

Valor Diagnóstico do Anticorpo Anti-peptídeo Citrulinado Cíclico na Artrite Reumatóide

Diagnostic Value of Anti-Cyclic Citrullinated Peptide Antibody in Rheumatoid Arthritis

Aldifran Ferreira da Silva⁽¹⁾, Afonso Napoleão Matos⁽²⁾, Áurea Maria Santana Lima⁽³⁾, Elízia Fernandes Lima⁽⁴⁾, Antônio Pinheiro Gaspar⁽⁵⁾, José Antônio Fortes Braga⁽⁶⁾, Edgar M. Carvalho⁽⁷⁾

RESUMO

Introdução: a artrite reumatóide (AR) é considerada uma das doenças auto-imunes mais frequentes, mas um teste viável e específico para seu diagnóstico não está disponível. **Objetivos:** avaliar a eficiência diagnóstica de um novo teste comercial realizado pela técnica de ELISA (*Immunoscan RA; EuroDiagnostica*), que detecta o anticorpo anti-peptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP), para o diagnóstico da AR. **Métodos:** anticorpo anti-CCP e fator reumatóide (FR) foram pesquisados no soro de 486 pacientes: 100 pacientes com AR e 386 controles, incluindo indivíduos normais, pacientes com outras doenças reumáticas e não-reumáticas, bem como pacientes com doenças infecciosas. Avaliação comparativa do desempenho diagnóstico dos testes foi feita mediante cálculo dos diversos índices diagnósticos e da curva ROC (*receiver operator characteristic*). A análise estatística foi feita utilizando os testes do qui-quadrado, exato de Fisher e Mann-Whitney. **Resultados:** ao ponto de corte de 25 UI/ml, o anti-CCP apresentou sensibilidade de 68% (IC 95%, 57,8-76,8%), especificidade de 97,7% (IC 95%, 95,5-98,8%), valor preditivo positivo (VPP) de 88,3% (IC 95%, 78,5-94,2%), valor preditivo negativo (VPN) de 92,2% (IC 95%, 89-94,5%) e razão de verossimilhança (RV) de 29,2% (IC 95%, 15,1-56,4%). Os pacientes com AR anti-CCP positivos apresentavam titulação média igual a 920,7 UI/ml (variação, 70,5- 2000 UI/ml). Pacientes não-reumatóides anti-CCP positivos apresentavam titulação média de 38,7 UI/ml (variação, 29,5-47,4 UI/ml). O desempenho do anti-CCP, avaliado através da curva ROC, foi superior ao do FR. O FR apresentou uma sensibilidade maior (91%) e uma especificidade menor (78,8%) do que o anti-CCP. Quando os dois anticorpos foram usados em conjunto, a especificidade foi de 99,5%. **Conclusão:** o anti-CCP foi o teste de melhor desempenho diagnóstico para a AR e o mais

ABSTRACT

Introduction: Rheumatoid arthritis (RA) is one of the most common autoimmune rheumatic diseases, but a specific and reproducible test for its diagnosis is still lacking. **Objectives:** To evaluate the diagnostic efficiency of a new commercial ELISA kit in detecting anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (anti-CCP) for the diagnosis of RA. **Methods:** Anti-CCP antibodies and rheumatoid factor (RF) were determined in the serum of 486 patients: 100 patients with RA and 386 controls, including healthy subjects, patients with other non-rheumatic and rheumatic disease, as well as patients with infections disease. Comparative evaluation of diagnostic performance of anti-CCP and RF was done by calculation the several diagnostic indexes and construction of the ROC (*receiver operator characteristic*) curve. Statistical analysis included chi-square, Fisher exact, and Mann-Whitney's test. **Results:** At cutoff of 25 UI/ml, anti-CCP showed sensitivity of 68% (95% CI, 57,8-76,8%), specificity of 97,7% (95% CI, 95,5-98,8%), positive predictive value (VPP) of 88,3% (95% CI, 78,5-94,2%), negative predictive value (VPN) of 92,2% (95% CI, 89-94,5%) and likelihood ratios (LR) of 29,2% (95% CI, 15,1-56,4%). Anti-CCP-positive RA patients had a mean antibody concentration of 920,7 UI/ml (range, 70,5-2000 UI/ml). Anti-CCP-positive non-RA patients had a mean antibody concentration of 38,7 UI/ml (range, 29,5-47,4 UI/ml). The diagnostic performance of anti-CCP, as estimated by the ROC curve, was superior to that of RF. RF had a higher sensitivity (91%) and a lower specificity (78,8%) than anti-CCP. When the two antibodies were used together, specificity was 99,5%. **Conclusion:** The anti-CCP testing presented the best diagnostic performance for RA and was the most specific test.

Trabalho realizado no Ambulatório de Artrite Reumatóide do Serviço de Reumatologia do Hospital Universitário Unidade Presidente Dutra da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Recebido em 01/12/05. Aprovado, após revisão, em 16/03/06.

1. Professor Assistente da UFMA, Mestre em Medicina Interna pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Doutorando em Medicina e Saúde pela Universidade Federal da Bahia (UFBA), Médico Assistente e Chefe do Ambulatório de Artrite Reumatóide da UFMA.
2. Professor Adjunto e Chefe da Disciplina de Reumatologia da UFMA, Mestrando em Clínica Médica pela UFMA.
3. Médica Assistente do Serviço de Reumatologia do Hospital Universitário Unidade Presidente Dutra da UFMA.
4. Professora Adjunta do Serviço de Reumatologia do Hospital Universitário Unidade Presidente Dutra da UFMA.
5. Professor Adjunto da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da UFMA, Diretor do Laboratório Gaspar de São Luís.
6. Diretor do Laboratório Gaspar de São Luís.
7. Professor Titular da Disciplina de Clínica Médica da UFBA, Chefe do Serviço de Imunologia da UFBA.

Endereço para Correspondência: Aldifran Ferreira da Silva, Rua de São Pantaleão, 300, Centro, CEP 65015-460, São Luís (MA), Brasil, tel. (98) 3222-6421 / (98) 8112-0348, e-mail: aldifran@ig.com.br

específico. Pode ser útil quando realizado concomitantemente com o FR nas situações de difícil diagnóstico.

Palavras-chave: artrite reumatóide, diagnóstico, auto-anticorpos, antipeptídeos citrulinados cíclicos.

INTRODUÇÃO

A artrite reumatóide (AR) é uma doença sistêmica de origem desconhecida, caracterizada por inflamação articular simétrica, crônica e erosiva. É considerada uma das doenças auto-imunes mais frequentes, com distribuição universal e atinge de 1 a 3% da população mundial⁽¹⁾.

Apesar de décadas de estudo e desenvolvimento de vários critérios de classificação, o diagnóstico da AR permanece empírico e impreciso, dependendo primariamente das manifestações clínicas da doença. Especialmente durante a fase precoce da doença, os critérios estabelecidos pelo *American College of Rheumatology* (ACR) são pouco sensíveis⁽²⁾.

O diagnóstico laboratorial da AR tem se fundamentado, até o momento, na detecção do fator reumatóide (FR), que constitui, na grande maioria, anticorpos IgM direcionados contra a região Fc das imunoglobulinas da classe IgG⁽³⁾. A presença do FR-IgM é o único indicador sorológico incluído entre os critérios de classificação atuais da AR, mas, além de ser pouco específico, é negativo em 20%-30% dos casos^(3,4).

Nos últimos anos, tem sido divulgado o valor clínico dos anticorpos contra peptídeos citrulinados cíclicos (CCP) no diagnóstico da AR. Embora descrito há mais de 40 anos, os testes que detectam os auto-anticorpos contra o sistema filagrina-citrulina vêm sofrendo modificações. Os testes imunoenzimáticos recentemente desenvolvidos para dosagem de anticorpos anti-CCP têm demonstrado alta especificidade para a AR, com utilidade diagnóstica e prognóstica, uma vez que possa ser detectado em fases precoces da doença, e é também considerado por muitos um marcador de prognóstico para maior gravidade da AR^(5,6).

Embora considerado um teste com alta especificidade para o diagnóstico da AR em países desenvolvidos, esse teste não tem sido estudado em locais nos quais as doenças infecciosas têm elevada prevalência. É sabido que auto-anticorpos como o FR, fator antinuclear e antifosfolípidos têm resultados positivos em pacientes com doenças infecciosas como esquistossomose, malária e leishmaniose visceral.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficiência diagnóstica do teste de ELISA (*Immunoscan RA; Euro-Diagnostica*) para detecção do anticorpo anticitrulina na

It may be useful if performance concomitantly with RF in the diagnostic difficulty.

Keywords: *rheumatoid arthritis, diagnostic, autoantibodies, anti-cyclic citrullinated peptide.*

AR, em uma população de um país em desenvolvimento, utilizando como controles não só soro de indivíduos sadios e com diversas doenças reumáticas sistêmicas e não-reumáticas, mas, também, soro de pacientes portadores de diversas infecções tropicais.

PACIENTES E MÉTODOS

Foram estudados 486 pacientes, divididos em quatro grupos, que consultaram no ambulatório ou foram internados no Hospital Unidade Presidente Dutra da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), no período de novembro de 2002 a junho de 2004. O grupo I foi formado por 100 pacientes consecutivos, com diagnóstico de AR definido segundo os critérios de classificação do (ACR) de 1987⁽²⁾. O grupo II foi constituído por 63 indivíduos aparentemente sadios. O grupo III foi constituído por 120 pacientes com outras doenças reumáticas, assim distribuídas: 25 pacientes com diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico (LES), 20 pacientes com osteoartrite (OA) de mãos ou joelhos; 11 pacientes com artrite gotosa; 10 pacientes com artrite idiopática juvenil (AIJ); 9 pacientes com artrite psoriática; 10 pacientes com esclerodermia, 11 pacientes com espondilite anquilosante (EA); 10 pacientes com síndrome de Sjögren primária; 9 pacientes com dermatopolimiosite e 5 pacientes com artrite reativa. O grupo IV foi constituído por 203 pacientes, com outras doenças não-reumáticas e infecciosas, assim distribuídos: 11 pacientes com tireoidite auto-imune, 8 pacientes com mieloma múltiplo, 10 pacientes com neoplasia maligna da próstata, 10 pacientes com macroglobulinemia, 8 pacientes com sífilis, 12 pacientes com HIV, 12 pacientes com hepatite B, 11 pacientes com hepatite C, 9 pacientes com doença de Chagas, 10 pacientes com rubéola, 28 pacientes com HTLV1, 10 pacientes com hanseníase, 10 pacientes com tuberculose, 19 pacientes com leishmaniose visceral, 21 pacientes com esquistossomose e 14 pacientes com malária.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para Pesquisa em Seres Humanos do Hospital Presidente Dutra da UFMA. Após obtido o consentimento, mediante documento assinado para inclusão no estudo, todos os participantes foram submetidos a uma entrevista clínica, com ficha

padronizada e coleta de 10 ml de sangue de veia periférica. Os soros de pacientes e controles foram testados quanto à presença do FR e anti-CCP. Na realização desses testes, as amostras de soro dos quatro grupos foram numeradas de forma aleatória para impossibilitar o conhecimento do diagnóstico no momento da leitura dos resultados.

O teste de FR foi realizado através de um teste quantitativo (kit Spinreact), segundo o método imunoturbidimétrico. O FR foi considerado positivo quando a concentração foi maior do que o valor do ponto de corte de referência do kit (20 UI/ml). A velocidade de hemossedimentação (VHS) e a proteína C-reativa (PCR) foram avaliadas pelos métodos de Westergren e imunoturbidimétrico, respectivamente.

A pesquisa do anti-CCP foi realizada pela técnica de ELISA, segundo metodologia proposta por Schellekens *et al*⁵. Para a interpretação dos resultados, as amostras foram classificadas como negativas (≤ 25 UI/ml) ou positivas (> 25 UI/ml). Resultados > 25 e < 50 UI/ml foram considerados limítrofes.

Os dados foram armazenados e analisados através do software SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*), versão 9.0. Empregamos os procedimentos *Frequency*, *Explore* e *Crosstabs* do SPSS para obtenção das medidas descritas. Para as variáveis contínuas, utilizamos medidas de tendência central (média) e de dispersão (desvio padrão), e para as variáveis categóricas a distribuição percentual.

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para verificar a normalidade das variáveis contínuas, e para a comparação das duas médias utilizamos o teste t de *Student* ou o teste de Mann-Whitney (variáveis sem distribuição normal). A eficiência diagnóstica dos testes em estudo foi estabelecida pela comparação dos resultados na presença de doença numa tabela 2 x 2. O equilíbrio entre os perfis da sensibilidade e especificidade dos testes foi analisado utilizando-se duas formas alternativas de avaliação do desempenho de testes diagnósticos: a curva ROC (*receiver operator characteristic*) e a razão de verossimilhança (RV). Valores de p menores do que 5% ($p < 0,05$) foram considerados significantes.

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICO-LABORATORIAIS DOS PARTICIPANTES DO ESTUDO

As características demográficas e aspectos clínico-laboratoriais dos pacientes com AR e controle encontram-se sumarizados na Tabela 1.

TABELA 1
CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICO-LABORATORIAIS DOS PACIENTES COM AR E CONTROLES

Variável	AR (n=100)	Controles (n=386)
Idade (anos), média \pm DP	50 \pm 12,3	40 \pm 11,9
Sexo: masculino (%) / feminino (%)	12 / 88	154 / 232
Tempo de doença (anos), média \pm DP	8 \pm 6,8	-
Fase da doença: precoce (%) / tardia (%)	19 / 81	-
Doença em atividade: sim (%) / não (%)	67 / 33	-
Idade de início da doença (anos), média \pm DP	42,1 \pm 12,7	-
Positividade do FR: (n[%])	91 (91)	82 (21,2)
Titulação do FR (UI/ml), média \pm DP	124 \pm 139	23 \pm 23,4
Positividade do anti-CCP (n[%])	68 (68)	9 (2,3)
Titulação do anti-CCP (UI/ml), média \pm DP	632 \pm 786,7	13 \pm 4,6
VHS aumentada (> 30 mm/h), (%)	69	13,5
VHS (mm/h) 1ª hora, média \pm DP	54 \pm 33	28 \pm 18,9
PCR positiva (> 5 mg/dL), (%)	60	12,4
PCR (mg/dL), média \pm DP	17 \pm 21,1	8 \pm 18,1

n: número de pacientes; AR: artrite reumatóide; DP: desvio padrão; FR: fator reumatóide, Anti-CCP: anticorpo contra peptídeos citrulinados cíclicos; VHS: velocidade de hemossedimentação; PCR: proteína C reativa.

AVALIAÇÃO DA UTILIDADE DIAGNÓSTICA DO FR E ANTI-CCP

POSITIVIDADE DO FR E ANTI-CCP NA

POPULAÇÃO CONTROLE

A frequência com que os dois auto-anticorpos estudados foram detectados nos pacientes dos grupos controle é apresentada na Tabela 2.

No grupo II, 4,8% (3/63) dos indivíduos normais apresentavam FR positivo com titulação média igual a 15 \pm 6,4 UI/ml e 1,6% (1/63) apresentavam anti-CCP positivo com titulação média igual a 14 \pm 4 UI/ml. No grupo III, 13,3% (16/120) dos pacientes com outras doenças reumáticas apresentavam FR positivo com titulação média igual a 20 \pm 24,4 UI/ml e 1,7% (2/120) apresentavam o anti-CCP positivo com titulação média igual a 24 \pm 4,3 UI/ml. No grupo IV, 31,0% (63/203) dos pacientes com

outras doenças não-reumáticas e infecciosas apresentavam FR positivo com titulação média igual a $13 \pm 9,8$ UI/ml e 2,9% (6/203) apresentavam anti-CCP positivo com titulação média igual a $13 \pm 5,3$ UI/ml. Os nove pacientes dos grupos controle, soropositivos para o anti-CCP, apresentavam baixos títulos (limítrofes) com média igual a $39 \pm 6,5$ UI/ml e amplitude de variação de 29,5 UI/ml a 47,4 UI/ml. Todos esses pacientes foram reexaminados, e, repetido os testes laboratoriais, não se constatou evidência clínica de AR.

TABELA 2

POSITIVIDADE DO FR E ANTI-CCP NOS INDIVÍDUOS SADIOS E NAS DIVERSAS ENFERMIDADES COMPONENTES DOS GRUPOS: OUTRAS DOENÇAS REUMÁTICAS E OUTRAS DOENÇAS NÃO-REUMÁTICAS E INFECCIOSAS - N= 486

Grupo de pacientes (n)	n (%) de FR + no soro	n (%) de anti-CCP + no soro
Indivíduos sadios (63)	3 (4,8)	1 (1,6)
ODR (120)	16 (13,3)	2 (1,7)
LES (25)	5 (20)	-
OA (20)	1 (5)	-
Artrite gotosa (11)	-	-
AIJ (10)	-	-
Artrite psoriásica (09)	1 (11,1)	1 (11,1)
Esclerodermia (10)	2 (20)	1 (10)
Síndrome de Sjögren primária (10)	6 (60)	-
Dermatopolimiosite (9)	1 (11,1)	-
Espondilite anquilosante (11)	-	-
Síndrome de Reiter (05)	-	-
ODNR (203)	63 (31,0)	6 (2,9)
Tireoidite auto-imune (11)	-	-
Mieloma múltiplo (8)	1 (12,5)	-
Neoplasia maligna da próstata (10)	2 (20)	1 (10)
Crioglobulinemia (10)	6 (60)	-
Sífilis (08)	1 (12,5)	-
HIV (12)	3 (25)	1 (8,3)
Hepatite B (12)	1 (8,3)	-
Hepatite C (11)	8 (72,7)	1 (9,1)
Doenças de Chagas (09)	3 (33,3)	1 (11,1)
Rubéola (10)	1 (10)	-
HTLV1 (28)	10 (35,7)	2 (7,1)
Hanseníase (10)	2 (20)	-
Tuberculose (10)	2 (20)	-
Leishmaniose visceral (19)	11 (57,9)	-
Esquistossomose (21)	9 (42,9)	-
Malária (14)	3 (21,4)	-

n: número de pacientes; FR: fator reumatóide; Anti-CCP: anticorpo contra peptídeos citrulinados cíclicos; ODR: outras doenças reumáticas; ODNR: outras doenças não-reumáticas; OA: osteoartrite; LES: lúpus eritematoso sistêmico; AIJ: artrite idiopática juvenil.

SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE, VALOR PREDITIVO POSITIVO, VALOR PREDITIVO NEGATIVO, ACURÁCIA E RV DO FR E ANTI-CCP NO DIAGNÓSTICO DA AR

A avaliação comparativa das propriedades diagnósticas de

cada um dos testes utilizado de forma isolada e combinada foi feita utilizando-se as populações de pacientes com AR e de controles doentes e normais. O resultado dessa análise encontra-se disposto na Tabela 3. Quando utilizamos apenas um dos testes no diagnóstico da AR, o FR se mostrou o teste mais sensível (presente em 91% dos casos), e o anti-CCP, o mais específico (ausente em 97,7% dos controles).

A combinação dos testes em paralelo (FR ou anti-CCP) foi acompanhada de aumento da sensibilidade (presente em 97,1% dos casos) em relação aos outros testes utilizados, enquanto a melhor especificidade foi conseguida com a utilização do teste em série (FR e anti-CCP), que esteve ausente em 99,5% dos controles.

TABELA 3

SENSIBILIDADE (S), ESPECIFICIDADE (E), VALOR PREDITIVO POSITIVO (VPP), VALOR PREDITIVO NEGATIVO (VPN) E RAZÃO DE VEROSSIMILHANÇA (RV) DO FATOR REUMATÓIDE (FR) E ANTI-CCP DE FORMAS ISOLADA E COMBINADA EM SÉRIE (FR E ANTI-CCP) E EM PARALELO (FR OU ANTI-CCP) NO DIAGNÓSTICO DA ARTRITE REUMATÓIDE

PROPRIEDADES DIAGNÓSTICAS	TESTES			
	FR	Anti-CCP	FR e Anti-CCP	FR ou Anti-CCP
S (%)	91	68	61,9	97,1
IC [95%]	[83,2-95,5]	[57,8-76,8]	[17,7-93,7]	[42,8-99,1]
E (%)	78,7	97,7	99,5	76,9
IC [95%]	[74,3-82,7]	[95,5-98,8]	[98,2-99,9]	[72,8-80,5]
VPP (%)	52,6	88,3	55,7	4,1
IC [95%]	[44,9-60,2]	[78,5-94,2]	[15,7-90,1]	[1,4-9,9]
VPN (%)	97,1	92,2	99,6	99,9
IC [95%]	[94,4-98,6]	[89-94,5]	[98,4-99,9]	[98,6-99,9]
RV (%)	4,3	29,2	12,4	4,2
IC [95%]	[3,5-5,2]	[15,1-56,4]	[8,7-15,6]	[3,7-5,8]

IC [95%]: intervalo de confiança a 95%.

AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO FR E ANTI-CCP NO DIAGNÓSTICO DA AR UTILIZANDO-SE A CURVA ROC

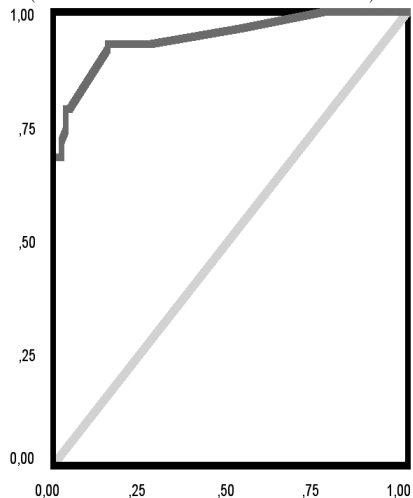
O desempenho global do anti-CCP no diagnóstico da AR foi significativamente superior ao do FR ($p=0,02$), na avaliação realizada utilizando a curva ROC, tal como apresentado nos Gráficos 1 e 2.

DISCUSSÃO

O presente estudo confirma o valor diagnóstico do anticorpo anti-CCP na AR em um país onde as doenças infecciosas são altamente prevalentes e cujos pacientes têm alta positividade para o FR.

Nesse estudo, foi avaliada a acurácia diagnóstica do teste ELISA CCP em uma população de pacientes com diagnóstico de AR e controle incluindo indivíduos saudáveis e pacientes com outras doenças reumáticas,

GRÁFICO 1
CURVA ROC (RECEIVER OPERATOR CHARACTERISTIC) PARA O ANTI-CCP

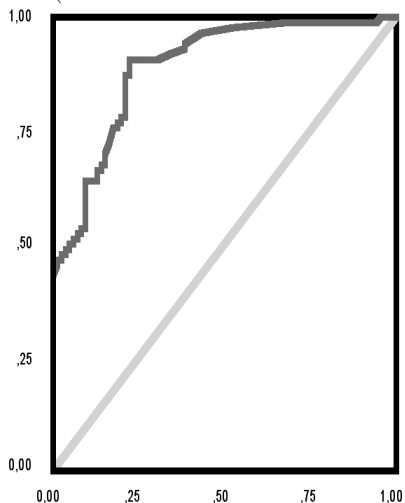


1 - Especificidade (%)

Onde: área sob a curva = 0,943;

[IC - 95%] = 0,933 - 0,972; SE = 0,017

GRÁFICO 2
CURVA ROC (RECEIVER OPERATOR CHARACTERISTIC) PARA O FR



1 - Especificidade (%)

Onde: área sob a curva = 0,893;

[IC - 95%] = 0,859 - 0,926; SE = 0,015

não-reumáticas e infecciosas. Encontramos uma alta especificidade diagnóstica e uma moderada sensibilidade. Esses valores são concordantes com os encontrados nos estudos de Schellekens *et al*⁽⁵⁾ e Bizzaro *et al*⁽⁷⁾ para a especificidade e nos estudos de Schellekens *et al*⁽⁵⁾ e Kroot *et al*⁽⁸⁾ para sensibilidade, que utilizaram anti-CCP (ELISA) de primeira geração. Na literatura, a sensibilidade e especificidade do

anti-CCP varia de 41% a 94% e de 50% a 99%, respectivamente, conforme demonstra o Quadro 1. As propriedades diagnósticas do anti-CCP na AR variam de acordo com as características da população estudada (diferenças étnico-geográficas, origem da amostra: AR recente/tardia ou AR FR+/FR-)^(9,10); gerações diferentes de kits ELISA utilizados (1ª ou 2ª geração); ponto de corte utilizado para a avaliação da eficácia diagnóstica (recomendação do fabricante do kit, ponto de corte ótimo ou ponto de corte em um nível de especificidade de 85%, a priori)⁽¹¹⁻¹³⁾.

QUADRO 1
ESTUDO DA SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DOS ANTICORPOS ANTI-CCP EM PACIENTES COM AR

Primeiro autor (referência)	Ano	Pacientes (n)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
Goldbach-Mansky ⁽¹⁴⁾	2000*	238	41	91
Schellekens ⁽⁵⁾	2000*	288	68	98
Kroot ⁽⁸⁾	2000*	273	66	ND
Bizzaro ⁽⁷⁾	2001*	98	41	98
Bas ⁽¹⁵⁾	2002	179	68	96
Lee ⁽¹⁶⁾	2003	249	65	90
Pinheiro ⁽¹⁷⁾	2003	150	80	98
Zeng ⁽¹⁸⁾	2003	191	47	97
Suzuki ⁽¹¹⁾	2003	549	88	89
Jansen ⁽¹⁹⁾	2003	282	43	50
Correa ⁽⁹⁾	2004	79	94	92
Girelli ⁽²⁰⁾	2004	35	71	95
Garcia-Berrocal ⁽¹²⁾	2005	133	79	82
Tampoia ⁽¹³⁾	2005	223	68	99
Dubrous ⁽²¹⁾	2005	100	71	98
Presente estudo	2005*	486	68	98

n: número de pacientes; ND: sem dado; AR: artrite reumatóide;

anti-CCP: anticorpo contra peptídeos citrulinados cíclicos.

*estudo que empregou anti-CCP de 1ª geração.

Em nossa casuística, observamos para o anti-CCP1 (primeira geração) uma especificidade mais elevada e uma sensibilidade mais baixa quando comparado com o FR-IgM. Outros estudos que avaliaram a capacidade diagnóstica do anti-CCP e FR também encontraram resultados semelhantes^(4, 5, 8, 14, 16, 19, 22). Assim como os resultados de Lee e Schuz⁽¹⁶⁾ e Valbracht *et al*⁽⁴⁾, nós encontramos uma baixa sensibilidade quando comparada à do FR-IgM. Uma sensibilidade maior tem sido descrita por outros investigadores^(16, 23). A baixa especificidade e a alta sensibilidade de outros estudos usando o CCP2 (segunda geração) pode refletir os diferentes níveis de ponto de corte^(11, 16). A sensibilidade do CCP tem sido aumentada nos últimos anos pelos kits anti-CCP de segunda geração, agora comparáveis em sensibilidade ao FR-IgM⁽⁴⁾.

Um ponto adicional de interesse em nosso estudo foi a observação de que os pacientes com AR e

anti-CCP positivos apresentaram títulos bastante elevados, enquanto os pacientes sem AR com reatividade para o anti-CCP apresentavam títulos baixos com um valor médio de 39 UI/ml e variação de 29,5 a 47,4 UI/ml. Em concordância com os achados de Bizzaro *et al*⁷⁾, demonstramos que altas concentrações do anti-CCP são quase que exclusivamente associadas à AR. Ao contrário do FR, a dosagem do anti-CCP possui uma elevada especificidade, superior a 90%, especialmente quando presente um título elevado⁷⁾.

O anti-CCP está raramente presente em outras doenças reumatológicas^(16, 20, 24-28). Em nossa casuística, observamos que 2,3% (9/386) dos pacientes-controle apresentavam reatividade para o anti-CCP, sendo 0,2% (1/386) nos controles saudáveis e 2,1% (8/386) nos controles doentes. Entre estes, a maior prevalência ocorreu no grupo de pacientes com doenças infecciosas com 62,5% (5/8) de positividade. Conforme dados da literatura, até 1% dos controles saudáveis e de 2% a 5% dos controles doentes têm reatividade ao anti-CCP^(17, 23, 29). Isso sugere que a resposta ao CCP pode estar envolvida na patogênese dessas doenças⁽¹⁶⁾, e, sendo a reatividade do anti-CCP de valor prognóstico, conforme as observações de Visser *et al*⁽³⁰⁾, será de interesse analisar essa propriedade diagnóstica em outras doenças reumáticas. A observação de resultados falso-positivos limítrofes em pacientes com doenças infecciosas, como a Hepatite C e o HTLV1, em nosso estudo, comprova a importância clínica do teste anti-CCP no diagnóstico diferencial entre AR e artrites precoces decorrentes da Hepatite C e HTLV1 em regiões endêmicas, principalmente porque essas infecções apresentaram, ainda, alta prevalência de positividade para o FR^(20, 31). Nessas situações, títulos elevados do anti-CCP confirmam o diagnóstico de AR.

Vários estudos têm demonstrado que o anti-CCP apresenta melhor desempenho diagnóstico do que o FR com base em análises da curva ROC^(5, 11, 32, 33). Com a utilização da curva ROC, observamos que o desempenho diagnóstico do anti-CCP, considerando os diversos pontos de corte foi maior que o do FR, ou seja, a acurácia global do anti-CCP foi melhor. Calculando-se a RV para os dois testes, obtivemos RV de 4,3 para o FR e de 29,2 para o anti-CCP. Isso significa dizer que os pacientes com AR têm cerca de quatro vezes mais possibilidades de ter o FR positivo do que os controles e cerca de 29 vezes mais possibilidades de ter anti-CCP positivo quando comparados com os controles. Ou seja, um teste positivo para o anti-CCP tem maior eficiência diagnóstica que o FR.

A utilização combinada do anti-CCP e FR mostra um melhor desempenho diagnóstico do que os testes

isolados^(5, 33-36). Em nossa casuística, o uso combinado em paralelo desses dois auto-anticorpos aumentou consideravelmente a sensibilidade (97,1%) do diagnóstico da AR, em comparação aos testes individuais e combinados em série, contudo houve uma diminuição na especificidade (76,9%). De forma inversa, a utilização em série (FR e anti-CCP) apresentou a maior especificidade (99,5%) e a menor sensibilidade (61,9%) entre todos os testes estudados.

A probabilidade pré-teste (prevalência) da AR na amostra estudada foi de 20,6% (100/486). Testes positivos para FR e anti-CCP aumentam a probabilidade de doença (valor preditivo positivo - VPP) para 52,6% e 88,3%, respectivamente. O VPP mais elevado do anti-CCP ELISA é explicado pelo fato de que a especificidade é mais importante do que a sensibilidade em determinar o valor preditivo de um resultado de teste positivo. É evidente que, por ser menos sensível, um resultado negativo do anti-CCP auxilia menos na investigação diagnóstica do que o FR (maior VPN - valor preditivo negativo). Outros estudos também encontraram um VPP do anti-CCP mais elevado do que o FR^(5, 21), enquanto Schellenks *et al*⁽⁵⁾ e Dubrous *et al*⁽²¹⁾ encontraram, para os dois testes, um VPN com valores similares e próximos, respectivamente. A combinação dos dois testes em série (FR e anti-CCP) e em paralelo (FR ou anti-CCP) determinou uma elevação importante do VPN (99,6% e 100%, respectivamente), quando comparado com o uso isolado do FR-IgM ou do anti-CCP.

Um estudo recente, em uma população reumatóide sul-americana, encontrou elevada sensibilidade e especificidade do anti-CCP2. A razão de probabilidade positiva indicou que resultados superiores a 30 UI desse anticorpo aumenta a probabilidade da AR em 12 vezes, enquanto a probabilidade de não ter a doença em um indivíduo com resultado negativo é de 96,3% (VPN)⁽⁹⁾.

Em conclusão, nós acreditamos que o anti-CCP é um novo teste diagnóstico com uma excelente especificidade para a AR, principalmente quando presente em altas concentrações. Esse anticorpo pode, ainda, proporcionar relevantes benefícios no diagnóstico da AR em casos de dúvida, particularmente, na fase inicial da doença, no diagnóstico precoce, mas quando negativo não exclui o diagnóstico.

A combinação desse teste com o FR pode ser bastante útil no diagnóstico diferencial da AR com outras doenças reumáticas e não-reumáticas, incluindo doenças infecciosas como a hepatite C e HTLV1, uma vez que aumenta o desempenho diagnóstico da AR, chegando sua especificidade próximo a 100% e sensibilidade a 97%

REFERÊNCIAS

1. Gabriel SE: The epidemiology of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Ann* 27: 269-81, 2001.
2. Arnett FC, Edworthy SM, Block DA: The American Rheumatism Association 1987. Revised criteria for the classification of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 31: 315-24, 1988.
3. Egeland T, Murthe E: The role of the laboratory in rheumatology. Rheumatoid factors. *Clin Rheum Dis* 9: 135-60, 1983.
4. Vallbracht I, Rieber J, Oppermann M, Förger 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* 63: 1079-84, 2004.
5. Schellekens GA, Visser H, de Jong BAW et al: The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 43:155-163, 2000.
6. Andrade LEC, Leser PG. Auto-anticorpos contra o sistema flagrina-citrulina no diagnóstico de artrite reumatóide. *Revista Paulista de Reumatologia* 3: 5-6, 2004.
7. Bizzaro N, Mazzanti G, Tonutti E, Villalta D, Tozzoli R: Diagnostic Accuracy of the Anti-Citrulline Antibody Assay for Rheumatoid Arthritis. *Clin Chem* 47: 1089-93, 2001.
8. Kroot E, de Jong BAW, Van Leeuwen MA et al: The prognostic value of the anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 43: 1831-5, 2000.
9. Correa PA, Tobon GJ, Citera G et al: Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in rheumatoid arthritis: relation with clinical features, cytokines and HLA-DRB1. *Biomed* 24: 140-52, 2004.
10. Erre GL, Tocco A, Fenu P et al: Utilità del dosaggio degli Anticorpi anticheratina e anti-peptide citrullinato ciclico nel follow-up dei pazienti con artrite reumatoide. *Reumatismo* 55 (suppl): 23, 2003.
11. Suzuki K, Sawada T, Murakami A et al: High diagnostic performance of ELISA detection of antibodies to citrullinated antigens in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 32: 197-204, 2003.
12. García-Berrocal B, González C, Pérez M et al: Anti-cyclic citrullinated peptide autoantibodies in IgM rheumatoid factor-positive patients. *Clin Chim Acta* 354: 123-30, 2005.
13. 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* 355: 137-44, 2005.
14. Goldbach-Mansky R, Lee J, McCoy A et al: Rheumatoid arthritis associated autoantibodies in patients with synovitis of recent onset. *Arthritis Res* 2: 236-43, 2000.
15. 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. *Rheumatol* 41: 809-14, 2002.
16. Lee DM, Schur PH: Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 62: 870-4, 2003.
17. Pinheiro GC, Scheinberg MA, Aparecida da Silva M, Maciel S: Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in advanced rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med* 139: 234-5, 2003.
18. Zeng X, Ai M, Tian X et al: Diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 30: 1451-5, 2003.
19. 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* 30: 1691-5, 2003.
20. 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* 36: 127-30, 2004.
21. Dubrous P, Gardet V, Hugard L: Value of anti-cyclic citrullinated peptides antibodies in comparison with rheumatoid factor for rheumatoid arthritis diagnosis. *Pathol Biol* 53: 63-7, 2005.
22. Nell VPK, Machold KP, Eberl G et al: The diagnostic and prognostic significance of autoantibodies inpatients with very early arthritis. *Arthritis Rheum* 48: 107S, 2003.
23. Vasishta A: Diagnosing early-onset rheumatoid arthritis: the role of anti-CCP antibodies. *Am Clin Lab* 21: 34-6, 2002.
24. 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* 31: 1829-33, 2004.
25. Bogliolo L, Alpini C, Caporali R, Scire CA, Moratti R, Montecucco C: Antibodies to cyclic citrullinated peptides in psoriatic arthritis. *J Rheumatol* 32: 511-5, 2005.
26. Ferucci ED, Majka DS, Parrish LA et al: Antibodies against cyclic citrullinated peptide are associated with HLA-DR4 in simplex and multiplex polyarticular-onset juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 52: 239-46, 2005.
27. Gottenberg JE, Mignot S, Nicaise-Rolland P et al: Prevalence of anti-cyclic citrullinated peptide and anti-keratin antibodies in patients with primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 64: 114-7, 2005.
28. Korendowych E, Owen P, Ravindran J, Carmichael C, McHugh N: The clinical and genetic associations of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in psoriatic arthritis. *Rheumatol* 48: 1056-60, 2005.
29. van Venrooij WJ, Hazes JMW, Visser H: Anti-citrullinated protein/peptide antibody and its role in the diagnosis and prognosis of early rheumatoid arthritis. *Neth J Med* 60: 383-8, 2002.
30. 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* 46: 357-65, 2002.
31. Bombardieri M, Alessandri C, Labbadia G 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* 6: R137-41, 2004.
32. Araki C, Hayashi N, Moriyama M et al: Usefulness of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (anti-CCP) for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Rinsho Byori* 52: 966-72, 2004.
33. Hayashi N, Kumagai S: New diagnostic tests for rheumatoid arthritis *Rinsho Byori* 51: 1030-5, 2003.
34. 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* 29: 2074-6, 2002.
35. Saraux A, Berthelot JM, Devauchelle V: Value of antibodies to citrulline-containing peptides for diagnosing early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 30: 2535-9, 2003.
36. Raza K, Breese M, Nightingale P et al: Predictive value of antibodies to cyclic citrullinated peptide in patients with very early inflammatory arthritis. *J Rheumatol* 32: 231-8, 2005.