anti-CCP do que para FR em AR inicial. O anti-CCP é 16,8 vezes mais freqüente nos pacientes com AR comparados aos pacientes sem AR, enquanto que o FR é 5,8 vezes.

6.2.2. NÍVEIS SÉRICOS DIFERENTES PARA OS TESTES DO ANTI-CCP E DO FATOR REUMATÓIDE

A probabilidade de AR foi calculada a partir de RV calculadas para diferentes níveis séricos de anti-CCP e FR. Considerando as RV, foram calculadas as probabilidades pós-teste (PPT), onde a probabilidade pré-teste é de 17% (anexo 8). Os resultados estão na TABELA 4. Foram obtidas RV e PPT altas para níveis de anti-CCP acima de 50 U/mL e de FR acima de 200UI/mL.

TABELA 4. Razão de verossimilhança e probabilidades pós-teste para fator reumatóide (FR) e anticorpos anti-CCP.

Teste	Ponto de corte	Razão de Verossimilhança	IC 95%	Probabilidade Pós-teste %	IC 95%
	<15	0.4	0.3 - 0.5	7.6	6.2 – 9.5
FR	15 50	1.5	0.8 - 3.0	23.5	14.2 – 38.1
	50 200	6.3	3.8 – 10.5	56.3	43.6 – 68.2
UI/ml	200 500	12	5.4 – 26.6	71.1	52.5 – 84.5
	>500	50.6	12.0- 213.2	91.2	71.1 – 97.8
	<10	0.3	0.2 - 0.4	6.2	3.9 – 7.6
Anti-CCP	10 20	1.0	0.6 - 1.7	17	10.9 – 25.8
	20 50	3.2	1.3 - 7.7	39.6	21.0 – 61.2
U/ml	50 100	15.8	6.9 - 36.1	76.4	58.6 – 88.1
	>100	81.9	26.0 - 258.5	94.4	84.2 – 98.1

| Indica intervalos fechados a esquerda e abertos a direita.

*Probabilidades pós-teste calculadas considerando a prevalência de AR de 17%.

6.2.3. TESTES COMBINADOS DO ANTI-CCP E DO FATOR REUMATÓIDE

Combinando resultados positivos e negativos dos testes do anti-CCP e do FR, foram obtidos RV e PPT para cada combinação, conforme a tabela 5. Foram considerados os pontos de corte comerciais. A combinação FR positivo/anti-CCP negativo não mostrou mudança considerável da probabilidade pré-teste para pós-teste. Um teste positivo para anti-CCP e negativo para FR auxiliou mínima mudança para probabilidade de AR. Apenas quando ambos os testes foram positivos, a elevada RV ocasionou uma grande mudança para PTP para AR.

TABELA 5. Probabilidade de doença após a combinação de razões de verossimilhança do fator reumatóide (FR) e do anti-CCP .

Combinação de testes	Razão de verossimilhança	IC 95%	Probabilidade pós-teste*	95% CI
1.Anti-CCP negativo/FR negativo	0.3	0.2 - 0.4	6.4	4.9 - 8.1
2.Anti-CCP negativo/FR positivo	1.0	0.6 - 1.8	17.2	10.3 - 27.4
3.Anti-CCP positivo/ FR negativo	3.4	1.6 - 7.6	41.3	24.2 - 60.8
4.Anti-CCP positivo/ FR positivo	43.4	21.4 - 87.8	90.0	81.4 - 94.2

Foram considerados pontos de corte >15 UI/mL para FR and >20 U/L para anti-CCP.

* Probabilidades pós-testes foram calculadas a partir da prevalência de 17% da AR no grupo estudado.

Os resultados combinados dos testes mostraram uma significativa tendência linear na probabilidade de ocorrência de AR com $P < 0,001$.

7. DISCUSSÃO

O presente estudo teve como ponto de partida a possibilidade do uso de um delineamento diferente dos utilizados freqüentemente na área de testes diagnósticos. Vários epidemiologistas têm alertado para a aplicação do resultado de um teste diagnóstico de um determinado estudo na prática médica diária, sem considerar a população estudada (163-166). Geralmente, um teste diagnóstico é muito útil para diferenciar o indivíduo saudável do indivíduo muito doente, prejudicando a utilidade clínica do teste quando aplicada em população com doenças não tão bem definidas (167). Estudos recentes de coorte em pacientes com artrite inicial têm sido realizados com a inclusão de pacientes com sintomas articulares iniciais para avaliar o valor preditivo de testes diagnósticos, como anti-CCP e FR. Muitos são coortes históricas, com armazenamento do soro dos pacientes, e outras são prospectivas. A dificuldade dos estudos abrangendo os primeiros meses de doença está na definição do padrão ouro para diagnóstico de AR, já que os critérios do ACR não foram desenvolvidos para esta fase da doença, embora Lunt e colaboradores não encontrassem discordância significativa nos primeiros meses da doença e 5 anos após o início da AR (168). Não há um consenso sobre novos critérios a serem adotados (169-171).

A SELEÇÃO

Baseados na intenção de triagem de casos sob suspeita de AR, optamos por um delineamento partindo da solicitação do teste do FR, incluindo casos novos, mas também casos com dúvida diagnóstica, e provavelmente casos também de avaliação de parâmetros de mau prognóstico da AR. Era sabido que FR é solicitado na avaliação da possibilidade de qualquer doença auto-imune, inclusive não-reumatológica.

O objetivo foi aproximar a população estudada daquela em que vamos utilizar o teste, evitando o erro na seleção de indivíduos muito doentes, geralmente com doença mais grave e testes diagnósticos com maior positividade, seguindo as orientações do artigo de Bossuyt (172) .

Por outro lado, os pesquisadores não puderam influenciar na prevalência das doenças do estudo e não puderam parear por sexo e idade. Encontramos uma prevalência (probabilidade pré-teste) baixa, de 17%, e surpreendentemente, não houve diferença estatística entre sexo feminino e masculino, mantendo proporção de 3,7 nos pacientes com AR, semelhante a da literatura (1). Em relação à idade, houve diferença estatística, mas sem relevância clínica, ou seja, apesar dos pacientes com AR serem mais velhos, a diferença das médias foi de 56 para 52 anos.

O tempo de duração dos sintomas foi maior nos pacientes com AR, demonstrando que o FR foi solicitado para avaliação de parâmetros de má evolução. Nestas circunstâncias, poder-se-ia aventar que o grupo de pacientes com AR selecionado teria doença mais grave do que pacientes da prática clínica diária. No entanto, encontramos 30 % de pacientes com menos de 2 anos de duração dos sintomas, e apenas 23% com mais de 10 anos de doença, o que poderia ter uma influência pequena na positividade dos testes.

A origem dos pacientes é muito importante para avaliar resultados de testes diagnósticos. Pacientes referendados a centros terciários e pacientes hospitalizados geram mais testes positivos. Conhecendo a procedência dos exames para o laboratório de referência selecionado para o estudo, era esperado o resultado de mais de 80% procedente de consultas ambulatoriais, e novamente os grupos de pacientes com e sem AR não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($P=0,544$). Além disso, o atendimento compreendeu os 3 níveis de atenção médica, envolvendo as diferentes classes sócio-econômicas da região, sendo 58% dos pacientes procedentes do Sistema Único de Saúde e o restante de convênios e particulares.

Hoffman e colaboradores, coincidentemente, publicaram em janeiro deste ano um estudo com um delineamento semelhante: investigaram 1003 soros a partir da solicitação do FR por setores acadêmicos e não-acadêmicos. No entanto, o teste estudado não foi anti-CCP, mas outros peptídeos citrulinados, PepA e PepB (173). Essa publicação originou um editorial que atribuiu o poder do estudo a 2 itens: o delineamento que reflete a prática diária reumatológica e a composição do grupo controle que reflete a prevalência natural das doenças (174).

Concluimos que o delineamento escolhido é adequado, e previamente reconhecido na literatura, para poder estudar a população almejada.

AFERIÇÃO

Os cuidados de excluir diagnósticos duvidosos podem ter diminuído o número de pacientes com AR na fase inicial, mas manteve o padrão-ouro para diagnóstico de AR, e portanto a acurácia. A revisão do paciente um ano após a entrada no estudo objetivou evitar trabalhar com hipóteses diagnósticas mal-definidas, e também abriu a possibilidade de o paciente ser visto por mais de um especialista, e ser encaminhado para a Reumatologia. A pesquisadora não se envolveu na definição diagnóstica para evitar vício na aferição.

Tanto a coleta da informação do diagnóstico como a testagem do FR e do anti-CCP ocorreram de forma cega.

O FR foi realizado na rotina laboratorial. O viés que isto pode causar na aferição foi necessário em função do delineamento escolhido. No entanto, o FR por nefelometria parece ser um método mais reprodutível e acurado do que os métodos tradicionais de aglutinação (62, 175) .

A aferição do diagnóstico de AR seguiu os padrões estabelecidos mundialmente, conforme o ACR, sendo excluídos os diagnósticos de AR provável ou indefinida. Como partimos da solicitação do FR independentemente do resultado positivo/negativo e encontramos uma prevalência do teste positivo de apenas 19%, não consideramos tal um viés. Contudo, avaliar e comparar o FR, considerado teste padrão na AR para triagem, e este mesmo teste compor um dos critérios para classificar AR, gera um possível viés tanto na seleção como na aferição. Esta parece ser uma limitação própria aos estudos em AR e FR. Nosso delineamento, ao evitar a seleção de pacientes muito doentes e definir diagnóstico após 1 ano de seguimento, procura minimizar esta problemática (166).

DESEMPENHO DIAGNÓSTICO DO ANTI-CCP

O teste do anti-CCP apresentou um desempenho melhor do que o teste do FR.

O anti-CCP demonstrou ser independente de outros fatores no estudo como sexo, idade, tempo de duração dos sintomas articulares e do FR, enquanto que o mesmo não ocorreu com o FR.

A curva ROC é considerada por vários autores como um resumo da sensibilidade e especificidade de um determinado teste, embora outros autores defendam a sua utilidade na comparação entre 2 ou mais testes diagnósticos (176). Há poucos estudos sobre anti-CCP, FR e curva ROC. Schellekens *et al* construíram curvas ROC para ambos os testes mostrando serem muito similares e não calculou as áreas (113). Bizzaro, em 2001, encontrou uma área sob a curva de 0.708, mas ainda com anti-CCP de primeira geração, cuja sensibilidade era mais baixa (177). Suzuki, no Japão, comparou as curvas ROC de anti-CCP e FR, enfatizando um melhor desempenho do anti-CCP, com áreas sob a curva de 0.898 e 0.782, respectivamente (118). Avaliamos a área sob a curva ROC, e obtivemos um desempenho superior do anti-CCP comparado ao FR, de acordo com a literatura. No entanto, a diferença pequena entre as áreas do anti-CCP e do FR indica a necessidade de uma avaliação mais completa do desempenho destes testes (178).

A sensibilidade do anti-CCP de primeira geração era de 40 a 60%. A partir de 2002 praticamente todas as publicações são com anti-CCP de segunda geração, com um aumento na sensibilidade para 60 a 80% (113, 179, 180).

No presente estudo, utilizando anti-CCP de segunda geração, a sensibilidade foi de 62%. Pinheiro e colaboradores, em uma população brasileira de pacientes com AR de longo tempo de doença, média de 12 anos, encontraram uma sensibilidade de 80%, associada à severidade da doença (122). Recentemente, um estudo realizado na Turquia, também com AR avançada, média de 10 anos, encontrou uma sensibilidade mais baixa, de 49% (181). Ambos os estudos encontraram associação com doença ativa e severa, sugerindo o uso do anti-CCP como parâmetro clínico na avaliação do paciente reumatóide. No entanto, outro estudo, envolvendo latino-americanos, encontrou uma alta sensibilidade de 94% do anti-CCP, sem encontrar associação com atividade e

severidade da doença (121). Considerando as diferenças genéticas e ambientais na AR, seria interessante a comparação de resultados com populações semelhantes. No entanto, os estudos em latino-americanos encontraram uma sensibilidade muito mais alta em relação ao nosso estudo. Possivelmente, a seleção dos pacientes e o delineamento diferente entre os estudos são os fatores responsáveis. A diferença entre os estudos de AR avançada quanto a sensibilidades, e entre os estudos em populações latino-americanas quanto à doença ativa e severa, espelham a dificuldade na comparação de estudos diagnósticos (165). Entretanto, pacientes muito doentes tendem a apresentar testes mais positivos. A positividade do anti-CCP associada a maior tempo de doença não deve ter relação com a idade dos pacientes, de acordo com Palosuo *et al* (182). Encontramos apenas 23 % de pacientes com mais de 10 anos de AR, não houve correlação do teste com a idade e não avaliamos atividade de doença no presente estudo.

Um estudo belga, já citado anteriormente, com delineamento semelhante ao nosso, na qual a seleção dos pacientes foi através da solicitação do FR, utilizou outros anticorpos antiproteínas citrulinadas, não podendo comparar sensibilidades (173). Um outro estudo, francês, também selecionou 100 pacientes nos quais foi solicitado o teste do FR, mas o número final de menos de 10% dos pacientes com AR, dificulta comparações (151).

Encontramos 97% de especificidade para anti-CCP, o que está de acordo com a literatura. Esse achado confirma, em uma população brasileira com 636 controles de pacientes com diferentes doenças, a principal característica do anti-CCP: sua alta especificidade, independente da população estudada. Amostras de populações de quatro diferentes continentes apresentaram especificidades de 89 a 99%. Mesmo ao aplicar o teste em situações semelhantes à prática clínica, o anti-CCP manteve uma alta especificidade.

Muitos estudos salientam o VPP do anti-CCP variando de 71 a 100% (183, 184). Encontramos um VPP de 79% e VPN de 92%, de acordo com Correa *et al* (121). Os valores preditivos poderiam responder ao clínico o que ele gostaria de saber com o resultado de um teste: qual a probabilidade de um determinado paciente ter ou não ter tal doença (178). É de importância salientar que diferentemente da sensibilidade e da especificidade, os valores preditivos dependem da prevalência da doença no estudo, ou seja, do número de doentes e

de controles (178). Quanto mais alta a prevalência na população, maior o VPP e menor o VPN (178). Na nossa população, o número de doentes e sem doença não foi predeterminado, como ocorre na maioria dos estudos transversais, resultando em uma prevalência bastante baixa de doença. Conseqüentemente, optamos por utilizar medidas de desempenho mais estáveis, além da sensibilidade e da especificidade, que resumissem melhor estes dados.

O cálculo das razões de verossimilhanças, do inglês *likelihood ratios*, em estudos diagnósticos vem sendo discutido por epidemiologistas e clínicos ultimamente (185). Alguns autores defendem a utilização dessa medida por resumir a acurácia diagnóstica, ser mais estável podendo auxiliar nas decisões clínicas, e possibilitar a comparação entre resultados de populações diferentes (186, 187).

A crítica principal ao uso da RV é a pouca aplicação pelos clínicos (188). Calculamos as RVs para anti-CCP e encontramos uma RV positiva de 17,9 e RV negativa de 0,4. Os valores de RV positivos acima de 10 são consistentes com um teste que fornece um valor diagnóstico considerável (186). O estudo colombiano, já citado, encontrou RV positivo de 12 e RV negativo de 0,06. As RV menores ou iguais a 0,1 conferem um valor diagnóstico considerável. Uma RV próxima de 1 indica um teste sem valor para determinar as pessoas com e sem AR. As RV podem ser usadas para determinar a probabilidade de ter ou não ter a doença, frente a um teste positivo ou negativo (185). Iniciamos com a probabilidade pré-teste, convertida em chances pré-teste, multiplicamos pela RV, e teremos o resultado em chances pós-teste. Chance é a razão de duas probabilidades. Transformando chances pós-teste em probabilidade pós-teste, encontramos uma PPT de 79% para RV positiva de 17,9% e uma PPT de 8% para RV negativa de 0,4. Isso significa que um paciente com teste positivo tem 79% de probabilidade de ter AR, e um paciente com anti-CCP negativo tem 8% de probabilidade de ter AR, ou seja, o teste negativo diminuiu a probabilidade de doença, considerando que a probabilidade pré-teste era 17%. Há várias maneiras de realizar esses cálculos, como equações já prontas, nomograma de Fagan e seguindo o teorema de Bayes (186).

Procurando entender melhor o desempenho do anti-CCP, calculamos RV múltiplos, ou seja, para diferentes pontos de corte (189). A literatura tem sugerido, baseada em sensibilidades, especificidades e VPP e VPN, um melhor

desempenho do anti-CCP a partir do ponto de corte de 50 U/mL (121, 190). Como está demonstrado na tabela 4, valores séricos acima de 50, principalmente acima de 100 U/mL, e níveis séricos abaixo de 10 U/mL modificam fortemente a probabilidade pré-teste para a PPT de ter e não ter AR.

A utilização das RV pode explicar para um clínico como interpretar um resultado considerado falso-positivo. Exemplificando, uma paciente do presente estudo, feminina, 27 anos, com queixas de artralguas inespecíficas, sem artrite ou rigidez matinal, realizou testagem para anti-CCP tendo como resultado 22,5 U/mL. Considerando a tabela 4, sua RV é de 3, 2, calculada para PPT, resulta em uma PPT de ter AR de 39,6%, considerando a prevalência de 17%. No entanto, pode-se atribuir uma probabilidade pré-teste para essa paciente baseando-se nos seus dados clínicos (185). Provavelmente é menor de 10 %, e talvez o reumatologista nem solicitasse o teste. Se aplicarmos uma probabilidade pré-teste de 5% teremos uma PPT de 14%, não precisando valorizar um teste discretamente positivo em um quadro clínico de baixa probabilidade de doença. Essa é a utilidade da RV, especialmente considerando-se diferentes níveis séricos do teste (191).

Ao compararmos anti-CCP com FR , encontramos um melhor desempenho do anti-CCP, como a literatura aponta em vários estudos (117, 118, 120, 143, 192) . A sensibilidade está de acordo com estudos recentes, assim como a especificidade. Um estudo local de AR há alguns anos, utilizando o FR IgM pelo método do látex, obteve uma sensibilidade de 80%(36). Novamente, diferenças de métodos e da seleção dos pacientes contribuíram para tais discordâncias. No entanto, ao calcularmos diferentes níveis séricos de FR, percebemos que seu desempenho diagnóstico a partir de 200 UI/mL é fortemente preditivo de AR .

O uso de testes combinados na área dos ACPA é freqüente, envolvendo FR e vários outros testes (113, 179, 184, 193-195). Entretanto, nenhum estudo até o presente momento, avaliou com RVs . Calculando as RV da combinação do anti-CCP e do FR, considerando a probabilidade pré-teste do estudo e os pontos de corte conforme os fabricantes, encontramos, surpreendentemente, que um teste positivo de FR com anti-CCP negativo não modifica a probabilidade de ter ou não a doença. Apenas ambos os testes positivos geram grandes mudanças da probabilidade pré-teste para a PPT de doença.

ARTRITE REUMATÓIDE INICIAL

A importância do anti-CCP no diagnóstico da artrite reumatóide inicial é um consenso (58, 128, 196). Na população em estudo, detectamos apenas 30% de pacientes com menos de 2 anos de duração da AR. A sensibilidade foi igual ao grupo total de pacientes com AR, a especificidade foi muito próxima, e as RV semelhantes. Comparando com FR encontramos diferenças significativas quanto à especificidade, RV positiva e VPP. Apesar da prevalência de doença inicial ter sido muito baixa, apenas 9%, houve uma significativa diferença entre os VPP, indicando a superioridade do Anti-CCP no diagnóstico da AR inicial como já comprovado. Apesar de não haver diferença estatisticamente significativa entre as sensibilidades do anti-CCP e do FR, em valores percentuais o anti-CCP foi maior. Há vários estudos em AR inicial, com análise em diferentes períodos, mas considerando até 2 anos do início da doença, os resultados são coerentes com a literatura, inclusive um pouco melhores, por incluirmos uma duração de até 2 anos, enquanto que vários estudos são aos 3 meses, com sensibilidades mais baixas (116, 126, 190, 197-199). Importante salientar que dos pacientes com AR e FR negativo, 21% tinham anti-CCP positivos, e destes 40% tinham menos de 2 anos de duração da doença, demonstrando a importância do anti-CCP independente do FR. Há alguns anos, demonstramos achados semelhantes ao pesquisar o FAP (36).

Estudos de coorte com pacientes com AR muito inicial encontraram resultados de 24% a 37% de anti-CCP em AR soronegativa (119, 120, 125, 200). A diferença deve-se a delineamentos diferentes.

CONSIDERAÇÕES FUTURAS

Durante o estudo detectamos casos muito interessantes de falso-positivos. Alguns desses casos estão descritos nas tabelas do anexo 8. Esses pacientes encontram-se em observação e, no futuro, talvez, respondam a dúvidas atuais.

Poderíamos estar detectando pacientes falso-positivos que no futuro terão AR?

Poderiam alguns resultados falso-positivos serem de pacientes com AR com apresentação clínica atípica?

Poderiam outras situações clínicas ainda não bem compreendidas, envolvidas nos casos falso-positivos, estarem associadas à processos de citrulinização?

CONCLUSÕES

A probabilidade de um paciente com um teste positivo para anti-CCP ter artrite reumatóide é alta .

A probabilidade de artrite reumatóide é maior na presença do anti-CCP positivo do que na presença do FR positivo.

Níveis séricos de ambos os testes devem ser considerados na avaliação do resultado do teste.

Níveis séricos de anti-CCP abaixo de 10 U/mL diminuem a probabilidade de AR.

Níveis séricos de anti-CCP acima de 50 U/mL aumentam fortemente a probabilidade de AR.

Níveis séricos de FR acima de 200 UI/mL aumentam fortemente a probabilidade de AR.

O resultado positivo de ambos os testes do anti-CCP e do FR aumenta fortemente a probabilidade de AR , em uma população com baixa prevalência da doença.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Firestein G. Rheumatoid arthritis. In: Kelley's textbook of rheumatology. 6th ed. Philadelphia: W B Saunders; 2001. p.921-66.
2. Gabriel SE. The epidemiology of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2001;27(2):269-81.
3. Silman AJ, Pearson JE. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res* 2002;4 Suppl 3:S265-72.
4. Sato EI SK, Atra E, Inoue K, Takenaka Y. Estudo da prevalência da Artrite reumatóide em população de origem japonesa em Moji das Cruzes. *Rev Bras Reumatol* 1990;30:133-136.
5. Marques Neto JF GH, Langen LFOB et al. Estudo multicêntrico da prevalência da artrite reumatóide do adulto em amostras da população brasileira. *Rev Bras Reumatol* 1993;33:169-173.
6. Doran MF, Pond GR, Crowson CS, O'Fallon WM, Gabriel SE. Trends in incidence and mortality in rheumatoid arthritis in Rochester, Minnesota, over a forty-year period. *Arthritis Rheum* 2002;46(3):625-31.
7. Shichikawa K, Inoue K, Hirota S, Maeda A, Ota H, Kimura M, et al. Changes in the incidence and prevalence of rheumatoid arthritis in Kamitonda, Wakayama, Japan, 1965-1996. *Ann Rheum Dis* 1999;58(12):751-6.
8. Chan KW, Felson DT, Yood RA, Walker AM. Incidence of rheumatoid arthritis in central Massachusetts. *Arthritis Rheum* 1993;36(12):1691-6.
9. Lipsky P. Rheumatoid arthritis. In Harrison's principles of internal medicine. 15th ed. Philadelphia:McGraw Hill; 2002. p.2044-54..
10. Gabriel SE, Crowson CS, Kremers HM, Doran MF, Turesson C, O'Fallon WM, et al. Survival in rheumatoid arthritis: a population-based analysis of trends over 40 years. *Arthritis Rheum* 2003;48(1):54-8.
11. Linn-Rasker SP, van der Helm-van Mil AH, Van Gaalen FA, Kloppenburg M, de Vries R, le Cessie S, et al. Smoking is a risk factor for anti-CCP antibodies only in RA patients that carry HLA-DRB1 Shared Epitope alleles. *Ann Rheum Dis* No prelo 2005.
12. Stastny P. Association of the B-cell alloantigen DRw4 with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 1978;298(16):869-71.
13. Goronzy JJ, Weyand CM. Vasculitis in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 1994;6(3):290-4.
14. Sany J. Clinical and biological polymorphism of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1994;12 Suppl 11:S59-61.
15. Gorman JD, David-Vaudey E, Pai M, Lum RF, Criswell LA. Particular HLA-DRB1 shared epitope genotypes are strongly associated with rheumatoid vasculitis. *Arthritis Rheum* 2004;50(11):3476-84.
16. Barton A, John S, Ollier WE, Silman A, Worthington J. Association between rheumatoid arthritis and polymorphism of tumor necrosis factor receptor II, but not tumor necrosis factor receptor I, in Caucasians. *Arthritis Rheum* 2001;44(1):61-5.
17. van der Helm-van Mil AH, Verpoort KN, Breedveld FC, Toes RE, Huizinga TW. Antibodies to citrullinated proteins and differences in clinical progression of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2005;7(5):R949-58.
18. Simkins HM, Merriman ME, Highton J, Chapman PT, O'Donnell JL, Jones PB, et al. Association of the PTPN22 locus with rheumatoid arthritis in a New Zealand Caucasian cohort. *Arthritis Rheum* 2005;52(7):2222-5.

19. Gregersen PK, Batliwalla F. PTPN22 and rheumatoid arthritis: gratifying replication. *Arthritis Rheum* 2005;52(7):1952-5.
20. Carlton VE, Hu X, Chokkalingam AP, Schrodi SJ, Brandon R, Alexander HC, et al. PTPN22 Genetic Variation: Evidence for Multiple Variants Associated with Rheumatoid Arthritis. *Am J Hum Genet* 2005;77(4):567-81.
21. Chang X, Yamada R, Suzuki A, Sawada T, Yoshino S, Tokuhira S, et al. Localization of peptidylarginine deiminase 4 (PADI4) and citrullinated protein in synovial tissue of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2005;44(1):40-50.
22. Barton A, Bowes J, Eyre S, Symmons D, Worthington J, Silman A. Investigation of polymorphisms in the PADI4 gene in determining severity of inflammatory polyarthritis. *Ann Rheum Dis* 2005;64(9):1311-5.
23. Yamada R, Suzuki A, Chang X, Yamamoto K. Citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Front Biosci* 2005;10:54-64.
24. Balandraud N, Roudier J, Roudier C. Epstein-Barr virus and rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 2004;3(5):362-7.
25. McGraw WT, Potempa J, Farley D, Travis J. Purification, characterization, and sequence analysis of a potential virulence factor from *Porphyromonas gingivalis*, peptidylarginine deiminase. *Infect Immun* 1999;67(7):3248-56.
26. Rosenstein ED, Greenwald RA, Kushner LJ, Weissmann G. Hypothesis: the humoral immune response to oral bacteria provides a stimulus for the development of rheumatoid arthritis. *Inflammation* 2004;28(6):311-8.
27. Steiner G, Smolen J. Autoantibodies in rheumatoid arthritis and their clinical significance. *Arthritis Res* 2002;4 Suppl 2:S1-5.
28. Zhou Z, Menard HA. Autoantigenic posttranslational modifications of proteins: does it apply to rheumatoid arthritis? *Curr Opin Rheumatol* 2002;14(3):250-3.
29. Harris ED, Jr. Rheumatoid arthritis. Pathophysiology and implications for therapy. *N Engl J Med* 1990;322(18):1277-89.
30. Blass S, Engel JM, Burmester GR. The immunologic homunculus in rheumatoid arthritis. A new viewpoint of immunopathogenesis in rheumatoid arthritis and therapeutic consequences [abstract]. *Z Rheumatol* 2001;60(1):1-16.
31. O'Dell JR. Rheumatoid arthritis. In: Goldman L & Ausiello D. *Cecil textbook of medicine*. 22nd ed. Philadelphia: W B Saunders; 2004. p.1644-54.
32. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis. American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Clinical Guidelines. *Arthritis Rheum* 1996;39(5):713-22.
33. Grassi W, De Angelis R, Lamanna G, Cervini C. The clinical features of rheumatoid arthritis. *Eur J Radiol* 1998;27 Suppl 1:S18-24.
34. Tarner IH, Harle P, Muller-Ladner U, Gay RE, Gay S. The different stages of synovitis: acute vs chronic, early vs late and non-erosive vs erosive. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2005;19(1):19-35.
35. Saraux A, Allain J, Guedes C, Valls I, Baron D, Youinou P, et al. Clinical, laboratory, and radiographic features of rheumatoid arthritis with and without nodules. *Rev Rhum Engl Ed* 1997;64(1):11-7.
36. Silveira IG, Keiserman MW, von Mühlen CA. Clinical and laboratory study of the antiperinuclear factor in rheumatoid arthritis. *Rev Bras Reumatol* 2000;40(4):159-167.
37. Andonopoulos AP, Drosos AA, Skopouli FN, Acritidis NC, Moutsopoulos HM. Secondary Sjogren's syndrome in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1987;14(6):1098-103.

38. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31(3):315-24.
39. Scott DL. Prognostic factors in early rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2000;39 Suppl 1:24-9.
40. Morel J, Combe B. How to predict prognosis in early rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2005;19(1):137-46.
41. Aletaha D, Eberl G, Nell VP, Machold KP, Smolen JS. Attitudes to early rheumatoid arthritis: changing patterns. Results of a survey. *Ann Rheum Dis* 2004;63(10):1269-75.
42. Soubrier M, Dougados M. How to assess early rheumatoid arthritis in daily clinical practice. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2005;19(1):73-89.
43. Quincey V, Hull R, Sinclair D. Referral criteria in early rheumatoid arthritis. *J R Soc Med* 2004;97(12):611.
44. Huizinga TW, Machold KP, Breedveld FC, Lipsky PE, Smolen JS. Criteria for early rheumatoid arthritis: from Bayes' law revisited to new thoughts on pathogenesis. *Arthritis Rheum* 2002;46(5):1155-9.
45. Magnani M, Salizzoni E, Mule R, Fusconi M, Meliconi R, Galletti S. Ultrasonography detection of early bone erosions in the metacarpophalangeal joints of patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2004;22(6):743-8.
46. Strunk J, Lange U, Muller-Ladner U. [Rheumatoid arthritis]. *Dtsch Med Wochenschr* 2005;130(30):1761-8; quiz 1769-72.
47. Ostergaard M, Ejbjerg B, Szkudlarek M. Imaging in early rheumatoid arthritis: roles of magnetic resonance imaging, ultrasonography, conventional radiography and computed tomography. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2005;19(1):91-116.
48. Tourinho TF, Stein A, Castro JA, Brenol JC. Rheumatoid arthritis: evidence for bone loss in premenopausal women. *J Rheumatol* 2005;32(6):1020-5.
49. Lindqvist E, Eberhardt K, Bendtzen K, Heinegard D, Saxne T. Prognostic laboratory markers of joint damage in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005;64(2):196-201.
50. von Muhlen CA, Tan EM. Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum* 1995;24(5):323-58.
51. Cambridge G, Leandro MJ, Edwards JC, Ehrenstein MR, Salden M, Bodman-Smith M, et al. Serologic changes following B lymphocyte depletion therapy for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003;48(8):2146-54.
52. Eisenberg R, Looney RJ. The therapeutic potential of anti-CD20 "What do B-cells do?". *Clin Immunol. No prelo* 2005.[7p.].
53. Panayi GS. B cells: a fundamental role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis? *Rheumatology (Oxford)* 2005;44 Suppl 2:ii3-ii7.
54. Cordonnier C, Meyer O, Palazzo E, de Bandt M, Elias A, Nicaise P, et al. Diagnostic value of anti-RA33 antibody, antikeratin antibody, antiperinuclear factor and antinuclear antibody in early rheumatoid arthritis: comparison with rheumatoid factor. *Br J Rheumatol* 1996;35(7):620-4.
55. Steiner G, Smolen JS. [Novel autoantibodies for the diagnosis of rheumatoid arthritis]. *Z Rheumatol* 2002;61(6):667-73.
56. Bodman-Smith MD, Corrigan VM, Berglin E, Cornell HR, Tzioufas AG, Mavragani CP, et al. Antibody response to the human stress protein BiP in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2004;43(10):1283-7.

57. Renaudineau Y, Jamin C, Saraux A, Youinou P. Rheumatoid factor on a daily basis. *Autoimmunity* 2005;38(1):11-6.
58. Staikova ND, Kuzmanova SI, Solakov PT. Serologic markers of early rheumatoid arthritis. *Folia Med (Plovdiv)* 2003;45(3):35-42.
59. Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, Twisk JW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, et al. Simultaneous development of acute phase response and autoantibodies in preclinical rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. No prelo 2005. [10p.].
60. Hicks MJ, Heick M, Finley P, Gall EP, Minnich L, Williams RJ. Rheumatoid factor activity by rate nephelometry correlated with clinical activity in rheumatoid arthritis. *Am J Clin Pathol* 1982;78(3):342-5.
61. Nykanen M, Palosuo T, Aho K, Sahi T, von Essen R. Improved immunoturbidimetric method for rheumatoid factor testing. *J Clin Pathol* 1993;46(11):1065-6.
62. Ulvestad E, Kanestrom A, Madland TM, Thomassen E, Haga HJ. Clinical utility of diagnostic tests for rheumatoid factor. *Scand J Rheumatol* 2001;30(2):87-91.
63. Vallbracht I, Rieber J, Oppermann M, Forger F, Siebert U, Helmke K. Diagnostic and clinical value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies compared with rheumatoid factor isotypes in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004;63(9):1079-84.
64. Dorner T, Egerer K, Feist E, Burmester GR. Rheumatoid factor revisited. *Curr Opin Rheumatol* 2004;16(3):246-53.
65. Bas S, Perneger TV, Seitz M, Tiercy JM, Roux-Lombard P, Guerne PA. Diagnostic tests for rheumatoid arthritis: comparison of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, anti-keratin antibodies and IgM rheumatoid factors. *Rheumatology (Oxford)* 2002;41(7):809-14.
66. Bukhari M, Lunt M, Harrison BJ, Scott DG, Symmons DP, Silman AJ. Rheumatoid factor is the major predictor of increasing severity of radiographic erosions in rheumatoid arthritis: results from the Norfolk Arthritis Register Study, a large inception cohort. *Arthritis Rheum* 2002;46(4):906-12.
67. Turesson C, Jacobsson LT. Epidemiology of extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2004;33(2):65-72.
68. Goodson NJ, Wiles NJ, Lunt M, Barrett EM, Silman AJ, Symmons DP. Mortality in early inflammatory polyarthritis: cardiovascular mortality is increased in seropositive patients. *Arthritis Rheum* 2002;46(8):2010-9.
69. Nicola PJ, Maradit-Kremers H, Roger VL, Jacobsen SJ, Crowson CS, Ballman KV, et al. The risk of congestive heart failure in rheumatoid arthritis: a population-based study over 46 years. *Arthritis Rheum* 2005;52(2):412-20.
70. Goodson NJ, Symmons DP, Scott DG, Bunn D, Lunt M, Silman AJ. Baseline levels of C-reactive protein and prediction of death from cardiovascular disease in patients with inflammatory polyarthritis: a ten-year followup study of a primary care-based inception cohort. *Arthritis Rheum* 2005;52(8):2293-9.
71. Nienhuis RL, Mandema E. A New Serum Factor In Patients With Rheumatoid Arthritis; The Antiperinuclear Factor. *Ann Rheum Dis* 1964;23:302-5.
72. Young BJ, Mallya RK, Leslie RD, Clark CJ, Hamblin TJ. Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Br Med J* 1979;2(6182):97-9.
73. Hoet RM, Boerbooms AM, Arends M, Ruiter DJ, van Venrooij WJ. Antiperinuclear factor, a marker autoantibody for rheumatoid arthritis:

colocalisation of the perinuclear factor and profilaggrin. *Ann Rheum Dis* 1991;50(9):611-8.

74. Simon M, Girbal E, Sebbag M, Gomes-Daudrix V, Vincent C, Salama G, et al. The cytokeratin filament-aggregating protein filaggrin is the target of the so-called "antikeratin antibodies," autoantibodies specific for rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1993;92(3):1387-93.

75. Sebbag M, Simon M, Vincent C, Masson-Bessiere C, Girbal E, Durieux JJ, et al. The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1995;95(6):2672-9.

76. Simon M, Sebbag M, Haftek M, Vincent C, Girbal-Neuhauser E, Rakotoarivony J, et al. Monoclonal antibodies to human epidermal filaggrin, some not recognizing profilaggrin. *J Invest Dermatol* 1995;105(3):432-7.

77. Vincent C, Simon M, Sebbag M, Girbal-Neuhauser E, Durieux JJ, Cantagrel A, et al. Immunoblotting detection of autoantibodies to human epidermis filaggrin: a new diagnostic test for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1998;25(5):838-46.

78. Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, van de Putte LB, van Venrooij WJ. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998;101(1):273-81.

79. Marmont AM, Damasio EE, Bertorello C, Ferdinando R. Studies on the antiperinuclear factor. *Arthritis Rheum* 1967;10(2):117-28.

80. Vivino FB, Maul GG. Histologic and electron microscopic characterization of the antiperinuclear factor antigen. *Arthritis Rheum* 1990;33(7):960-9.

81. Youinou P, Serre G. The antiperinuclear factor and antikeratin antibody systems. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;107(4):508-18.

82. Markova NG, Marekov LN, Chipev CC, Gan SQ, Idler WW, Steinert PM. Profilaggrin is a major epidermal calcium-binding protein. *Mol Cell Biol* 1993;13(1):613-25.

83. von Essen R, Kurki P, Isomaki H, Okubo S, Kautiainen H, Aho K. Prospect for an additional laboratory criterion for rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 1993;22(6):267-72.

84. Vincent C, de Keyser F, Masson-Bessiere C, Sebbag M, Veys EM, Serre G. Anti-perinuclear factor compared with the so called "antikeratin" antibodies and antibodies to human epidermis filaggrin, in the diagnosis of arthritides. *Ann Rheum Dis* 1999;58(1):42-8.

85. Forslin K, Vincent C, Serre G, Svensson B. Antifilaggrin autoantibodies in early rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2000;29(5):320-2.

86. Meyer O, Combe B, Elias A, Benali K, Clot J, Sany J, et al. Autoantibodies predicting the outcome of rheumatoid arthritis: evaluation in two subsets of patients according to severity of radiographic damage. *Ann Rheum Dis* 1997;56(11):682-5.

87. Kurki P, von Essen R, Kaarela K, Isomaki H, Palosuo T, Aho K. Antibody to stratum corneum (antikeratin antibody) and antiperinuclear factor: markers for progressive rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 1997;26(5):346-9.

88. Santos WF, ARC; Silva, NP; Atra, E; Andrade, LEC. Clinical significance of antiperinuclear factor and anti-stratum corneum antibody in rheumatoid arthritis. *Rev Bras Reumatol* 1997;37:309-316.

89. Girbal E, Sebbag M, Gomes-Daudrix V, Simon M, Vincent C, Serre G. Characterisation of the rat oesophagus epithelium antigens defined by the so-

called 'antikeratin antibodies', specific for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1993;52(10):749-57.

90. Lonsdale-Eccles JD, Resing KA, Meek RL, Dale BA. High-molecular-weight precursor of epidermal filaggrin and hypothesis for its tandem repeating structure. *Biochemistry* 1984;23(6):1239-45.

91. Girbal-Neuhauser E, Montezin M, Croute F, Sebbag M, Simon M, Durieux JJ, et al. Normal human epidermal keratinocytes express in vitro specific molecular forms of (pro)filaggrin recognized by rheumatoid arthritis-associated antifilaggrin autoantibodies. *Mol Med* 1997;3(2):145-56.

92. Palosuo T, Lukka M, Alenius H, Kalkkinen N, Aho K, Kurki P, et al. Purification of filaggrin from human epidermis and measurement of antifilaggrin autoantibodies in sera from patients with rheumatoid arthritis by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Int Arch Allergy Immunol* 1998;115(4):294-302.

93. Aho K, Palosuo T, Lukka M, Kurki P, Isomaki H, Kautiainen H, et al. Antifilaggrin antibodies in recent-onset arthritis. *Scand J Rheumatol* 1999;28(2):113-6.

94. Nogueira L, Sebbag M, Vincent C, Arnaud M, Fournie B, Cantagrel A, et al. Performance of two ELISAs for antifilaggrin autoantibodies, using either affinity purified or deiminated recombinant human filaggrin, in the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2001;60(9):882-7.

95. Raats JM, Wijnen EM, Pruijn GJ, van den Hoogen FH, van Venrooij WJ. Recombinant human monoclonal autoantibodies specific for citrulline-containing peptides from phage display libraries derived from patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003;30(8):1696-711.

96. Despres N, Boire G, Lopez-Longo FJ, Menard HA. The Sa system: a novel antigen-antibody system specific for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1994;21(6):1027-33.

97. El-Gabalawy HS, Wilkins JA. Anti-Sa antibodies: prognostic and pathogenetic significance to rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2004;6(2):86-9.

98. Hayem G, Chazerain P, Combe B, Elias A, Haim T, Nicaise P, et al. Anti-Sa antibody is an accurate diagnostic and prognostic marker in adult rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1999;26(1):7-13.

99. Vossenaar ER, Despres N, Lapointe E, van der Heijden A, Lora M, Senshu T, et al. Rheumatoid arthritis specific anti-Sa antibodies target citrullinated vimentin. *Arthritis Res Ther* 2004;6(2):R142-50.

100. Girbal-Neuhauser E, Durieux JJ, Arnaud M, Dalbon P, Sebbag M, Vincent C, et al. The epitopes targeted by the rheumatoid arthritis-associated antifilaggrin autoantibodies are posttranslationally generated on various sites of (pro)filaggrin by deimination of arginine residues. *J Immunol* 1999;162(1):585-94.

101. Sebbag M, Chapuy-Regaud S, Auger I, Petit-Teixeira E, Clavel C, Nogueira L, et al. Clinical and pathophysiological significance of the autoimmune response to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 2004;71(6):493-502.

102. Masson-Bessiere C, Sebbag M, Durieux JJ, Nogueira L, Vincent C, Girbal-Neuhauser E, et al. In the rheumatoid pannus, anti-filaggrin autoantibodies are produced by local plasma cells and constitute a higher proportion of IgG than in synovial fluid and serum. *Clin Exp Immunol* 2000;119(3):544-52.

103. Masson-Bessiere C, Sebbag M, Girbal-Neuhauser E, Nogueira L, Vincent C, Senshu T, et al. The major synovial targets of the rheumatoid arthritis-specific

antifilaggrin autoantibodies are deiminated forms of the alpha- and beta-chains of fibrin. *J Immunol* 2001;166(6):4177-84.

104. Curis E, Nicolis I, Moinard C, Osowska S, Zerrouk N, Benazeth S, et al. Almost all about citrulline in mammals. *Amino Acids*. No prelo 2005.

105. Vossenaar ER, Nijenhuis S, Helsen MM, van der Heijden A, Senshu T, van den Berg WB, et al. Citrullination of synovial proteins in murine models of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003;48(9):2489-500.

106. Vossenaar ER, Zendman AJ, van Venrooij WJ, Pruijn GJ. PAD, a growing family of citrullinating enzymes: genes, features and involvement in disease. *Bioessays* 2003;25(11):1106-18.

107. Vossenaar ER, Robinson WH. Citrullination and autoimmune disease: 8th Bertine Koperberg meeting. *Ann Rheum Dis* 2005;64(10):1513-5.

108. Nakayama-Hamada M, Suzuki A, Kubota K, Takazawa T, Ohsaka M, Kawaida R, et al. Comparison of enzymatic properties between hPADI2 and hPADI4. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;327(1):192-200.

109. Lundberg K, Nijenhuis S, Vossenaar ER, Palmblad K, van Venrooij WJ, Klareskog L, et al. Citrullinated proteins have increased immunogenicity and arthritogenicity and their presence in arthritic joints correlates with disease severity. *Arthritis Res Ther* 2005;7(3):R458-67.

110. Barton A, Bowes J, Eyre S, Spreckley K, Hinks A, John S, et al. A functional haplotype of the PADI4 gene associated with rheumatoid arthritis in a Japanese population is not associated in a United Kingdom population. *Arthritis Rheum* 2004;50(4):1117-21.

111. Cantaert T, Coucke P, De Rycke L, Veys EM, De Keyser F, Baeten D. Functional haplotypes of PADI4: relevance for rheumatoid arthritis specific synovial intracellular citrullinated proteins and anticitrullinated protein antibodies. *Ann Rheum Dis* 2005;64(9):1316-20.

112. Yamada R, Suzuki A, Chang X, Yamamoto K. Peptidylarginine deiminase type 4: identification of a rheumatoid arthritis-susceptible gene. *Trends Mol Med* 2003;9(11):503-8.

113. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, van den Hoogen FH, Hazes JM, Breedveld FC, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000;43(1):155-63.

114. Saraux A, Berthelot JM, Devauchelle V, Bendaoud B, Chales G, Le Henaff C, et al. Value of antibodies to citrulline-containing peptides for diagnosing early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003;30(12):2535-9.

115. De Rycke L, Peene I, Hoffman IE, Kruithof E, Union A, Meheus L, et al. Rheumatoid factor and anticitrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: diagnostic value, associations with radiological progression rate, and extra-articular manifestations. *Ann Rheum Dis* 2004;63(12):1587-93.

116. Jansen LM, van Schaardenburg D, van der Horst-Bruinsma I, van der Stadt RJ, de Koning MH, Dijkmans BA. The predictive value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in early arthritis. *J Rheumatol* 2003;30(8):1691-5.

117. Sauerland U, Becker H, Seidel M, Schotte H, Willeke P, Schorat A, et al. Clinical Utility of the Anti-CCP Assay: Experiences with 700 Patients. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1050:314-8.

118. Suzuki K, Sawada T, Murakami A, Matsui T, Tohma S, Nakazono K, et al. High diagnostic performance of ELISA detection of antibodies to citrullinated antigens in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2003;32(4):197-204.

119. Choi SW, Lim MK, Shin DH, Park JJ, Shim SC. Diagnostic performances of anti-cyclic citrullinated peptides antibody and antifilaggrin antibody in Korean patients with rheumatoid arthritis. *J Korean Med Sci* 2005;20(3):473-8.
120. Lee DM, Schur PH. Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2003;62(9):870-4.
121. Correa PA, Tobon GJ, Citera G, Cadena J, Schneeberger E, Camargo JF, et al. [Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in rheumatoid arthritis: relation with clinical features, cytokines and HLA-DRB1]. *Biomedica* 2004;24(2):140-52.
122. Pinheiro GC, Scheinberg MA, Aparecida da Silva M, Maciel S. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in advanced rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med* 2003;139(3):234-5.
123. Herold M, Boeser V, Russe E, Klotz W. Anti-CCP: history and its usefulness. *Clin Dev Immunol* 2005;12(2):131-5.
124. Low JM, Chauhan AK, Kietz DA, Daud U, Pepmueller PH, Moore TL. Determination of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in the sera of patients with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2004;31(9):1829-33.
125. Fernandez-Suarez A, Reneses S, Wichmann I, Criado R, Nunez A. Efficacy of three ELISA measurements of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in the early diagnosis of rheumatoid arthritis. *Clin Chem Lab Med* 2005;43(11):1234-9.
126. Dubucquoi S, Solau-Gervais E, Lefranc D, Marguerie L, Sibilia J, Goetz J, et al. Evaluation of anti-citrullinated filaggrin antibodies as hallmarks for the diagnosis of rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2004;63(4):415-9.
127. Greiner A, Plischke H, Kellner H, Gruber R. Association of Anti-Cyclic Citrullinated Peptide Antibodies, Anti-Citrullin Antibodies, and IgM and IgA Rheumatoid Factors with Serological Parameters of Disease Activity in Rheumatoid Arthritis. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1050:295-303.
128. Vasishta A. Diagnosing early-onset rheumatoid arthritis: the role of anti-CCP antibodies. *Am Clin Lab* 2002;21(7):34-6.
129. Nell VP, Machold KP, Stamm TA, Eberl G, Heinzl H, Uffmann M, et al. Autoantibody profiling as early diagnostic and prognostic tool for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2005;64(12):1731-6..
130. Meyer O, Labarre C, Dougados M, Goupille P, Cantagrel A, Dubois A, et al. Anticitrullinated protein/peptide antibody assays in early rheumatoid arthritis for predicting five year radiographic damage. *Ann Rheum Dis* 2003;62(2):120-6.
131. Berglin E, Johansson T, Sundin U, Jidell E, Wadell G, Hallmans G, et al. Radiological outcome in rheumatoid arthritis is predicted by the presence of antibodies against cyclic citrullinated peptide before and at disease onset, and by IgA-rheumatoid factor at disease onset. *Ann Rheum Dis*. No prelo 2005. [17p.].
132. Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Koning MH, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum* 2004;50(2):380-6.
133. Rantapaa-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003;48(10):2741-9.
134. van Gaalen FA, van Aken J, Huizinga TW, Schreuder GM, Breedveld FC, Zanelli E, et al. Association between HLA class II genes and autoantibodies to cyclic citrullinated peptides (CCPs) influences the severity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004;50(7):2113-21.

135. Senkpiehl I, Marget M, Wedler M, Jenisch S, Georgi J, Kabelitz D, et al. HLA-DRB1 and anti-cyclic citrullinated peptide antibody production in rheumatoid arthritis. *Int Arch Allergy Immunol* 2005;137(4):315-8.
136. Huizinga TW, Amos CI, van der Helm-van Mil AH, Chen W, van Gaalen FA, Jawaheer D, et al. Refining the complex rheumatoid arthritis phenotype based on specificity of the HLA-DRB1 shared epitope for antibodies to citrullinated proteins. *Arthritis Rheum* 2005;52(11):3433-8.
137. Caramaschi P, Biasi D, Tonolli E, Pieropan S, Martinelli N, Carletto A, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptides in patients affected by rheumatoid arthritis before and after infliximab treatment. *Rheumatol Int.* 2005;26(1):58-62.
138. Bobbio-Pallavicini F, Alpini C, Caporali R, Avasse S, Bugatti S, Montecucco C. Autoantibody profile in rheumatoid arthritis during long-term infliximab treatment. *Arthritis Res Ther* 2004;6(3):R264-72.
139. Atzeni F, Turiel M, Capsoni F, Doria A, Meroni P, Sarzi-Puttini P. Autoimmunity and Anti-TNF- α Agents. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1051:559-69.
140. Chen HA, Lin KC, Chen CH, Liao HT, Wang HP, Chang HN, et al. The effect of etanercept on anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* No prelo 2005.
141. De Rycke L, Verhelst X, Kruithof E, Van den Bosch F, Hoffman IE, Veys EM, et al. Rheumatoid factor, but not anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, is modulated by infliximab treatment in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005;64(2):299-302.
142. Alessandri C, Bombardieri M, Papa N, Cinquini M, Magrini L, Tincani A, et al. Decrease of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor following anti-TNF α therapy (infliximab) in rheumatoid arthritis is associated with clinical improvement. *Ann Rheum Dis* 2004;63(10):1218-21.
143. Mediawake R, Isenberg DA, Schellekens GA, van Venrooij WJ. Use of anti-citrullinated peptide and anti-RA33 antibodies in distinguishing erosive arthritis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2001;60(1):67-8.
144. Kamali S, Polat NG, Kasapoglu E, Gul A, Ocal L, Aral O, et al. Anti-CCP and antikeratin antibodies in rheumatoid arthritis, primary Sjogren's syndrome, and Wegener's granulomatosis. *Clin Rheumatol* 2005.
145. Gottenberg JE, Mignot S, Nicaise-Rolland P, Cohen-Solal J, Aucouturier F, Goetz J, et al. Prevalence of anti-cyclic citrullinated peptide and anti-keratin antibodies in patients with primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2005;64(1):114-7.
146. Salvador G, Gomez A, Vinas O, Ercilla G, Canete JD, Munoz-Gomez J, et al. Prevalence and clinical significance of anti-cyclic citrullinated peptide and antikeratin antibodies in palindromic rheumatism. An abortive form of rheumatoid arthritis? *Rheumatology (Oxford)* 2003;42(8):972-5.
147. Lopez-Hoyos M, Ruiz de Alegria C, Blanco R, Crespo J, Pena M, Rodriguez-Valverde V, et al. Clinical utility of anti-CCP antibodies in the differential diagnosis of elderly-onset rheumatoid arthritis and polymyalgia rheumatica. *Rheumatology (Oxford)* 2004;43(5):655-7.
148. Takasaki Y, Takasaki C, Matsushita M, Yamada H, Nawata M, Matsudaira R. Anti cyclic citrullinated peptide antibodies in patients with mixed connective tissue disease. *Mod Rheumatol* 2004;14:367-375.
149. Bombardieri M, Alessandri C, Labbadia G, Iannuccelli C, Carlucci F, Ricciari V, et al. Role of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in discriminating patients

- with rheumatoid arthritis from patients with chronic hepatitis C infection-associated polyarticular involvement. *Arthritis Res Ther* 2004;6(2):R137-41.
150. Wener MH, Hutchinson K, Morishima C, Gretch DR. Absence of antibodies to cyclic citrullinated peptide in sera of patients with hepatitis C virus infection and cryoglobulinemia. *Arthritis Rheum* 2004;50(7):2305-8.
151. Morozzi G, Bellisai F, Fioravanti A, Galeazzi M. Absence of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in erosive osteoarthritis: further serological evidence of the disease as a subset of osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2005;64(7):1095-6.
152. Vander Cruyssen B, Hoffman IE, Zmierczak H, Van den Berghe M, Kruithof E, De Rycke L, et al. Anti-citrullinated peptide antibodies may occur in patients with psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005;64(8):1145-9.
153. Parodi A, Drosera M, Serio B, Barbieri L, Rebora A. Anti-citrulline antibodies in psoriatic patients with and without arthritis. *Acta Derm Venereol* 2005;85(3):253-4.
154. Bogliolo L, Alpini C, Caporali R, Scire CA, Moratti R, Montecucco C. Antibodies to cyclic citrullinated peptides in psoriatic arthritis. *J Rheumatol* 2005;32(3):511-5.
155. Alenius GM, Berglin E, Rantapaa Dahlqvist S. Antibodies against cyclic citrullinated peptide (CCP) in psoriatic patients with or without manifestation of joint inflammation. *Ann Rheum Dis*. No prelo 2005. [8 p.]
156. Kruithof E, Baeten D, De Rycke L, Vandooren B, Foell D, Roth J, et al. Synovial histopathology of psoriatic arthritis, both oligo- and polyarticular, resembles spondyloarthropathy more than it does rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2005;7(3):R569-80.
157. Palosuo T, Nissinen R, Savolainen A, Saila H, Aho K. Anti-filaggrin antibody in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2001;19(6):762; author reply 762-3.
158. Avcin T, Cimaz R, Falcini F, Zulian F, Martini G, Simonini G, et al. Prevalence and clinical significance of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002;61(7):608-11.
159. van Rossum M, van Soesbergen R, de Kort S, ten Cate R, Zwinderman AH, de Jong B, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibodies in children with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2003;30(4):825-8.
160. Kasapcopur O, Altun S, Aslan M, Karaarslan S, Kamburoglu-Goksel A, Saribas S, et al. Diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004;63(12):1687-9.
161. Hromadnikova I, Stechova K, Pavla V, Hridelova D, Houbova B, Voslarova S, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Autoimmunity* 2002;35(6):397-401.
162. Ferucci ED, Majka DS, Parrish LA, Moroldo MB, Ryan M, Passo M, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide are associated with HLA-DR4 in simplex and multiplex polyarticular-onset juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2005;52(1):239-46.
163. Sackett DL, Cook RJ. Understanding clinical trials. *Bmj* 1994;309(6957):755-6.
164. Shmerling RH. Diagnostic tests for rheumatic disease: clinical utility revisited. *South Med J* 2005;98(7):704-11; quiz 712-3, 728.
165. Moons KG, Biesheuvel CJ, Grobbee DE. Test research versus diagnostic research. *Clin Chem* 2004;50(3):473-6.

166. Knottnerus JA, Muris JW. Assessment of the accuracy of diagnostic tests: the cross-sectional study. *J Clin Epidemiol* 2003;56(11):1118-28.
167. Jaeschke R, Guyatt G, Sackett DL. Users' guides to the medical literature. III. How to use an article about a diagnostic test. A. Are the results of the study valid? Evidence-Based Medicine Working Group. *Jama* 1994;271(5):389-91.
168. Lunt M, Symmons DP, Silman AJ. An evaluation of the decision tree format of the American College of Rheumatology 1987 classification criteria for rheumatoid arthritis: performance over five years in a primary care-based prospective study. *Arthritis Rheum* 2005;52(8):2277-83.
169. Visser H, le Cessie S, Vos K, Breedveld FC, Hazes JM. How to diagnose rheumatoid arthritis early: a prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum* 2002;46(2):357-65.
170. Jansen AL, van der Horst-Bruinsma I, van Schaardenburg D, van de Stadt RJ, de Koning MH, Dijkmans BA. Rheumatoid factor and antibodies to cyclic citrullinated Peptide differentiate rheumatoid arthritis from undifferentiated polyarthritis in patients with early arthritis. *J Rheumatol* 2002;29(10):2074-6.
171. Visser H. Early diagnosis of rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2005;19(1):55-72.
172. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig LM, et al. Towards complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy: the STARD initiative. *AJR Am J Roentgenol* 2003;181(1):51-5.
173. Hoffman IE, Peene I, Pottel H, Union A, Hulstaert F, Meheus L, et al. Diagnostic performance and predictive value of rheumatoid factor, anti-citrullinated peptide antibodies, and the HLA shared epitope for diagnosis of rheumatoid arthritis. *Clin Chem* 2005;51(1):261-3.
174. Kamoun M. Diagnostic performance and predictive value of anti-citrullinated peptide antibodies for diagnosis of rheumatoid arthritis: toward more accurate detection? *Clin Chem* 2005;51(1):12-3.
175. Knight RK, Pritchard MH. Nephelometry compared with differential antibody titre in routine rheumatoid factor measurements. *Ann Rheum Dis* 1982;41(4):426-30.
176. van der Schouw YT, Straatman H, Verbeek AL. ROC curves and the areas under them for dichotomized tests: empirical findings for logistically and normally distributed diagnostic test results. *Med Decis Making* 1994;14(4):374-81.
177. Bizzaro N, Mazzanti G, Tonutti E, Villalta D, Tozzoli R. Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis. *Clin Chem* 2001;47(6):1089-93.
178. Gallagher EJ. Clinical utility of likelihood ratios. *Ann Emerg Med* 1998;31(3):391-7.
179. Grootenboer-Mignot S, Nicaise-Roland P, Delaunay C, Meyer O, Chollet-Martin S, Labarre C. Second generation anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP2) antibodies can replace other anti-filaggrin antibodies and improve rheumatoid arthritis diagnosis. *Scand J Rheumatol* 2004;33(4):218-20.
180. van Gaalen FA, Visser H, Huizinga TW. A comparison of the diagnostic accuracy and prognostic value of the first and second anti-cyclic citrullinated peptides (CCP1 and CCP2) autoantibody tests for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005;64(10):1510-2.
181. Samanci N, Ozdem S, Akbas H, Mutlu D, Gultekin M, Arman M, et al. Diagnostic value and clinical significance of anti-CCP in patients with advanced rheumatoid arthritis. *J Natl Med Assoc* 2005;97(8):1120-6.

182. Palosuo T, Tilvis R, Strandberg T, Aho K. Filaggrin related antibodies among the aged. *Ann Rheum Dis* 2003;62(3):261-3.
183. Girelli F, Foschi FG, Bedeschi E, Calderoni V, Stefanini GF, Martinelli MG. Is Anti Cyclic citrullinated peptide a useful laboratory test for the diagnosis of rheumatoid arthritis? *Allerg Immunol (Paris)* 2004;36(4):127-30.
184. Raza K, Breese M, Nightingale P, Kumar K, Potter T, Carruthers DM, et al. Predictive value of antibodies to cyclic citrullinated peptide in patients with very early inflammatory arthritis. *J Rheumatol* 2005;32(2):231-8.
185. Grimes DA, Schulz KF. Refining clinical diagnosis with likelihood ratios. *Lancet* 2005;365(9469):1500-5.
186. Deeks JJ, Altman DG. Diagnostic tests 4: likelihood ratios. *Bmj* 2004;329(7458):168-9.
187. Paulo S, Mendes S, Vizinho R, Carneiro AV. Diagnostic testing, pre- and post-test probabilities, and their use in clinical practice. *Rev Port Cardiol* 2004;23(9):1187-98.
188. Puhan MA, Steurer J, Bachmann LM, ter Riet G. A randomized trial of ways to describe test accuracy: the effect on physicians' post-test probability estimates. *Ann Intern Med* 2005;143(3):184-9.
189. Radack KL, Rouan G, Hedges J. The likelihood ratio. An improved measure for reporting and evaluating diagnostic test results. *Arch Pathol Lab Med* 1986;110(8):689-93.
190. Nell VP, Machold KP, Stamm TA, Eberl G, Heinzl H, Uffmann M, et al. Autoantibody profiling as early diagnostic and prognostic tool for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005;64(12):1731-6.
191. Jaeschke R, Guyatt GH, Sackett DL. Users' guides to the medical literature. III. How to use an article about a diagnostic test. B. What are the results and will they help me in caring for my patients? The Evidence-Based Medicine Working Group. *Jama* 1994;271(9):703-7.
192. Zeng X, Ai M, Tian X, Gan X, Shi Y, Song Q, et al. Diagnostic value of anti-cyclic citrullinated Peptide antibody in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003;30(7):1451-5.
193. Macaskill P, Walter SD, Irwig L, Franco EL. Assessing the gain in diagnostic performance when combining two diagnostic tests. *Stat Med* 2002;21(17):2527-46.
194. Tampoia M, Brescia V, Fontana A, Maggiolini P, Lapadula G, Pansini N. Anti-cyclic citrullinated peptide autoantibodies measured by an automated enzyme immunoassay: analytical performance and clinical correlations. *Clin Chim Acta* 2005;355(1-2):137-44.
195. Vencovsky J, Machacek S, Sedova L, Kafkova J, Gatterova J, Pesakova V, et al. Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003;62(5):427-30.
196. van Paassen P, Damoiseaux J, Tervaert JW. Laboratory assessment in musculoskeletal disorders. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2003;17(3):475-94.
197. Solanki K, Spellerberg M, Chapman P, Moller P, O'Donnell J. Anti-cyclic citrullinated antibodies: complementary to IgM rheumatoid factor in the early diagnosis of rheumatoid arthritis. *N Z Med J* 2004;117(1203):U1097.
198. Soderlin MK, Kastbom A, Kautiainen H, Leirisalo-Repo M, Strandberg G, Skogh T. Antibodies against cyclic citrullinated peptide (CCP) and levels of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in very early arthritis: relation to diagnosis and disease activity. *Scand J Rheumatol* 2004;33(3):185-8.

199. Araki C, Hayashi N, Moriyama M, Morinobu S, Mukai M, Koshiba M, et al. [Usefulness of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (anti-CCP) for the diagnosis of rheumatoid arthritis]. *Rinsho Byori* 2004;52(12):966-72.
200. Nielen MM, van der Horst AR, van Schaardenburg D, van der Horst-Bruinsma IE, van de Stadt RJ, Aarden L, et al. Antibodies to citrullinated human fibrinogen (ACF) have diagnostic and prognostic value in early arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005;64(8):1199-204.

ANEXOS

ANEXO 1

Critérios de Classificação da artrite reumatóide do Colégio Americano de Reumatologia de 1988.

CRITÉRIO	DEFINIÇÃO
1- Rigidez matinal	Rigidez matinal articular de pelo menos 1 hora de duração.
2- Artrite de 3 ou mais grupos articulares	Edema ou derrame articular envolvendo simultaneamente pelo menos 3 grupos articulares, observado por médico.
3- Artrite de articulações de mãos	Artrite de articulação de punhos, metacarpofalangianas ou interfalangianas proximais.
4- Artrite simétrica	Envolvimento bilateral, simultâneo, dos grupos articulares especificados no item 2.
5- Nódulos reumatóides	Nódulos subcutâneos sobre proeminências ósseas, superfícies extensoras ou regiões justaarticulares, observadas por médico.
6-Fator reumatóide	Fator reumatóide sérico detectado por qualquer método cujo resultado seja positivo em menos de 5% dos indivíduos normais.
7-Alterações radiográficas	Erosões ou osteopenia justaarticular observadas em raios-x de mão e punhos em incidência pósterio-anterior.

Para classificação são necessários pelo menos 4 dos 7 critérios. Critérios de 1-4 devem estar presentes por pelo menos 6 semanas (38).

ANEXO 2

PROTÓCOLO DO TESTE DO ANTI-CCP

NOME: _____

IDADE: _____ SEXO: F M REGISTRO: _____

ENDEREÇO: _____

TELEFONE DE CONTATO: _____

ORIGEM DA COLETA: Ambulatório SUS Centro Clínico
Internação LEITO _____ Emergência

ORIGEM DO PACIENTE: Reumato PUC Outro serviço ou médico _____

Responsável pela solicitação do FR: _____

DATA 1: _____ Preenchido por: _____ Nº COLETA 1: _____

DIAGNÓSTICO 1: _____

Tem sintomas articulares? NÃO SIM Tempo de início:

Apresentação clínica _____

LABORATÓRIO: FR: _____ CCP: _____ FAN: _____ PCR _____ VSG _____

Rx demãos: _____

DATA 2: _____ Preenchido por: _____ Nº COLETA 2: _____

DIAGNÓSTICO 2: _____

Persistem ou surgiram sintomas articulares? SIM NÃO

Apresentação clínica: _____

LABORATÓRIO: FR: _____ CCP: _____ FAN: _____ PCR _____

VSG _____

Rx: _____

Foi avaliado por reumatologista no último ano? SIM NÃO

ANEXO 3

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

“PROBABILIDADE DE ARTRITE REUMATÓIDE A PARTIR DA TESTAGEM PARA FATOR REUMATÓIDE E ANTICORPOS ANTIPEPTÍDEO CITRULINADO CÍCLICO”

Justificativa e Objetivos: Os testes do fator reumatóide e do anti-CCP são para auxiliar o diagnóstico entre diferentes reumatismos. O anti-CCP é um teste novo (2 anos) para ajudar no diagnóstico da Artrite Reumatóide. Este estudo pretende descobrir qual deles deve ser solicitado.

Procedimentos a serem utilizados: O método empregado para este estudo consiste de coleta de amostra de sangue através da punção de uma veia do braço, realizada em nosso laboratório. A partir do sangue coletado, será realizado, então, os exames laboratoriais necessários.

Desconfortos e riscos esperados: O senhor(a) não será submetido(a) a nenhum desconforto ou risco adicional ao participar deste estudo, pois a coleta de sangue necessária será realizada no mesmo momento em que estiver realizando os exames de sangue solicitados rotineiramente pelo seu médico. A coleta de sangue é um procedimento rotineiro, considerado de risco mínimo. Em algumas ocasiões formam-se hematomas no local da coleta, os quais sofrem resolução completa em poucos dias.

Benefícios que se pode obter: Através da participação neste estudo, o senhor(a) estará contribuindo para a melhora do diagnóstico de reumatismo e conseqüentemente um tratamento mais adequado. Além disso, poderá ter acesso aos resultados do exame em um prazo de no máximo 6 meses para levar ao seu médico (todos os exames serão testados juntos, ou seja, após todos serem coletados).

Garantia de resposta a qualquer pergunta: Tudo o que o senhor(a) não entender sobre este estudo deve perguntar, não fique com dúvidas.

Liberdade de abandonar a pesquisa sem prejuízo para si: A concordância em participar deste estudo não implica necessariamente em qualquer modificação no tratamento que já está sendo realizado para sua doença, no entanto, o senhor(a) fica livre para solicitar o seu desligamento da pesquisa a qualquer momento, se assim o desejar.

Garantia de privacidade: Todos os seus dados são confidenciais e serão conhecidos apenas pelos organizadores do estudo.

Compromisso com informação atualizada: Ao participar deste estudo, o senhor(a) poderá optar se gostaria de ser comunicado ou não dos resultados que lhe possam interessar, decorrentes das pesquisas realizadas.

Garantia de que custos adicionais serão absorvidos pelo orçamento das pesquisas: O senhor(a) não terá nenhum gasto adicional ao participar deste estudo.

Eu,fui informado dos objetivos do estudo "PROBABILIDADE DE ARTRITE REUMATÓIDE A PARTIR DA TESTAGEM PARA FATOR REUMATÓIDE E ANTICORPOS ANTIPEPTÍDEO CITRULINADO CÍCLICO" de forma clara e detalhada. Recebi informações específicas sobre cada procedimento em que estarei envolvido, dos desconfortos ou riscos previstos, tanto quanto dos benefícios esperados. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos, assim como modificar minha decisão se assim o desejar. Fico ciente de que todos os dados do estudo referentes a minha pessoa serão confidenciais.

Caso tiver novas perguntas sobre o estudo, posso chamar a Dra Inês Silveira no telefone 33393679 para qualquer pergunta sobre meus direitos como participante do estudo ou se penso que fui prejudicado pela minha participação.

Declaro que recebi cópia do presente Termo de Consentimento.

_____	_____	__/__/__
Assinatura do paciente	Nome	Data
_____	_____	__/__/__
Assinatura do pesquisador	Nome	Data

Este formulário foi lido para _____ (nome do paciente) em __/__/__ (data) pelo _____ (nome do pesquisador) enquanto eu estava presente.

ANEXO 4

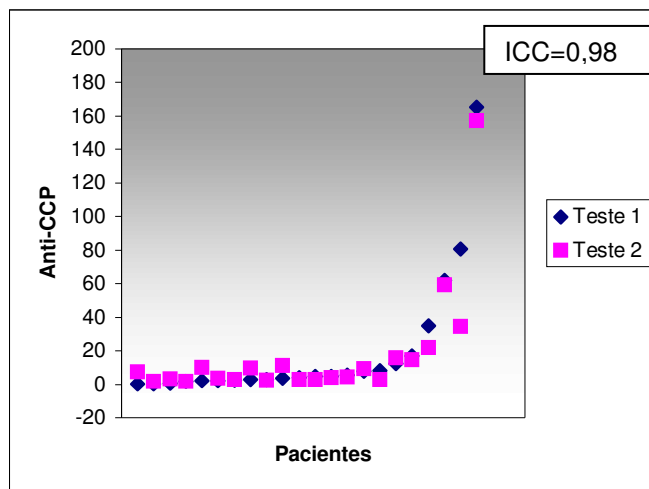


Figura 7. Gráfico de correlação entre resultados de 2 testes realizados no mesmo paciente em média 3,7 meses de diferença, no período de 6 meses, com resultado do coeficiente de correlação intra-classe de 0,98 (201)

ANEXO 5

Tabela de dados demográficos, clínicos e laboratoriais de um total de 940 pacientes subdivididos no grupo em estudo, grupo excluído sem diagnóstico e grupo com dúvida quanto ao diagnóstico de artrite reumatóide, também excluído.

Características da população	Estudo N= 768	Sem diagnóstico N=151	Dúvida se AR N= 21
Sexo			
Feminino	605 (79%)	117 (77%)	17 (81%)
Masculino	163 (21%)	34 (23%)	4 (21%)
Idade			
Anos	52 ± 15	52 ± 15	59 ± 15
Duração dos sintomas < de 2 anos	444 (58%)	-----	7(33%)
Origem			
Ambulatorial	621 (81%)	151 (100%)	21 (100%)
Internação	147 (19%)	0	0
Anti-CCP			
Positivo	104 (13%)	4 (3%)	4 (19%)
Resultado (U/mL)	113 ± 62	23 ± 15	34 ± 14
FR			
Positivo	149 (19%)	11 (7%)	6 (28%)
Resultado (UI/mL) ±	102 ± 548	45 ± 139	45 ± 576

Dados apresentados como contagem (%), mediana e média ± DP.

ANEXO 6

A positividade dos testes FR e anti-CCP conforme solicitação do FR por reumatologistas ou não-reumatologistas.

Testes	Reumatologistas N=359	Não- reumatologistas N= 409	P
Anti- CCP positivo	70 (19%)	34 (8%)	0,001*
FR positivo	82 (23%)	55 (13%)	0,005*

ANEXO 7

Tabela A. Distribuição dos diagnósticos e da positividade dos testes do Fator Reumatóide e do Anti-CCP em 102 pacientes com Outras Doenças do Tecido Conjuntivo, estando Artrite Reumatóide excluída.

Outras Doenças do Tecido Conjuntivo	Total N=102	Fator reumatóide Positivo N=16	Anti-CCP Positivo N=2
Síndrome de Sjögren Primária	35	8	1*
Lupus Eritematoso Sistêmico	21	2	--
Doença Indiferenciada	20	1	--
Vasculites Sistêmicas	16	2***	1**
Esclerose Sistêmica	9	2	--
Dermatomiosite	1	1	--

* Uma paciente com Síndrome de Sjögren Primária desde 2001, desde então em uso de hidroxicloroquina, encaminhada pelo oftalmologista, sem nenhum sintoma músculoesquelético.

** Um paciente com Crioglobulinemia Mista Essencial com insuficiência renal e poliartrite.

*** Dois pacientes com Crioglobulinemia Mista Essencial.

Tabela B. Distribuição dos diagnósticos e da positividade dos testes do Fator Reumatóide e do Anti-CCP em 38 pacientes com Espondiloartropatias Soronegativas.

Espondiloartropatias Soronegativas	Total N=38	Fator Reumatóide Positivo N=4	Anti-CCP Positivo N=1
Doença Indiferenciada	14	2	--
Artrite Reativa	12	--	--
Artrite Psoriásica	8	1	--
Espondilite Anquilosante	2	--	--
Artrite Enteropática	2	1	1*

*Paciente com doença de Crohn, apresentou poliartrite e após remissão.

Tabela C. Distribuição dos diagnósticos e da positividade dos testes do Fator Reumatóide e do Anti-CCP em 264 pacientes com Reumatismos de Partes Moles, Osteoartrite e Doenças por Depósito de Cristais.

Reumatismos de Partes Moles Osteoartrite e Doenças por Depósito de Cristais	Total N=264	Fator Reumatóide Positivo N=26	Anti-CCP Positivo N=7
Osteoartrite	57	5	3*
Fibromialgia	54	8	-
Tendinites	49	5	2**
Síndrome Miofascial	31	-	-
Doença por depósito de cristal	16	-	-
Síndrome do Túnel do Carpo	9	1	1**
Outras	44	6	1**

*2 pacientes com osteoartrite de coxofemorais bilateral, com destruição de espaços articulares, sem outras alterações.

**Pacientes com quadros clínicos inespecíficos.

Tabela D. Distribuição dos diagnósticos e da positividade dos testes do Fator Reumatóide e do Anti-CCP em 42 pacientes com Doenças Autoimunes Não-Reumatológicas.

Doenças Autoimunes Reumatológicas	Não-Total	Fator Reumatóide Positivo	Anti-CCP Positivo
	N=42	N=2	N=4
Esclerose múltipla	9	1	-
Doenças autoimunes de tireóide	7	-	-
Púrpura Trombocitopênica Idiopática	5	-	-
Anemia Autoimune	5	1	3*
Fibrose Pulmonar	3	-	-
Uveíte	3	-	-
Hipertensão pulmonar	2	-	-
Outras	8	-	1**

*Uma paciente com Anemia Aplástica Autoimune e 2 pacientes com Anemia Hemolítica Autoimune, sem sintomas articulares.

** Uma paciente com vírus da Hepatite C e plaquetopenia.

Tabela E. Distribuição dos diagnósticos e da positividade dos testes do Fator Reumatóide e do Anti-CCP em 30 pacientes com Neoplasias Malignas.

Neoplasias	Total N=30	Fator Reumatóide Positivo N=4	Anti-CCP Positivo N=2
Câncer de Mama	9	1	1*
Câncer Pulmão	7	1	-
Câncer gastrointestinal***	5	-	-
Linfoma	4	1	1**
Leucemia	3	1	-
Mieloma Múltiplo	1	-	-
Câncer de testículo	1	-	-

*Paciente também com Púrpura Trombocitopênica Idiopática sem artrite.

**Paciente apresentou poliartrite 6 meses antes do diagnóstico de Linfoma Hogdkin- remissão completa com quimioterapia – persiste com anti-CCP positivo 1 ano após.

*** Dois pacientes com Câncer gástrico, 2 com Câncer de cólon e 1 de reto,

Tabela F. Distribuição dos diagnósticos e da positividade dos testes do Fator Reumatóide e do Anti-CCP em Pacientes com Outras Doenças Não-Classificadas nos Grupos Anteriores.

Outras Doenças	Total N=160	Fator Reumatóide Positivo N=13	Anti-CCP Positivo N=6
Acidentes Vascular Encefálico	18	5	1
Infecções	15	2	1*
Doenças Neurodegenerativas	14	2	1*
Surdez neuro-sensorial	6	1	-
Transplantado renal	2	1	-
Doador de Rim	1	-	1
Raynaud de 1 dígito	1	-	1**
Outras	103	2***	-

*Um paciente com otite média crônica; *1 paciente portador do vírus HTLV1.

** Desaparecimento do sintoma em 3 semanas, sem outras manifestações clínicas.

*** Dois pós-operatórios: valvulopatia e nódulo de tireóide.

ANEXO 8

Tabela A. Guia de interpretação de Razões de verossimilhança

Razões de verossimilhança	Mudanças de probabilidade pré-teste para pós-teste
> 10 or < 0,1	Grandes e freqüentemente conclusivas
5 - 10 or 0,1 - 0,2	Moderados desvios
2 - 5 or 0,2 - 0,5	Pequenas (algumas vezes importante)
1 - 2 or 0,5 - 1	Pequenas (raramente importantes)

*Modificado de *Jaeschke R, Guyatt G, Sackett DL for the Evidence-Based Medicine Working Group in Users' Guides to Medical Literature. JAMA 1994, 271-5.*

Tabela B. Cálculo das razões de verossimilhança (RV) e probabilidade pós-teste (PPT) do Anti-CCP.

Anti-CCP U/ml	n=132		n= 636		Razão de verossimilhança	95% CI	PPT
	Com Artrite Reumatoide	Sem artrite reumatóide	Com Artrite Reumatoide	Sem artrite reumatóide			
< 10	36 27,3%	544 85,5%			$(36/132)/(544/636) = 0,3$	(0,24 -0,42)	6,2
10 † 20	14 10,6%	70 11 %			$(14/132)/(70/636) = 1$	(0,56 -1,66)	17
20 † 50	8 6,1%	12 1,9%			$(8/132)/(12/636)= 3,2$	(1,34 -7,70)	39,6
50 † 100	23 17,4%	7 1,1 %			$(23/132)/(7/636) = 15,8$	(6,94 - 36,13)	76,4
> 100	51 38,6%	3 0,47 %			$(51/132)/(3/636) = 81,9$	(25,96-258,48)	94,4

† Indica números fechados a esquerda e abertos à direita.

ANEXO 9

Tabela de 768 pacientes do estudo com as variáveis estudadas.

CCP: anti-CCP / FR: fator reumatóide / Sexo: 1=feminino e 2= masculino /

MESES: tempo de duração dos sintomas, onde "0"=ausência de sintoma articular/

DIAG2: diagnóstico final, onde 1=AR, 2= dúvida se é AR(excluído desta tabela), 3= DTC,

4=EAS, 5=RPM,6=DAI, 7=CA e 8=OUT / AMB/INT: 1=ambulatorial / 2=internação

PACIENTE	CCP	FR	SEXO	IDADE	MESES	DIAG 2	AMB INT
1	2,50	0	2	66	0	6	2
2	2,90	0	1	75	1	3	1
3	3,30	0	2	64	0	8	2
4	8,01	0	1	63	0	7	1
5	1,90	0	1	59	24	5	1
6	6,30	0	1	74	30	3	1
7	3,03	0	2	67	240	5	1
8	3,80	0	1	70	0	8	1
9	2,22	0	2	81	36	5	1
10	10,60	0	2	68	0	7	2
11	3,20	0	2	49	0	8	2
12	218,40	146	1	71	108	1	2
13	3,03	0	1	79	0	8	2
14	0,26	23	2	75	0	8	1
15	7,50	0	1	50	120	5	1
16	218,20	375	2	35	24	1	1
17	2,20	0	2	73	5	5	1
18	210,10	536	1	84	132	1	1
19	2,40	17	1	65	120	5	1
20	5,40	0	2	42	0	8	2
21	4,07	0	2	78	0	8	2
22	1,03	0	2	25	0	8	1
23	0,30	0	2	24	36	4	1
24	204,80	34	1	44	84	1	1
25	2,30	0	1	24	0	8	2
26	2,00	0	1	47	0	8	2
27	0,90	0	1	38	0	8	1
28	1,30	0	1	75	48	3	1
29	8,30	0	1	53	0	8	1
30	6,10	160	1	60	0	7	1
31	0,86	0	1	64	120	5	1
32	204,80	191	1	59	18	1	1
33	3,90	0	1	83	24	8	1
34	20,30	0	1	50	0	8	1
35	0,56	0	1	81	108	3	1

PACIENTE	CCP	FR	SEXO	IDADE	MESES	DIAG 2	AMB INT
36	17,70	0	1	74	0	8	2
37	23,40	60	1	49	12	6	1
38	1,90	0	1	24	0	6	2
39	202,00	42	1	77	156	1	2
40	7,90	0	1	51	0	8	1
41	16,80	0	1	53	2	5	1
42	7,80	0	1	38	5	4	1
43	201,20	2320	1	77	12	1	2
44	4,06	0	1	54	24	5	1
45	0,20	0	1	52	0	7	2
46	1,30	0	1	35	24	5	2
47	3,70	0	1	61	96	5	1
48	5,30	0	1	47	120	4	1
49	4,90	0	1	29	36	5	1
50	22,50	0	1	27	6	5	1
51	5,40	0	1	32	0	8	2
52	1,00	0	1	35	60	3	1
53	2,00	0	1	35	0	8	1
54	3,90	0	1	47	36	5	1
55	0,11	0	1	41	0	8	1
56	5,40	0	1	84	6	5	2
57	200,50	45	1	63	72	1	1
58	4,70	0	2	54	0	7	2
59	10,20	0	2	43	240	4	2
60	0,70	0	2	42	60	5	1
61	0,98	0	1	26	96	3	1
62	4,30	0	1	62	18	5	1
63	0,40	0	1	67	0	7	1
64	8,25	0	1	35	0	8	1
65	199,60	345	2	68	60	1	2
66	198,50	148	2	67	360	1	1
67	8,40	0	2	70	0	8	1
68	192,90	791	1	40	120	1	2
69	3,10	0	2	67	9	3	1
70	191,70	206	1	62	180	1	2
71	188,10	51	1	66	4	1	1
72	12,80	0	2	77	6	7	1
73	187,50	194	1	76	240	1	2
74	8,30	0	1	24	9	8	1
75	7,50	0	1	42	0	8	1
76	187,10	245	2	52	24	1	1
77	12,50	0	2	59	10	5	1
78	4,20	0	1	37	0	8	2
79	3,40	0	1	50	0	6	1
80	4,10	0	2	43	12	5	1
81	183,10	582	1	60	180	1	1
82	9,06	0	1	63	12	5	2
83	17,70	0	2	90	120	5	1
84	182,80	451	1	52	132	1	1
85	7,11	0	2	54	0	6	2
86	2,00	0	1	30	0	8	1

PACIENTE	CCP	FR	SEXO	IDADE	MESES	DIAG 2	AMB INT
87	8,70	0	1	35	2	5	1
88	7,50	0	1	32	36	5	1
89	14,90	0	2	32	12	3	1
90	3,07	0	2	52	0	8	1
91	77,30	61	2	46	0	7	1
92	4,80	0	1	53	156	5	1
93	7,50	0	1	68	24	5	1
94	1,70	0	1	58	108	5	1
95	182,00	2200	1	76	240	1	2
96	0,27	77	1	60	72	5	1
97	179,60	0	1	71	132	1	1
98	1,60	0	1	55	36	5	1
99	4,80	0	1	53	12	5	1
100	5,10	0	1	58	2	4	1
101	179,30	539	2	53	96	1	1
102	1,00	0	1	47	24	7	1
103	175,70	88	1	40	84	1	1
104	173,30	166	1	50	444	1	1
105	4,80	0	2	44	0	8	1
106	5,80	0	2	57	6	5	1
107	173,10	148	1	46	96	1	1
108	1,30	0	1	36	12	5	1
109	1,20	0	2	51	0	6	1
110	1,02	0	1	59	0	7	1
111	7,50	0	1	39	0	6	1
112	6,90	0	1	42	7	5	2
113	9,50	0	1	49	120	5	1
114	4,90	0	1	38	12	4	1
115	4,60	0	1	32	6	5	1
116	26,70	0	1	39	0,5	8	1
117	2,20	0	1	37	12	5	1
118	14,80	0	2	62	0	8	1
119	172,00	288	2	77	164	1	1
120	1,70	0	1	45	10	5	1
121	3,20	0	1	53	72	3	1
122	2,10	0	1	62	72	5	1
123	7,40	0	1	50	8	8	1
124	0,81	30	1	68	0	8	2
125	17,40	0	1	31	0	6	1
126	2,90	16	1	58	8	5	1
127	170,60	945	1	58	194	1	1
128	2,30	63	1	30	12	3	1
129	12,50	0	1	30	0	6	1
130	168,50	23	1	67	6	1	1
131	4,90	0	1	65	0	8	1
132	2,00	0	1	55	24	3	1
133	165,80	140	1	38	96	1	1
134	7,20	0	2	68	0	8	1
135	4,40	0	2	72	12	5	1
136	165,20	215	1	70	24	1	1
137	2,70	0	1	29	24	8	1

PACIENTE	CCP	FR	SEXO	IDADE	MESES	DIAG 2	AMB INT
138	3,70	17	1	67	24	3	2
139	165,00	393	1	71	48	1	1
140	15,10	0	1	19	0	8	1
141	164,10	37	1	55	360	1	2
142	6,30	0	1	68	60	3	1
143	163,70	326	2	63	108	1	1
144	2,80	0	1	56	48	5	1
145	3,50	0	1	41	12	5	1
146	2,07	0	1	41	36	5	1
147	0,80	19	1	48	6	5	1
148	15,60	0	1	42	0	8	1
149	7,40	0	1	42	5	5	1
150	161,10	67	1	67	96	1	1
151	3,02	0	1	78	6	4	1
152	4,60	0	1	86	0	8	2
153	1,20	0	1	48	7	5	1
154	159,50	1880	1	51	36	1	1
155	75,20	0	1	55	0	7	1
156	156,50	0	1	59	60	1	1
157	2,00	0	1	45	60	3	1
158	12,60	0	2	63	0	8	1
159	37,80	21	1	51	2	4	1
160	1,80	0	1	52	120	5	1
161	5,30	0	2	59	148	5	1
162	1,60	0	1	77	120	3	1
163	3,70	0	2	38	240	4	1
164	1,70	0	1	50	12	5	1
165	2,70	15	1	63	60	3	1
166	7,60	0	1	39	72	3	1
167	156,00	76	2	48	12	1	1
168	6,08	59	1	58	12	5	1
169	156,00	0	1	54	60	1	1
170	7,30	0	1	54	0	8	1
171	153,80	110	1	44	72	1	1
172	31,40	0	1	65	36	8	1
173	6,70	0	1	49	12	5	1
174	2,00	0	1	41	6	5	1
175	3,90	0	1	45	120	4	1
176	3,17	0	1	82	1	5	2
177	4,20	0	1	52	20	5	1
178	1,10	0	1	20	0	8	2
179	19,20	0	1	46	24	5	1
180	2,90	0	1	39	0	6	1
181	6,80	21	1	54	0	8	2
182	1,60	0	1	47	0	8	1
183	7,40	0	1	68	72	5	1
184	148,70	266	1	55	156	1	1
185	148,00	27	1	51	360	1	1
186	10,00	0	1	44	12	5	1
187	18,75	0	1	42	48	5	2
188	5,40	0	1	56	144	4	1

PACIENTE	CCP	FR	SEXO	IDADE	MESES	DIAG 2	AMB INT
189	1,30	0	1	60	0	6	2
190	1,05	0	1	74	0	8	1
191	8,42	0	1	50	4	5	1
192	6,20	0	1	41	6	5	1
193	7,50	0	1	65	72	5	1
194	140,70	620	2	56	5	1	1
195	0,08	0	1	68	72	3	1
196	18,90	0	1	55	0	8	1
197	14,10	0	1	62	120	5	1
198	3,50	79	1	49	2	4	1
199	0,80	0	1	47	0	8	2
200	6,50	0	1	73	96	5	1
201	7,60	0	1	79	24	3	1
202	3,00	0	1	42	24	5	1
203	0,50	0	1	51	0	6	1
204	92,80	237	1	68	204	8	1
205	8,80	0	1	53	24	6	1
206	4,07	0	1	65	240	4	1
207	2,90	0	1	50	0	7	2
208	1,60	0	1	45	12	5	1
209	1,70	0	1	73	360	5	1
210	140,60	164	1	68	204	1	1
211	2,90	0	1	60	0	8	1
212	4,60	17	1	48	120	5	1
213	1,58	0	1	65	60	3	1
214	0,90	65	1	51	84	5	1
215	6,40	0	1	59	12	5	1
216	1,80	92	1	46	72	3	1
217	2,90	0	1	65	72	5	1
218	2,50	0	1	23	0	8	1
219	0,60	0	1	24	0	8	1
220	1,60	0	2	22	0	8	1
221	0,40	0	1	47	0	8	2
222	5,40	0	1	45	24	3	1
223	9,90	0	1	73	0	8	1
224	4,30	0	2	27	12	5	1
225	139,90	750	1	58	168	1	1
226	11,10	0	1	56	120	3	1
227	0,70	0	1	74	60	5	1
228	0,80	0	2	36	6	5	1
229	1,50	0	2	54	0	6	1
230	4,40	0	1	47	0	8	1
231	139,60	75	2	53	60	1	1
232	3,20	22	2	42	0	7	1
233	139,50	370	2	70	120	1	1
234	3,30	0	1	68	84	5	1
235	3,80	0	1	20	12	5	1
236	0,64	0	1	47	9	3	1
237	137,10	581	1	66	18	1	3
238	5,80	0	2	73	0	8	2
239	133,00	141	1	69	48	1	1

PACIENTE	CCP	FR	SEXO	IDADE	MESES	DIAG 2	AMB INT
240	5,50	0	1	73	156	5	1
241	12,10	0	1	69	5	3	1
242	130,70	207	1	51	324	1	1
243	22,90	0	1	71	120	5	1
244	2,70	0	1	51	0	8	1
245	124,10	54	1	57	36	1	1
246	8,10	0	2	41	60	3	2
247	9,90	0	1	65	60	5	1
248	6,40	0	1	45	120	5	1
249	5,60	0	1	59	240	5	1
250	4,20	0	1	40	6	5	1
251	117,70	498	1	67	6	1	1
252	13,30	0	1	61	1	5	2
253	9,70	0	1	41	2	5	1
254	3,80	0	1	62	120	5	1
255	10,40	0	1	40	12	5	1
256	13,60	0	1	48	96	3	1
257	1,60	0	1	37	0	6	2
258	3,70	0	1	72	120	5	1
259	1,20	0	1	59	0	6	1
260	8,20	0	2	64	0,5	8	2
261	12,30	0	1	51	120	5	1
262	1,40	0	2	35	0	8	2
263	5,60	34	2	75	24	8	1
264	2,10	0	2	67	0	8	2
265	2,20	0	2	70	0	7	2
266	0,80	0	2	52	0	8	1
267	1,10	0	1	69	132	3	1
268	1,80	0	1	64	72	5	1
269	1,60	0	1	59	0	6	1
270	1,20	0	1	50	0	8	1
271	8,80	0	1	36	3	4	1
272	2,70	0	1	40	0	7	1
273	15,30	0	1	40	0	6	1
274	6,70	0	1	57	12	3	1
275	4,30	0	2	69	104	5	1
276	114,40	819	2	58	24	1	2
277	4,30	0	1	51	8	3	1
278	15,40	0	1	49	0	8	2
279	3,10	192	1	49	48	3	1
280	0,10	0	1	53	0	6	2
281	5,40	0	1	78	12	5	1
282	1,10	0	2	74	0	8	2
283	5,50	0	1	30	0	8	1
284	4,10	0	2	39	0	3	1
285	2,20	0	1	59	1	5	1
286	4,50	0	1	70	90	5	1
287	100,20	155	2	42	24	1	1
288	97,70	2250	1	78	168	1	1
289	3,10	0	1	41	0	3	2
290	3,10	0	1	56	60	3	2

PACIENTE	CCP	FR	SEXO	IDADE	MESES	DIAG 2	AMB INT
291	5,50	0	1	74	24	3	2
292	0,70	0	1	46	84	5	1
293	0,60	0	1	50	0	8	2
294	1,30	32	1	65	6	5	1
295	95,70	242	1	58	96	1	1
296	4,90	0	1	53	6	5	1
297	0,80	0	1	66	48	5	1
298	4,30	0	1	61	60	5	1
299	50,80	0	1	40	0	6	1
300	91,80	252	2	46	9	1	1
301	2,20	36	1	79	7	5	1
302	89,40	306	1	59	1	1	1
303	0,90	0	1	25	24	3	1
304	0,20	23	2	72	0	8	1
305	1,60	0	2	69	0	8	2
306	1,80	0	1	34	2	5	1
307	11,30	141	1	70	192	3	1
308	89,28	104	2	28	24	1	1
309	1,10	0	1	57	6	7	1
310	4,30	0	2	75	0	7	1
311	1,10	0	2	32	0	8	1
312	10,01	22	1	55	60	5	1
313	19,40	0	1	49	252	5	1
314	6,30	0	1	71	168	3	1
315	9,60	0	1	57	12	5	1
316	5,60	0	1	32	24	5	1
317	86,10	141	1	55	24	1	1
318	4,20	0	1	46	12	5	1
319	1,80	26	1	72	0	8	1
320	0,45	0	1	48	1	5	2
321	6,50	0	1	23	84	3	2
322	2,90	0	2	35	6	5	1
323	0,95	0	2	47	24	5	1
324	6,60	34	1	47	12	5	1
325	8,90	0	1	23	24	5	1
326	5,10	0	1	53	12	5	1
327	4,06	0	1	54	12	5	1
328	3,09	0	1	37	120	3	1
329	1,40	0	1	34	60	3	2
330	7,50	0	1	69	170	5	1
331	1,30	0	2	59	0	8	2
332	9,90	0	1	58	0	8	1
333	7,20	0	1	39	0	8	2
334	2,90	0	1	44	1	5	1
335	2,50	0	2	39	12	5	1
336	4,20	0	2	39	20	4	1
337	14,10	0	2	41	0,5	4	2
338	22,70	0	2	42	12	5	1
339	85,10	44	1	49	168	1	1
340	0,60	0	2	64	6	5	2
341	4,50	0	2	45	0	8	2

PACIENTE	CCP	FR	SEXO	IDADE	MESES	DIAG 2	AMB INT
342	10,30	0	1	18	0	6	2
343	80,70	73	1	38	36	1	1
344	3,60	0	2	88	12	8	2
345	3,70	0	2	54	0	8	1
346	76,70	75	1	56	72	1	1
347	3,50	0	2	39	12	5	1
348	73,50	43	1	57	240	1	1
349	3,09	0	2	39	0	8	1
350	10,70	0	2	45	0	8	1
351	9,40	0	2	36	15	4	1
352	11,10	0	2	63	12	5	1
353	72,50	1040	1	51	36	1	2
354	2,90	0	2	73	36	5	1
355	70,50	107	1	36	5	1	1
356	7,40	0	1	41	0	8	1
357	66,90	0	1	62	180	1	1
358	1,05	0	1	56	12	5	1
359	4,90	0	1	67	84	5	1
360	66,02	0	1	60	20	1	1
361	3,70	0	1	46	10	8	1
362	7,50	0	2	24	60	5	1
363	63,20	628	1	35	336	1	1
364	1,50	0	1	39	120	8	1
365	9,90	0	2	62	1	5	1
366	62,40	146	2	63	18	1	1
367	3,60	0	1	43	0	8	2
368	6,50	0	1	47	0	8	1
369	3,10	0	1	41	0	7	2
370	10,30	0	1	30	0	8	1
371	1,90	0	1	34	72	6	2
372	5,10	0	1	18	36	3	1
373	3,03	0	1	52	12	5	1
374	62,10	454	2	68	240	1	2
375	0,75	0	1	38	156	5	1
376	61,60	108	1	71	72	1	1
377	0,50	21	1	54	36	8	1
378	4,40	0	1	70	6	5	1
379	5,10	0	1	54	60	3	1
380	58,90	1970	1	26	96	1	2
381	3,60	0	1	102	120	5	1
382	7,70	0	1	37	0	6	1
383	2,20	0	1	51	10	5	1
384	58,10	0	1	36	194	1	1
385	56,40	54	1	68	84	1	1
386	5,80	0	2	77	0	8	2
387	9,80	0	2	28	0	6	1
388	2,90	23	1	39	240	5	1
389	1,60	0	1	54	36	5	1
390	4,20	0	1	45	12	5	1
391	55,30	918	1	58	180	1	1
392	51,80	377	2	69	48	1	2

PACIENTE	CCP	FR	SEXO	IDADE	MESES	DIAG 2	AMB INT
393	42,60	103	2	64	60	1	1
394	3,10	0	1	58	60	3	1
395	16,90	0	1	45	24	3	1
396	4,90	0	1	54	48	5	1
397	5,30	0	1	57	120	5	1
398	36,20	83	1	70	96	1	1
399	5,40	0	1	31	12	5	1
400	10,70	0	2	35	120	5	1
401	34,80	0	2	77	5	1	1
402	0,27	0	1	51	0	8	2
403	6,50	0	1	42	2	5	1
404	3,80	0	1	60	96	5	1
405	4,07	0	1	54	30	3	1
406	12,90	0	2	46	2	7	1
407	7,30	0	1	28	6	5	1
408	32,50	828	2	65	120	1	1
409	2,80	0	1	76	0	8	1
410	5,80	0	2	64	36	5	1
411	0,20	0	2	25	0	8	2
412	0,64	0	2	18	2	4	1
413	2,20	0	2	39	36	5	1
414	1,40	0	2	53	72	5	1
415	32,30	0	1	42	108	1	1
416	2,30	0	2	52	36	5	1
417	16,10	0	2	42	12	5	1
418	2,70	0	2	47	0	8	1
419	32,30	564	1	64	24	1	2
420	29,80	0	1	81	24	1	2
421	25,00	0	1	60	24	1	1
422	7,60	0	1	31	180	4	1
423	8,20	0	2	61	36	5	1
424	2,10	0	2	56	60	4	1
425	19,40	484	2	48	48	1	1
426	6,60	0	1	20	12	5	1
427	18,40	210	1	63	18	1	1
428	5,10	0	1	24	2	3	3
429	153,80	3080	2	35	12	3	1
430	3,80	0	1	39	0	8	1
431	4,60	0	1	76	84	3	1
432	8,00	0	1	34	6	5	1
433	8,80	0	1	68	36	5	1
434	6,20	0	1	57	24	3	1
435	16,20	15	1	45	156	1	1
436	15,70	493	1	48	72	1	2
437	14,50	253	1	45	96	1	1
438	8,60	0	1	28	0	8	2
439	12,10	192	1	47	192	5	1
440	5,04	0	1	45	24	5	1
441	4,90	0	1	77	0	8	1
442	2,40	0	1	75	0	8	2
443	14,90	0	1	55	24	5	1

PACIENTE	CCP	FR	SEXO	IDADE	MESES	DIAG 2	AMB INT
444	5,80	0	1	39	48	3	1
445	5,70	0	1	50	228	3	1
446	7,52	224	1	49	60	3	1
447	9,80	0	1	47	36	5	3
448	2,55	0	1	29	0	8	2
449	14,30	26	1	69	720	1	1
450	14,10	0	1	75	48	1	1
451	7,70	0	1	43	12	5	1
452	7,30	0	1	74	36	4	1
453	8,50	0	1	76	12	5	1
454	5,30	28	1	78	60	3	1
455	2,80	0	1	39	12	5	1
456	14,10	0	1	61	60	1	1
457	13,60	0	1	40	0	8	1
458	10,10	0	1	47	6	5	1
459	8,50	0	1	42	6	5	1
460	7,60	0	1	81	0	8	1
461	1,70	0	1	54	6	5	2
462	13,80	3650	1	57	156	1	1
463	0,15	0	1	50	0	8	1
464	0,67	0	1	49	18	5	1
465	2,90	0	1	58	3	3	1
466	3,40	0	1	56	15	5	1
467	4,70	0	1	57	120	5	2
468	5,60	0	1	48	15	3	1
469	5,04	0	1	55	180	5	1
470	1,70	0	1	37	36	5	1
471	11,70	0	2	31	240	1	1
472	8,01	0	1	48	3	5	1
473	4,90	0	1	51	12	5	1
474	2,30	47	1	57	12	5	2
475	0,90	0	1	70	120	5	1
476	11,60	0	1	54	15	1	1
477	1,30	0	1	66	24	3	1
478	2,30	374	1	70	0	8	1
479	0,89	0	1	55	0	8	2
480	10,90	0	2	75	180	1	1
481	0,40	0	1	57	36	3	1
482	9,60	0	1	52	6	5	1
483	12,70	0	1	42	6	4	1
484	1,80	0	1	42	0	8	2
485	2,70	0	1	47	132	5	1
486	8,70	0	1	67	12	3	1
487	4,90	0	1	44	48	5	1
488	1,50	20	1	49	0	8	2
489	2,10	0	1	44	60	3	1
490	7,10	0	1	64	0	8	2
491	10,60	0	1	73	36	1	1
492	11,60	0	1	67	0	6	2
493	2,70	0	1	51	0	8	1
494	2,70	0	1	63	0	6	2

PACIENTE	CCP	FR	SEXO	IDADE	MESES	DIAG 2	AMB INT
495	1,90	0	1	57	12	5	1
496	5,20	0	1	52	60	5	1
497	10,40	0	2	41	60	1	1
498	9,60	74	1	39	120	1	1
499	3,70	0	1	48	144	5	1
500	4,20	0	1	59	60	5	1
501	9,40	0	1	54	24	3	1
502	5,70	30	1	45	48	5	1
503	4,03	0	1	74	30	3	1
504	12,90	0	1	55	120	3	1
505	23,80	0	1	68	48	5	1
506	3,30	0	1	37	12	5	1
507	2,07	16	1	58	8	5	1
508	8,40	0	1	38	7	3	1
509	4,10	77	1	41	0	8	1
510	2,70	0	1	48	84	3	1
511	8,50	548	1	52	84	1	1
512	6,60	0	1	43	0	8	2
513	7,70	0	1	55	1	3	1
514	0,80	61	1	60	24	3	1
515	7,30	0	1	85	24	1	1
516	8,90	0	1	49	12	5	1
517	7,30	0	2	57	3	3	1
518	1,40	0	2	38	0	8	1
519	6,30	0	1	42	0	8	1
520	15,80	0	1	43	12	5	1
521	4,40	0	1	46	90	5	1
522	6,20	0	1	26	0	8	1
523	2,00	0	1	49	36	5	1
524	2,10	0	1	63	120	5	1
525	2,40	0	1	41	0	8	1
526	4,07	0	1	39	3	7	1
527	1,30	0	1	42	8	5	1
528	3,90	0	1	33	0	8	1
529	11,70	0	1	45	60	3	1
530	4,30	0	1	51	48	3	1
531	5,10	0	1	20	0	8	2
532	1,90	0	1	40	12	5	1
533	0,20	0	1	37	120	5	1
534	1,10	0	1	46	60	3	1
535	6,80	0	1	48	48	1	1
536	6,70	0	1	52	36	4	1
537	0,60	0	1	54	0	7	1
538	78,20	0	2	19	0	8	1
539	11,10	0	2	19	1	3	1
540	2,50	0	2	42	0	6	1
541	4,90	0	1	53	120	5	1
542	0,90	0	2	64	0	8	2
543	6,50	0	1	47	60	1	1
544	8,20	0	1	25	24	3	1
545	6,50	0	1	48	96	1	1

PACIENTE	CCP	FR	SEXO	IDADE	MESES	DIAG 2	AMBI INT
546	0,70	0	1	75	0	8	2
547	6,30	0	1	48	312	1	1
548	3,20	0	1	41	12	4	1
549	1,40	0	1	38	108	5	1
550	5,90	0	1	21	36	1	1
551	2,90	0	2	75	0	8	1
552	2,80	259	1	46	60	5	1
553	18,60	0	1	48	0	8	1
554	3,20	0	1	44	12	3	1
555	4,00	0	1	34	182	3	1
556	5,60	0	1	75	12	5	1
557	6,90	0	1	69	0,5	5	1
558	2,00	0	1	65	0	8	2
559	15,77	84	1	84	72	5	1
560	5,97	0	1	45	60	5	1
561	1,40	0	2	69	0	7	2
562	5,60	0	1	42	24	1	1
563	2,70	0	2	83	0	8	1
564	7,03	0	1	46	72	3	1
565	4,90	0	1	19	36	1	1
566	5,07	0	1	56	12	5	1
567	0,98	0	1	40	36	6	1
568	6,30	0	1	72	6	5	1
569	7,70	0	1	65	0	8	2
570	3,02	0	1	69	0	8	1
571	9,90	0	2	73	0	7	1
572	1,50	0	1	59	6	5	1
573	2,40	27	1	23	12	5	1
574	2,80	0	1	50	24	4	1
575	4,30	0	1	37	36	1	1
576	11,40	69	1	55	2	3	2
577	8,90	0	1	59	48	3	1
578	1,03	0	1	67	120	5	1
579	8,70	0	1	48	12	5	1
580	9,60	0	1	68	12	3	1
581	4,24	0	1	73	7	1	1
582	1,60	0	2	23	0	8	2
583	5,30	0	1	61	24	3	1
584	2,40	0	1	49	0	8	1
585	3,70	0	2	56	0	8	2
586	7,50	0	1	70	0	8	2
587	2,30	0	1	68	12	5	1
588	2,60	0	1	72	120	5	1
589	4,06	0	2	46	132	1	1
590	1,70	0	1	74	6	5	1
591	13,70	0	1	71	72	5	1
592	4,60	0	1	72	0	8	1
593	66,50	0	1	79	24	6	1
594	4,00	0	2	74	12	1	1
595	7,80	0	1	68	12	5	1
596	3,90	0	1	42	60	1	1

PACIENTE	CCP	FR	SEXO	IDADE	MESES	DIAG 2	AMB INT
597	1,80	0	2	67	72	4	2
598	0,27	56	2	77	0	8	2
599	5,90	0	1	54	12	4	1
600	3,90	0	1	50	24	1	1
601	2,00	0	2	54	0	8	2
602	2,90	0	1	24	0	8	2
603	1,60	0	2	56	6	5	1
604	8,10	0	2	33	24	3	1
605	0,30	0	2	50	2	5	1
606	7,70	0	2	43	0	8	2
607	11,40	0	2	44	11	5	1
608	5,10	0	2	59	5	8	1
609	9,20	0	2	83	0	8	2
610	12,10	0	2	31	0	8	2
611	2,40	0	1	43	0	8	1
612	8,90	0	1	63	144	5	1
613	1,70	0	2	24	6	3	2
614	3,02	0	1	78	6	5	1
615	3,80	0	1	66	24	1	1
616	1,03	0	1	32	0	6	1
617	3,50	0	1	61	96	5	1
618	3,80	0	1	24	3	1	1
619	6,90	0	1	33	2	5	2
620	4,90	54	1	37	0	8	1
621	18,60	0	1	45	0	8	2
622	3,10	0	1	45	0	8	1
623	6,05	0	1	43	7	8	1
624	2,38	0	2	52	240	3	1
625	1,10	0	1	70	240	7	2
626	1,70	0	2	40	12	5	1
627	4,10	0	2	45	0	6	1
628	1,17	0	1	36	36	5	1
629	5,70	0	1	25	0	6	1
630	10,40	0	2	48	18	5	1
631	3,70	0	1	83	240	1	2
632	9,80	27	1	60	6	5	1
633	3,20	0	1	28	5	1	1
634	9,10	0	1	82	0	7	1
635	9,70	0	1	86	12	3	2
636	3,70	0	1	85	0	8	1
637	4,14	0	1	22	60	6	1
638	8,30	0	1	34	240	5	1
639	12,30	0	1	30	12	5	1
640	9,00	0	1	22	0	8	1
641	3,10	0	1	58	36	1	1
642	5,25	0	1	35	216	3	1
643	24,70	0	1	36	12	5	1
644	9,10	0	1	53	48	3	1
645	1,60	0	1	41	0	8	1
646	12,20	0	1	70	0	6	1
647	10,80	0	1	39	7	5	1

PACIENTE	CCP	FR	SEXO	IDADE	MESES	DIAG 2	AMB INT
648	0,81	0	1	26	12	5	1
649	43,00	309	2	72	6	5	1
650	3,50	0	1	51	120	5	1
651	3,60	0	1	62	12	5	1
652	7,50	0	1	77	7	5	1
653	2,40	529	1	63	24	3	2
654	4,60	27	2	55	48	4	1
655	3,00	38	1	50	228	1	2
656	4,10	0	2	54	6	3	1
657	1,70	0	2	38	36	3	1
658	2,70	0	1	58	7	1	1
659	13,80	0	1	46	0	8	2
660	15,30	0	1	56	0	8	2
661	0,79	0	1	74	12	5	1
662	2,50	27	1	39	384	1	1
663	1,40	0	2	33	5	5	1
664	3,42	0	1	35	24	5	1
665	1,60	0	1	44	0	8	1
666	2,50	0	1	64	132	1	1
667	7,70	0	1	74	24	8	2
668	3,80	0	2	58	240	5	1
669	6,20	0	1	22	12	4	1
670	4,20	0	1	52	0	8	2
671	201,04	0	1	43	0	6	2
672	88,30	242	1	57	36	3	1
673	2,30	0	1	21	96	1	1
674	2,30	0	1	53	12	5	2
675	3,00	0	1	55	12	4	1
676	1,40	0	1	48	0	8	2
677	0,26	0	1	34	72	6	2
678	8,00	0	1	35	0	8	2
679	5,30	0	1	52	0	8	1
680	3,10	0	1	55	12	5	1
681	4,70	0	1	55	96	3	1
682	2,30	0	2	18	60	1	1
683	4,60	0	1	50	8	5	1
684	7,70	0	1	52	4	5	1
685	14,10	0	1	44	324	3	2
686	1,80	0	1	75	24	5	1
687	2,90	0	1	65	9	4	1
688	11,40	0	1	57	0	8	1
689	3,20	0	1	72	36	5	2
690	2,10	0	1	58	192	1	1
691	2,07	0	1	56	0	6	2
692	0,64	16	1	50	24	5	1
693	2,86	0	1	57	120	5	1
694	8,60	0	1	47	0	8	2
695	2,90	0	1	37	3	4	1
696	6,90	0	1	57	36	3	1
697	1,30	0	1	51	96	5	1
698	3,57	0	1	50	36	5	1

PACIENTE	CCP	FR	SEXO	IDADE	MESES	DIAG 2	AMB INT
699	6,30	42	1	70	0	7	1
700	18,07	0	1	48	1	5	1
701	15,00	0	1	57	0	7	1
702	8,60	0	1	48	0	7	1
703	1,99	0	1	52	72	1	1
704	8,50	0	1	46	84	5	1
705	5,03	0	1	52	36	4	1
706	3,00	0	1	62	2	5	1
707	1,90	51	1	34	9	1	1
708	20,90	16	1	67	16	5	1
709	5,09	25	1	70	48	3	1
710	16,30	122	1	45	60	5	1
711	7,40	95	1	48	6	5	1
712	8,49	0	1	31	0	6	2
713	10,90	0	1	69	1	5	2
714	1,70	0	1	75	18	1	1
715	2,76	0	1	71	0	7	1
716	2,10	23	1	42	120	4	1
717	6,70	0	1	66	120	5	1
718	2,50	0	1	31	0	6	2
719	6,70	46	2	37	0	6	2
720	2,30	0	2	62	0	8	2
721	5,70	0	1	59	6	5	1
722	5,04	102	1	66	12	3	1
723	19,03	148	2	84	12	5	1
724	4,90	0	2	72	0	8	1
725	4,30	0	1	32	12	5	3
726	3,50	0	2	67	0	8	1
727	3,30	0	2	35	19	5	1
728	0,10	85	1	36	12	3	1
729	3,20	0	1	36	6	5	2
730	4,60	0	1	21	4	5	1
731	1,40	61	1	74	96	1	2
732	5,90	0	1	25	12	3	1
733	1,90	0	1	56	0	7	2
734	3,07	0	1	47	36	4	1
735	1,10	0	1	38	6	3	1
736	3,60	0	1	31	0	6	2
737	1,40	0	1	48	18	1	1
738	1,90	0	1	35	120	4	1
739	1,30	0	1	77	8	1	2
740	3,80	0	1	50	12	5	1
741	2,07	0	1	57	60	5	1
742	4,40	0	1	44	12	4	1
743	6,05	0	1	37	0	8	2
744	4,14	0	1	60	10	3	1
745	2,50	0	1	47	12	5	1
746	3,70	0	1	60	24	5	1
747	7,70	0	1	60	3	8	2
748	2,20	0	1	71	12	5	1
749	111,40	0	2	38	0	8	1

PACIENTE	CCP	FR	SEXO	IDADE	MESES	DIAG 2	AMBI INT
750	0,30	0	1	46	36	1	1
751	9,40	0	2	19	0	8	2
752	0,30	0	1	44	24	1	1
753	10,60	0	1	18	7	8	1
754	1,30	0	2	27	2	4	1
755	0,79	0	1	72	60	5	2
756	16,90	0	2	71	48	3	1
757	8,20	0	2	72	0	8	2
758	4,60	0	1	80	120	5	1
759	3,45	48	1	71	24	3	1
760	3,10	0	1	41	12	5	1
761	0,79	0	1	52	24	6	1
762	0,34	0	1	53	12	5	1
763	4,90	0	2	59	3	5	1
764	3,10	0	1	54	60	5	1
765	4,30	0	1	32	3	5	1
766	2,60	0	1	54	60	3	1
767	8,90	0	1	65	6	5	1
768	4,00	0	2	38	144	5	1