

Akurasi Pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* Menggunakan Primer IS6110 dan MPB64 untuk Mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada Spesimen *Formalin-Fixed Paraffin-Embedded*

Timotius Benedict Djitro¹, Faramitha Nur Izzaty¹, Nur Rahadiani²

1. *Anatomical Pathology Residency Program, Faculty of medicine, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia*

2. *Departement of Anatomical Pathology, Faculty of Medicine, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia*

ABSTRAK

Latar belakang

Tantangan yang dihadapi dalam mengontrol penyakit tuberculosis (TB) adalah ketersediaan alat diagnostik yang cepat dan tepat. Pemeriksaan baku emas untuk diagnosis TB saat ini adalah kultur bakteri tahan asam, tetapi metode ini membutuhkan waktu yang lama dan tidak dapat digunakan pada jaringan yang telah difiksasi dengan formalin. Pemeriksaan PCR memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, membutuhkan waktu yang lebih singkat dibanding kultur, serta dapat digunakan pada jaringan yang telah difiksasi dengan formalin. Laporan ini bertujuan mengetahui akurasi pemeriksaan PCR menggunakan primer IS6110 dan MPB64 untuk mendeteksi *M.tuberculosis* pada spesimen FFPE (*formalin-fixed paraffin-embedded*).

Metode

Dilakukan pencarian literatur pada basis data Pubmed, Scopus, Proquest, Springer Link dan Cochrane. Terdapat dua jurnal yang relevan dengan kasus, lalu dilakukan telaah kritis menggunakan *Diagnostic Study Appraisal Worksheet* dari *Centre for Evidence-based Medicine, University of Oxford, 2010*.

Hasil

Dari kedua jurnal, akurasi PCR dengan primer IS6110 dan MPB64 saat ini masih kurang baik, Sensitivitas berkisar antara 45,5-88,9%, spesifisitas antara 88,1-100%. Rentang nilai sensitivitas yang luas ini kemungkinan disebabkan oleh volume dan proses *embedding* jaringan yang dapat menyebabkan kerusakan integritas DNA *M.tuberculosis*.

Kesimpulan

Pemeriksaan PCR dengan primer IS6110 dan MPB64 dapat digunakan sebagai konfirmasi pada spesimen FFPE karena nilai spesifisitas yang tinggi dari pemeriksaan ini. Nilai sensitivitas yang bervariasi berisiko menghasilkan negatif palsu apabila tidak ada pemeriksaan lain yang digunakan bersama dengan PCR pada spesimen FFPE.

Kata kunci : FFPE, IS6110, MPB64, mycobacterium tuberculosis, paraffin, polymerase chain reaction.

ABSTRACT

Background

One of the challenges faced in controlling tuberculosis (TB) is the availability of a fast and precise diagnostic tool. The current gold standard for diagnosis of TB is acid-fast bacterial culture. However, FFPE (*formalin-fixed paraffin-embedded*) tissues are not amenable for culture and the time required makes this method impractical for many centers. PCR is an alternative rapid diagnostic tool, and can be used with FFPE tissues. PCR has shown high sensitivity and specificity for detecting *M.tuberculosis*, however there has been reports of less sensitivity and specificity when using FFPE specimens. This report aims to determine the accuracy of PCR detection of *M.tuberculosis* using primer IS6110 and MPB64 on FFPE specimens.

Methods

Literature searches were carried out on the Pubmed, Scopus, Proquest, Springer Link and Cochrane databases. Two journals were relevant to the clinical scenario, then a critical review is carried out using the *Diagnostic Study Appraisal Worksheet* from the Center for Evidence-based Medicine, University of Oxford, 2010.

Results

Currently, the accuracy of PCR primer IS6110 and MPB is not satisfactory. Sensitivity ranges from 45.5-88.9% and specificity is between 88.1% - 100. This broad sensitivity range is probably caused by tissue volume and embedding process that can cause damages to the integrity of *M.tuberculosis* DNA.

Conclusion

PCR examinations using IS6110 and MPB64 primers can be used as confirmation tests in FFPE specimens due to its high specificity value. Broad sensitivity values can produce significant false negatives if no other examination is used in conjunction with PCR in FFPE specimens.

Key words : FFPE, IS6110, MPB64, mycobacterium tuberculosis, paraffin, polymerase chain reaction

SKENARIO KLINIS

Laki-laki, 28 tahun, dibawa ke IGD RS oleh keluarga dengan keluhan nyeri perut hebat disertai demam tinggi sejak dua hari SMRS. Saat pemeriksaan fisik ditemukan abdomen datar, keras, disertai nyeri tekan, dan suhu badan 39°C. Dokter bedah melakukan operasi laparotomi emergensi, ditemukan usus halus dengan perlekatan dan perforasi. Dilakukan reseksi kemudian spesimen usus dikirim ke laboratorium Patologi Anatomi. Hasil pemeriksaan histopatologi menyatakan "Ileitis granulomatosa, kemungkinan infeksi M.tb belum dapat disingkirkan". Ahli patologi mempertimbangkan untuk melakukan pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dari spesimen usus dalam blok parafin tersebut.

PENDAHULUAN

Tuberculosis (TB) adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Pada umumnya penyakit ini menyerang paru-paru, akan tetapi pada kasus yang lebih lanjut penyakit ini dapat menyerang organ dan jaringan selain paru-paru. TB adalah masalah kesehatan yang serius. Menurut perkiraan WHO pada tahun 2017, TB menyebabkan kematian pada 1,3 juta orang dengan HIV-negatif, 300.000 orang dengan HIV positif serta kemunculan setidaknya 10 juta kasus baru di seluruh dunia.¹

Salah satu tantangan yang dihadapi dalam mengontrol penyakit TB adalah ketersediaan alat diagnostik dan strategi untuk mendeteksi kasus TB aktif sehingga transmisi dapat dicegah. Pemeriksaan baku emas untuk infeksi TB saat ini adalah kultur bakteri tahan asam, tetapi proses kultur membutuhkan waktu yang lama (8-9 minggu) dan tidak dapat digunakan dengan jaringan yang telah difiksasi menggunakan formalin.² Pada massa atau lesi ekstrapulmoner seringkali dilakukan biopsi tanpa kecurigaan infeksi TB, sehingga tidak didapatkan sample berupa jaringan segar. PCR memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, membutuhkan waktu yang lebih singkat dibanding kultur untuk menegakan diagnosis TB dan dapat digunakan pada spesimen yang telah difiksasi dengan formalin.

Metode yang paling sering digunakan untuk mendiagnosa TB dengan PCR adalah

menargetkan *insertion sequence* 6110 (IS6110). Sekuens ini terdapat dalam jumlah yang relatif banyak dalam genom dari kompleks *M. tuberculosis*, sehingga dapat meningkatkan sensitivitas pemeriksaan.³ Akan tetapi, sekitar 10% dari pasien TB terinfeksi dengan bakteri yang tidak memiliki salinan IS6110. Oleh karena itu untuk meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan Singh, *et al* menyarankan untuk menargetkan dua sekuens yaitu IS6110 dan MPB64.⁴

Melalui laporan kasus berbasis bukti ini, kami ingin mengetahui akurasi primer PCR IS6110 dan MPB64 dalam mendeteksi *M. tuberculosis* pada spesimen *formalin-fixed paraffin embedded* (FFPE) dibandingkan dengan kultur.

PERTANYAAN KLINIS

Problem: Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada spesimen FFPE, Index test: PCR Primer IS6110, PCR Primer MPB64, Comparator: Kultur, Output: Akurasi (Sensitivitas, Spesifisitas, *Positive predictive value*, *Negative predictive value*). Bagaimana akurasi primer PCR IS6110 dan MPB64 dalam mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* dari spesimen FFPE dibandingkan dengan kultur?

METODE PENELITIAN**Disain dan Sampel Penelitian**

Strategi pencarian dilakukan di basis data elektronik: *Pubmed/MEDLINE*[®], *Scopus*[®], *Springer Link*[®], *Proquest*[®], serta *Cochrane Library*[®] pada tanggal 7 April 2019. Kami tidak membatasi tahun publikasi. Strategi pencarian memasukan kata-kata dalam judul, abstrak, *Medical Subject Headings* (MeSH) dengan kata kunci: [tuberculosis] AND [paraffin OR FFPE] AND [IS6110 OR Insertion Sequence 6110] AND [MPB64 OR MTP64]. Penyaringan artikel yang didapat dilakukan berdasarkan kriteria inklusi: studi yang dilakukan pada manusia, menggunakan bahasa Inggris, sesuai dengan pertanyaan klinis, merupakan studi diagnostik, baik berupa studi individual ataupun *systematic review/metaanalysis*, dan bukan merupakan laporan kasus.

Telaah kritis dilakukan dengan menggunakan *Diagnostic Study Appraisal Worksheet* dari *Centre for Evidence-based Medicine, University of Oxford*, 2010⁵ yang telah ter-

standarisasi. Telaah dilakukan oleh dua orang penulis, dan bila didapatkan perbedaan hasil telaah, dilakukan diskusi untuk mencapai kesimpulan. Strategi pencarian disimpulkan dalam Tabel 1.

HASIL

Dari proses pencarian artikel didapatkan 2 buah artikel studi diagnostik yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Tidak didapatkan artikel telaah sistematis ataupun meta analisis. Hasil telaah kritis studi tersebut ditampilkan dalam Tabel 2. Kesesuaian studi yang didapat dengan pertanyaan klinis ditampilkan dalam Tabel 3. An Na *et al*⁶ membandingkan performa dari *nested polymerase chain reaction* (N-PCR) dengan kultur untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada spesimen organ manusia yang berasal dari blok paraffin. Sample sebanyak 110 blok paraffin (32 dengan *Mycobacterium tuberculosis* [MTB], 22 dengan *Mycobacterium non tuberculosis*, dan 56 tanpa *Mycobacterium* [NTM]) yang diperoleh dari pasien Rumah Sakit Nasional Universitas Bundang sejak Juni 2009-Mei 2011. Sample berasal dari berbagai organ (paru, kelenjar getah bening, perikardium, tulang, dan jaringan lunak lainnya). Keberadaan *Mycobacterium tuberculosis* pada seluruh sample dikonfirmasi dengan kultur pada medium ogawa 3% menggunakan jaringan segar yang telah diperoleh sebelumnya. Spesimen yang berasal dari aspirasi sitologi dan biopsi berukuran kecil tidak dimasukkan kedalam sample penelitian karena tidak memiliki cukup DNA untuk melakukan PCR. Proses yang digunakan adalah N-PCR yang mengamplifikasi IS6110 dan MPB64 dengan menggunakan kit (Seeplex MTB Nested ACE detection; Seegene, Seoul, Korea Selatan). Proses ini dilakukan pada 32 sample MTB dan 56 sample NTM. Dari 32 kasus NTM, N-PCR dapat mendeteksi MTB pada 28 sample (sensitivitas 87,5%), dari 56 sample NTM terdapat 1 sample yang menghasilkan positif palsu (spesifisitas 98,2%). Dengan demikian nilai *positive predictive value* (PPV) dan *negative predictive value* (NPV) yang didapat dari studi ini masing-masing adalah 96,5% dan 93,2%.

Jin *et al*⁷ membandingkan hasil N-PCR yang mengamplifikasi IS6110 dan MPB64 dari dua kelompok sample yang berbeda. Kelompok

sample pertama berupa jaringan biopsi endoskopi (55 terdiagnosa *intestinal tuberculosis* [ITB], 42 terdiagnosa *crohn's disease* [CD]) yang dilakukan di Rumah Sakit Universitas Inha sejak tahun 1996-2007, ITB didiagnosis bila memenuhi paling sedikit dua dari kriteria berikut (1) terdapat bakteri tahan asam pada pemeriksaan mikroskopis menggunakan pewarnaan Ziehl-Neelsen; (2) kultur positif untuk *M. tuberculosis*; (3) bukti radiologis, kolonoskopi dan/atau operatif adanya ITB dengan keberadaan tuberkulosis pada tempat lain; (4) responsif terhadap pengobatan TB tanpa adanya rekurensi yang dibuktikan secara radiologis, kolonoskopi dan/atau pembedahan. Kelompok kedua terdiri dari 9 jaringan yang positif pada kultur *M. tuberculosis* (3 kolon, 3 tulang, 2 vertebrae, 1 persendian) serta 10 jaringan mukosa kolon normal. Jaringan pada kelompok kedua seluruhnya didapat dari biopsi terbuka atau reseksi. Seluruh sample pada penelitian ini merupakan blok paraffin. Dari kelompok sample pertama, N-PCR mendeteksi MTB pada 25 dari 55 sample yang terdiagnosa ITB (sensitivitas 45,5%). N-PCR menghasilkan *false positive* pada 5 dari 42 sample yang terdiagnosa CD (spesifisitas 88,1%). Dengan demikian N-PCR memiliki nilai PPV 83,3% dan NPV 44,8% untuk sample kelompok pertama yang berasal dari jaringan endoskopi. Pada kelompok kedua, 8 dari 9 jaringan yang positif pada kultur terdeteksi mengandung *M. tuberculosis* oleh N-PCR (sensitivitas 88,9%), tidak ditemukan *false positive* pada kelompok sample ini (spesifisitas 100%). Pemeriksaan N-PCR terhadap sample kelompok kedua menghasilkan PPV 100% dan NPV 90,9%.

DISKUSI

Berdasarkan penilaian menggunakan kriteria *Diagnostic Study Appraisal Worksheet* dari *Centre for Evidence-based Medicine, University of Oxford, 2010*,⁵ kedua penelitian di atas kami nilai kurang valid karena tidak memenuhi semua kriteria validitas (Tabel 3). Pemilihan sample pada kedua penelitian menggunakan metode konsektif. Pada penelitian An Na, *et al* spektrum pasien sudah cukup terwakili oleh blok paraffin yang berasal dari berbagai macam jaringan, tetapi pada penelitian Jin, *et al* sample kelompok pertama hanya berasal dari jaringan

yang didapat saat kolonoskopi dan sample kelompok kedua yang didapat dari berbagai organ jumlahnya hanya sedikit. Kedua penelitian juga tidak menyebutkan apakah sample jaringan didapat dari pasien yang memiliki komorbiditas lain selain tuberculosis. Komorbiditas seperti HIV/AIDS dapat meningkatkan kuantitas DNA *M. tuberculosis* sehingga lebih mudah mendapatkan hasil PCR yang positif pada pasien demikian.⁸

Diagnosis baku emas yang digunakan pada kedua penelitian ini adalah kultur. Akan tetapi, pada penelitian Jin, *et al* tidak diketahui berapa banyak spesimen dari kelompok sample pertama yang terdiagnosa tuberculosis berdasarkan kultur. Tidak disebutkan juga pada kedua penelitian apakah peneliti yang melakukan proses PCR mengetahui hasil kultur dari masing-masing jaringan.

Kami menilai penelitian yang dilakukan oleh An Na, *et al* lebih baik dari penelitian yang dilakukan oleh Jin *et al*. Seluruh sample blok paraffin memiliki pembanding kultur. Jumlah sample yang diperiksa juga lebih banyak yaitu 110 sample dan variasi jenis organ yang lebih beragam merepresentasikan keadaan yang akan ditemui pada praktek sehari-hari. Penelitian An Na, *et al* juga menyebutkan jenis kit PCR yang digunakan, sementara penelitian Jin, *et al* tidak menyebutkan.

Penelitian An Na, *et al* dan Jin, *et al* pada kelompok kedua menghasilkan nilai sensitivitas yang jauh lebih baik dibandingkan dengan kelompok sample pertama (87,1% dan 88,9% vs 45,5%). Hal ini mungkin disebabkan oleh kecilnya volume jaringan dalam blok paraffin pada kelompok sample pertama dari penelitian Jin, *et al*. Kedua penelitian tidak mencantumkan langkah-langkah serta bahan yang digunakan untuk mengolah jaringan menjadi blok paraffin. Proses *embedding* dapat menyebabkan gangguan integritas jaringan yang disebabkan oleh beberapa faktor seperti: protokol fiksasi, usia blok paraffin yang digunakan, serta adanya inhibitor eksogen maupun endogen dari reaksi yang terjadi.³

Pemeriksaan PCR pada sediaan FFPE dengan menggunakan *primer* IS6110 dan MPB64 saat ini dapat diaplikasikan di Indonesia. Teknologi untuk melakukan pemeriksaan PCR sudah tersedia di Indonesia.

KESIMPULAN

Akurasi pemeriksaan PCR menggunakan primer IS6110 dan MPB64 untuk mendeteksi *M. tuberculosis* pada spesimen FFPE masih kurang baik. Sensitivitas pada kedua studi berkisar antara 45,5-88,9%, spesifisitas berkisar antara 88,1-100%. Nilai sensitivitas yang bervariasi ini sesuai dengan studi lain yang menggunakan primer dan teknik PCR lainnya.^{6,9-12} Banyak faktor yang dapat menyebabkan hal ini, mulai dari langkah-langkah dan bahan yang digunakan dalam proses *embedding* jaringan, volume jaringan di dalam blok paraffin itu sendiri serta kuantitas DNA *M. tuberculosis* yang terdapat dalam jaringan. Melihat nilai sensitivitas yang beragam dan spesifisitas yang relatif tinggi, saat ini kami merekomendasikan pemeriksaan PCR menggunakan primer IS6110 dan MPB64 untuk deteksi *M. tuberculosis* pada spesimen FFPE sebagai pemeriksaan konfirmasi dan sebaiknya tidak digunakan sebagai pemeriksaan tunggal.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Global tuberculosis report. 2018. 2018.
2. Lee HS, Park KU, Park JO, Chang HE, Song J, Choe G. Rapid, sensitive, and specific detection of Mycobacterium tuberculosis complex by Real-Time PCR on paraffin-embedded human tissues. *J Mol Diagn.* 2011;13:390-4.
3. Barcelos D, Franco MF, Leão SC. Effects of tissue handling and processing steps on PCR for detection of Mycobacterium tuberculosis in formalin-fixed paraffin-embedded samples. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2008;50:321-6.
4. Singh HB, Singh P, Jadaun GPS, Srivastava K, Sharma VD, Chauhan DS, *et al*. Simultaneous use of two PCR systems targeting IS6110 and MPB64 for confirmation of diagnosis of tuberculous lymphadenitis. :6.
5. Critical Appraisal tools [Internet]. CEBM. 2014 [cited 2019 Apr 15]. Available from: <https://www.cebm.net/2014/06/critical-appraisal/>
6. Seo AN, Park HJ, Lee HS, Park JO, Chang HE, Nam KH, *et al*. Performance characteristics of nested polymerase chain reaction vs real-time polymerase chain reaction

- methods for detecting mycobacterium tuberculosis complex in paraffin-embedded human tissues. *Am J Clin Pathol.* 2014; 142: 384-90.
7. Jin XJ, Mee Kim J, Kim HK, Kim L, Choi SJ, Park IS, *et al.* Histopathology and TB-PCR kit analysis in differentiating the diagnosis of intestinal tuberculosis and Crohn's disease. *World J Gastroenterol.* 2010;16:2496.
 8. Vago L, Barberis M, Gori A, Scarpellini P, Sala E, Nebuloni M, *et al.* Nested Polymerase Chain Reaction for *Mycobacterium tuberculosis* IS6110 sequence on Formalin-Fixed Paraffin-Embedded tissues with granulomatous diseases for rapid diagnosis of tuberculosis. *Am J Clin Pathol.* 1998;109:411-5.
 9. Kim YN, Kim KM, Choi HN, Lee JH, Park HS, Jang KY, *et al.* Clinical usefulness of PCR for differential diagnosis of tuberculosis and nontuberculous Mycobacterial infection in paraffin-embedded lung tissues. *J Mol Diagn.* 2015;17:597-604.
 10. Margall N, Baselga E, Coll P, Barnadas MA, Moragas JM, Prats G. Detection of Mycobacterium tuberculosis complex DNA by the polymerase chain reaction for rapid diagnosis of cutaneous tuberculosis. *Br J Dermatol.* 1996;135:231-6.
 11. Rindi L, Ali G, Fabiani B, Fontanini G, Garzelli C. Detection of Mycobacterium tuberculosis from paraffin-embedded tissues by GeneXpert MTB/RIF. *Tuberculosis.* 2017;106:53-5.
 12. Polepole P, Kabwe M, Kasonde M, Tembo J, Shibemba A, O'Grady J, *et al.* Performance of the Xpert MTB/RIF assay in the diagnosis of tuberculosis in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Int J Mycobacteriology.* 2017;6:87.

Tabel 1. Strategi pencarian literatur pada basis data yang ada.

Database	Search Strategy	Hits	Selected
Pubmed	((("tuberculosis"[MeSH Terms] OR "tuberculosis"[All Fields]) AND (("paraffin"[MeSH Terms] OR "paraffin"[All Fields]) OR ffpe[All Fields]) AND (IS6110[All Fields] OR ("dna transposable elements"[MeSH Terms] OR "dna"[All Fields] AND "transposable"[All Fields] AND "elements"[All Fields]) OR "dna transposable elements"[All Fields] OR ("insertion"[All Fields] AND "sequence"[All Fields]) OR "insertion sequence"[All Fields]) AND 6110[All Fields])) AND (MPB64[All Fields] OR MPT64[All Fields])) AND English[lang]	4	1
Scopus	(TITLE-ABS-KEY (tuberculosis) AND TITLE-ABS-KEY (paraffin) OR TITLE-ABS-KEY (ffp) AND TITLE-ABS-KEY (is6110) OR TITLE-ABS-KEY (insertion AND sequence 6110) AND TITLE-ABS-KEY (mpb) OR TITLE-ABS-KEY (mtp))	4	1
Proquest	tuberculosis AND (paraffin OR ffpe) AND (is6110 OR insertion sequence 6110) AND (mpb64 OR mpt64)	25	1
Springer Link	tuberculosis AND paraffin AND is6110 AND mpb64	4	0
Cochrane	tuberculosis in Title Abstract Keyword AND paraffin OR ffpe in Title Abstract Keyword AND is6110 OR insertion sequence 6110 in Title Abstract Keyword AND mpb64 OR mpt64 in Title Abstract Keyword - (Word variations have been searched)	0	0

Tabel 2. Karakteristik masing-masing studi.

Peneliti	Baku emas	Σ Sample	Σ Sample dengan kultur	Akurasi
				IS6110 + MPB 64
An Na, <i>et al</i>	3% Ogawa media	110 FFPE samples. 32 MTB, 22 NTM, 56 Non mycobacterium	Semua sample dilakukan kultur	Sens : (28/32)*100% = 87,1%; Spec : (55/56)*100% = 98,2%; PPV : (28/29)*100 = 96,5%; NPV : (55/59)*100% = 93,2%
Jin, <i>et al</i>	Media kultur tidak diketahui	From various organ (lung, lymph node, pericardium, bone, soft tissue)	Tidak diketahui (tidak semua spesimen di kultur)	Sens : (25/55)*100 = 45,5%; Spec : (37/42)*100% = 88,1%; PPV : (25/30)*100% = 83,3%; NPV : (30/67)*100% = 44,8%
		Endoscopic cases: 55 ITB, 42 CD	Semua kasus TB dikonfirmasi dengan kultur	Sens : (8/9)*100 = 88,9%; Spec : (10/10)*100% = 100%; PPV : (8/8)/100% = 100%; NPV : (10/11)*100% = 90,9%
		Open biopsy cases: TB: 3 kolon, 3 tulang, 2 vertebrae, 1 sendi; non-TB: 10 mukosa kolon normal	Semua sample merupakan spesimen FFPE	

FFPE : Formalin-Fixed Paraffin-Embedded

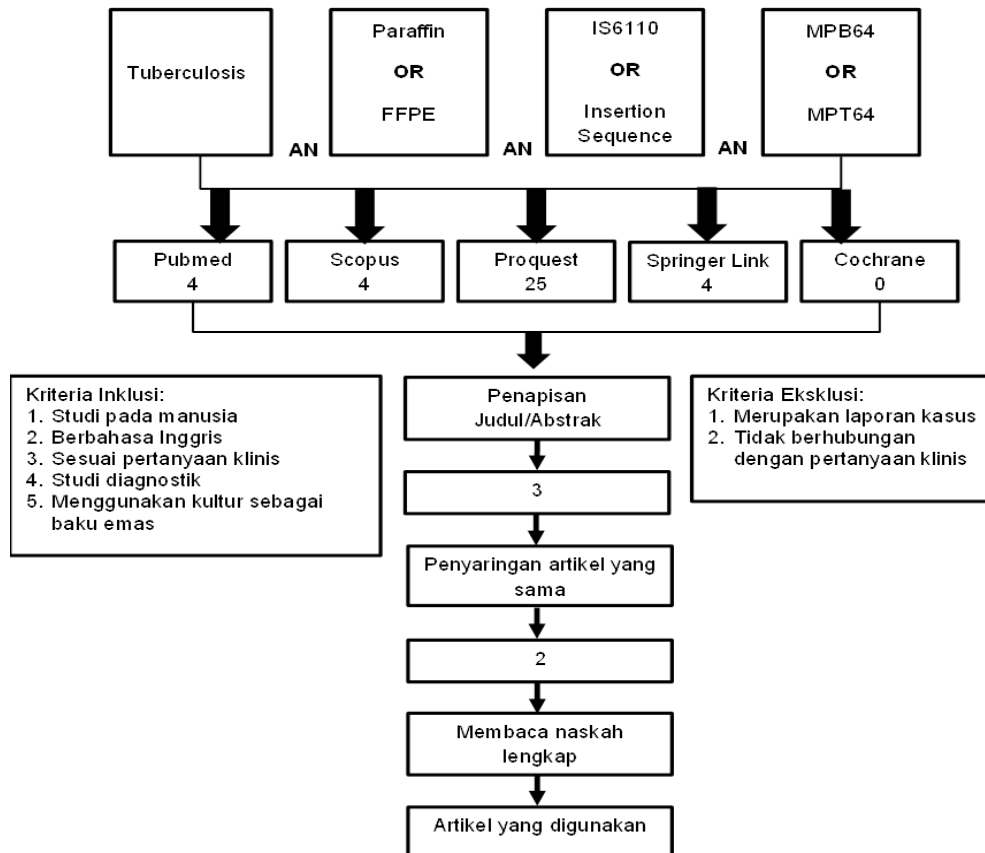
MTB : *Mycobacterium tuberculosis*

NTM : non *Mycobacterium tuberculosis*

ITB : Intestinal tuberculosis

CD : Crohn's Disease

Grafik 1. Alur pencarian artikel (Tanggal pencarian 7 April 2019).



Tabel 3. Hasil telaah kritis studi diagnostik individual.

Criteria	Articles	
	An Na, <i>et al</i>	Jin, <i>et al</i>
<i>Validity</i>		
Representative spectrum of patients	±	±
Reference standard applied regardless of the index test result	+	-
Independent and blind or objective comparison with gold standard	±	±
<i>Importance</i>		
Sensitivity	87,10%	45,5%; 88,9%
Specificity	98,20%	88,1%; 100%
Positive Predictive Value (PPV)	96,50%	83,3%; 100%
Negative Predictive Value (NPV)	93,20%	44,8%; 90,9%
Likelihood ratio + (LR+)	-	-
Likelihood ratio - (LR-)	-	-
<i>Applicability</i>		
Permit Replication	±	±

+ : yes

- : no

± : unclear