



## 폐외결핵 환자에서의 치료에 따른 연속적인 T-SPOT.TB 검사

박기호 · 조오현 · 고광범 · 이유미 · 박현정 · 박소연 · 문송미 · 정용필 · 이상오 · 최상호 · 김양수 · 우준희 · 김성한  
울산대학교 의과대학 서울아산병원 감염내과

### Serial Testing of T-SPOT.TB Assays with Anti-Tuberculosis Therapy in Patients with Extrapulmonary Tuberculosis

**Background:** Limited data are available for the clinical utility of serial interferon-gamma producing T-cell response after initiation of treatment in patients with extrapulmonary tuberculosis (TB). We studied the serial TB-specific antigen T-cell responses measured using the T-SPOT.TB assay during the course of therapy.

**Material and Methods:** We prospectively enrolled adult patients who were newly diagnosed with active extrapulmonary TB over a 24-month period. All patients were given standard anti-TB treatment. Blood samples were obtained for T-SPOT.TB at diagnosis, as well as 1-, 3-, 6-, and 12-months after initiating anti-TB therapy.

**Results:** A total of 52 patients with extrapulmonary TB (38 confirmed and 14 probable TB) were included in the final analysis. All patients had clinical and radiologic improvement after treatment and cured. T-SPOT.TB was positive for 90% at diagnosis, 100% at 1-, 3-, and 6-months, and 93% at 12-months after initiation of anti-TB therapy. There was no significant difference in median T-cell response between early secreting antigenic target-6 (ESAT-6) and culture filtrate protein-10 (CFP-10) at all time points. Median T-cell response steadily increased up to 6 months and then decreased.

**Conclusions:** T-SPOT.TB assay remained positive after successful anti-TB treatment in most patients with extrapulmonary TB. Our data suggests that serial T-SPOT.TB has limited clinical utility as a surrogate marker of treatment response in patients with extrapulmonary TB.

**Key Words:** Tuberculosis, Enzyme-linked immunosorbent assay

## 서론

전 세계적으로 결핵은 의학적 측면뿐만 아니라 사회, 경제적인 측면에서 큰 부담이 되고 있다. 한국에서의 결핵 발생률은 2007년에 인구 10만 명당 90명이었으며, 이는 OECD 국가 중 가장 높은 수준이다[1]. 따라서 빠른 진단과 적절한 치료가 환자뿐만 아니라 공중 보건학적인 측면에서 중요한데, 아직 결핵 진단에 충분히 민감하고 특이적인 신속 검사법이 없는 것이 문제이다. 최근에 새로운 결핵 진단법으로 *Mycobacterium tuberculosis*에 대한 특이적인 항원을 이용한 interferon-gamma

Ki-Ho Park, Oh-Hyun Cho, Gwang Beum Ko, Yumi Lee, Hyun Jung Park, So-Youn Park, Song Mi Moon, Young Pil Chong, Sang-Oh Lee, Sang-Ho Choi, Yang Soo Kim, Jun Hee Woo, and Sung-Han Kim

Department of Infectious Diseases, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Korea

Copyright © 2011 by The Korean Society of Infectious Diseases | Korean Society for Chemotherapy

Submitted: April 3, 2011

Revised: May 19, 2011

Accepted: May 19, 2011

Correspondence to Sung-Han Kim, M.D.

Department of Infectious Diseases, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, 88, Olympic-ro 43-gil, Songpa-gu, Seoul 138-736, Korea

Tel: +82-2-3010-3305, Fax: +82-2-3010-6970

E-mail: kimsunghanmd@hotmail.com

[www.icjournal.org](http://www.icjournal.org)

release assay (IGRA)가 잠복 결핵 및 활동성 결핵의 진단에 희망적인 성적을 보여 주었다[2-4]. 이와 더불어 결핵의 치료에 대한 반응의 지표로 IGRA를 사용하고자 하는 시도들이 있었다. 만약 *M. tuberculosis* 특이 항원에 대한 인터페론감마 생산 T세포 반응(interferon-gamma producing T-cell response)이 치료에 대한 반응과 연관이 있다면 결핵 치료의 객관적인 간접 지표(surrogate marker)로 유용할 수 있다[5, 6]. 최근의 몇 개의 연구에서 활동성 결핵의 치료 효과 판정 지표로서 IGRA의 역할을 조사하였는데, 일관되지 않은 결과를 보여주었다[7-15]. 대부분의 연구들이 적은 수의 환자들을 대상으로 하였고, 다양한 면역 상태의 환자들이 연구에 포함되었다. 더불어 연구에 포함된 많은 환자들은 폐결핵 환자들로서, 침습적 검사가 필요하여 진단과 치료 반응 평가가 더 어려운 폐외결핵 환자들에 있어서 치료에 따른 IGRA 검사의 유용성에 대한 자료는 제한적이다. 이에 저자들은 폐외결핵 환자의 항결핵제 치료 중과 치료 후에 연속적인 T-SPOT.TB 검사의 유용성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

본 연구는 2008년 4월 1일부터 2010년 3월 31일까지 24개월 동안 서울아산병원에서 폐외결핵으로 진단 받은 16세 이상의 성인 중 T-SPOT.TB 검사를 위한 혈액 채취에 동의한 환자들을 대상으로 하였다. 혈액 채취는 치료 시작 시점부터 치료 시작 후 1개월, 3개월, 6개월, 12개월, 24개월에 시행되었다. 환자들은 미국 흉부 학회(American Thoracic Society) 및 미국 감염병 학회(Infectious Disease Society of America)의 지침에 따라 4제 병합 요법(isoniazid, rifampicin, ethambutol, and pyrazinamide)으로 치료를 시작하였다. 폐외결핵 환자들의 치료 기간은 지침에 따라 6개월을 표준 요법으로 하였고, 중추 신경계 결핵 및 근육골격 결핵에서는 치료 기간을 연장하였다[16]. 치료 중 역설적 반응(paradoxical response)이 생겼을 때의 스테로이드의 사용 여부 및 치료 기간의 연장 여부는 담당 주치의에 의하여 결정되었다. 연구자는 환자의 T-SPOT.TB 검사 결과를 모르는 상태로 임상

적, 조직학적, 방사선학적, 미생물학적 정보를 수집하였고 치료 종료 후 최소 6개월간 경과 관찰하였다. 환자들의 임상적인 분류 기준은 이전 연구들에 기초하였고, Table 1에 요약하였다[3, 17].

T-SPOT.TB 검사(Oxford Immunotec, Oxford, UK)는 이전에 기술되었던 방법에 의하여 시행되었다[3, 4, 18-20]. 요약하면, 말초 혈액 약 8mL을 피험자로부터 채취하였고, 말초 혈액 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cell)를 30분 이내에 분리하였다. 분리된  $2.5 \times 10^5$  개의 말초 혈액 단핵 세포는 사람 인터페론 감마에 대한 항체가 입혀져 있는 well에 깔았고, 37°C에서 18시간 동안 배양되었다. Spot의 수는 자동화 현미경(ELISpot 04 HR; Autoimmune Diagnostika GmbH, Strasburg, Germany)을 이용하여 측정하였다. Early secreting antigenic target-6 (ESAT-6)와 culture filtrate protein-10 (CFP-10)에 대하여 10만개의 세포당 6개 이상의 spot을 양성으로 간주하였다. 불확정 결과(indeterminate results)는 이전에 기술되었던 것을 따랐는데[3, 4, 18-20], 요약하면 양성대조군(positive control well)의 spot의 수가 20개 미만 또는 음성대조군(negative control well)의 spot 수가 10개를 초과한 경우로 정의하였다. 투베르쿨린 피부반응 검사는 Mantoux법에 의하여 시행되었는데, purified protein derivative RT23 (Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark)을 전완부에 피내로 2TU를 주사 후 48시간 이후 경결(induration)의 크기가 10 mm 이상일 때 양성으로 정의하였다[3, 4, 18-20].

통계적인 분석은 Prism 5 for Windows, version 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA)을 이용하였다. 각 시점에 시행된 ESAT-6에 대한 T세포 반응과 CFP-10에 대한 T세포 반응의 정량적인 값은 Mann-Whitney U test를 사용하여 비교하였다. 항결핵제 치료 후의 T-SPOT.TB 검사로 측정된 T-cell 반응의 정량적인 값(spot forming cell[SFC])의 변화는 짝지어진 경우에 대하여 Wilcoxon signed-rank test를 사용하여 비교하였다. 통계적 유의성 판단 기준은  $P$  값 <0.05인 경우로 하였다.

## 결과

60명의 환자들이 연구기간 동안 전향적으로 등록되었다. 이중 치료 중 사망한 환자(n=2), 2주 이상 항결핵제를 중단한 환자(n=2), 추적 소실된 환자(n=4)는 배제되었고, 52명의 폐외결핵 환자들이 최종적으로 분석에 포함되었다. 52명 중에서 38명(73%)은 확진된 결핵(confirmed tuberculosis)이었고, 14명(27%)는 가능성이 높은 결핵(probable tuberculosis)이었다. 이들의 연령의 중앙값은 45세였고, 남자는 21명(40.4%)이었다. 침범 부위는 림프절(51.9%), 중추신경계(34.6%), 속립성(17.3%), 근육골격(9.6%), 비뇨생식기(5.8%), 복강내결핵(5.8%)의 순서였다. 진단적 검사에서 투베르쿨린 피부반응 검사는 38명(73.0%)의 환자에서 시행되었고, 38명 중 19명(50.0%)에서 양성이었다. 생검 검체(biopsy specimen)에서 육아종(granuloma)은 46.2%에서 관찰되었고, 임상 검체(흡인액, 뇌척수액, 객담, 생검 검체 등)에서 항산균 도말 검사는 28.8%, *M. tuberculosis*에 대한 배양 검사는 42.3%, 핵산증

**Table 1.** Diagnostic Classification of Adult Patients Presenting with Suspected Extrapulmonary Tuberculosis

<b>Confirmed Tuberculosis</b>
Clinical specimen positive for <i>Mycobacterium tuberculosis</i> on culture or <i>M. tuberculosis</i> polymerase chain reaction
<b>Probable Tuberculosis</b>
Histology of biopsy tissue showing caseating granuloma
Clinical picture of meningitis associated with cerebrospinal fluid changes consistent with tuberculosis meningitis
Clinical picture of unexplained symptoms or persistent pyuria and radiologic findings consistent with genitourinary tuberculosis
<b>Possible Tuberculosis</b>
Patients who did not fulfill the above criteria but in whom active tuberculosis could not be excluded
<b>Not Tuberculosis</b>
Other diagnosis or clinical improvement without antituberculosis therapy

폭증사(polymerase chain reaction)은 53.8%에서 양성이었다. 추적 T-SPOT.TB 검사는 39명(75.0%)의 환자에서 2번 이상 시행되었고, 30명(57.7%)의 환자에서 3번 이상 시행되었다. 모든 환자들은 항결핵제 치료가 끝난 시점에서 임상적·방사선학적인 호전을 보였다. 연구에 포함된 52명의 폐외결핵 환자의 임상적 특징 및 진단적 검사의 결과는 Table 2과 같다.

T-SPOT.TB 검사는 치료를 시작할 시점에는 52명의 환자 중 47명(90%)에서 양성이었다. 치료 1개월, 3개월, 6개월에 시행한 추적 T-SPOT.TB 검사는 모든 환자에서 양성되었고, 치료 12개월, 24개월 T-SPOT.TB 검사는 각각 93%, 100%에서 양성이었다(Table 3). ESAT-6에 대한 T-SPOT.TB 검사는 치료 시작 시점에서 77%에서 양성 이었고, 치료 1개월, 3개월, 6개월, 12개월, 24개월 시점에서 각각 97%, 94%, 94%, 86%, 88%에서 양성이었다. CFP-10에 대한 T-SPOT.TB 검사는 치료 시작 시점에서 75%에서 양성 이었고, 치료 1개월, 3개월, 6개월, 12개월 시점에 각각 95%, 89%, 92%, 93%, 100%에서 양성이었다. 치료 시작 시점에서 T-SPOT.TB 검사가 음성인 5명은 이후 추적 T-SPOT.TB 검사에서 모두 양성으로 전환되었는데, 5명 중 4명은 치료 한달 후의 추적 T-SPOT.TB 검사에서 양성으로 전환되었다.

Fig. 1A는 연구에 포함된 52명 폐외결핵 환자의 치료 후 각 시점의 ESAT-6와 CFP-10에 대한 T세포 반응의 정량적 변화를 보여주고 있다. ESAT-6에 대한 T세포 반응의 중앙값과 CFP-10에 대한 T세포 반응의 중앙값은 치료 시작 시점과 치료 후 모든 시점에서 유의한 차이가 없었다( $P=0.80$ ;  $P=0.57$ ;  $P=0.89$ ;  $P=0.80$ ;  $P=0.93$ ;  $P=0.49$ ). ESAT-6에 대한

T세포 반응의 중앙값은 치료 시작시의 43.5 SFC와 비교하여 볼 때 치료 1개월째에는 84.5 SFC로 상승하였고( $P=0.01$ ), 치료 6개월째에는 141.5 SFC로 상승하였다( $P=0.02$ ). ESAT-6에 대한 T세포 반응의 중앙값은 치료 6개월째에 최고점에 도달 후, 치료 12개월째에는 119 SFC로, 치료 24개월째에는 42.5 SFC로 감소하였지만 통계학적 유의성은 보이지 않았다( $P=0.60$ ;  $P=0.46$ ). 마찬가지로, CFP-10에 대한 T세포 반응의 중앙값은 치료 시작시의 33.5 SFC와 비교하여 볼 때 치료 1개월째에는 79.0 SFC로 상승하였고( $P=0.04$ ), 치료 6개월째에는 206.0 SFC로 상승하였다( $P=0.01$ ). CFP-10에 대한 T세포 반응의 중앙값은 치료 6개월째에 최고점에 도달 후, 치료 12개월째에는 58.5 SFC로, 치료 24개월째에는 73.0 SFC로 감소하였지만 통계학적 유의성은 보이지 않았다( $P=0.58$ ;  $P=0.83$ ). 확진된 폐외결핵 환자 39명을 대상으로 T세포 반응의 정량적 변화를 분석하였을 때도 유사한 양상이 관찰되었다(Fig. 1B).

## 고찰

본 연구는 새롭게 진단된 폐외결핵 환자에서 항결핵제 치료 후의 T-SPOT.TB 검사의 정성적·정량적 변화를 기술하였다. 연구에 포함된 52명의 환자들은 항결핵 치료 후에 모두 호전되었지만, 오직 9%에서만 12개월 추적 T-SPOT.TB 검사가 음전되었다. T-SPOT.TB 검사로 측정 한 인터페론 감마 생산 T세포 반응은 치료 시작 시점과 비교하여 볼 때, 치료 후 1개월에 증가되었고, 이러한 증가는 치료 6개월까지 지속되다가 그 이후 점차 감소하는 경향을 보였다.

결핵에 대한 새로운 면역학적 진단법인 IGRA는 결핵에 특이적인 항원에 대한 인터페론감마 생산 T세포 반응을 측정하는 검사이다. 이 검사는 기존의 투베르쿨린 피부반응 보다 이전 BCG 접종과 비결핵 항산균(nontuberculous mycobacteria, NTM)에 대한 교차반응이 더 적어 잠복 결핵 및 활성 결핵의 진단에 희망적인 성적을 보여주었다[2-4]. 더불어 최근에는 IGRA를 사용하여 결핵 치료 중과 치료 후의 T세포 반응에 대한 정성적·정량적 변화를 관찰하고자 하는 연구들이 있었다. 인도에서 QuantiFERON-TB Gold In Tube 검사를 사용하여 시행된 한 연구에서는 인터페론감마 생산 T세포의 반응은 치료 중에 계속 유지되

**Table 2.** Clinical Characteristics of 52 Patients with Extrapulmonary Tuberculosis

Characteristics	No. of patient (%)
Median age, years (range)	46 (18-77)
Male sex	21 (40.4)
Suspected infection site	
Lymph node	27 (51.9)
Central nervous system	18 (34.6)
Miliary nodules in lung	9 (17.3)
Musculoskeletal	5 ( 9.6)
Genitourinary	3 ( 5.8)
Intraabdominal tuberculosis	3 ( 5.8)
Extent of disease	
Extrapulmonary and pulmonary disease	13 (25.0)
Disseminated disease	13 (25.0)
Underlying condition or illness	
Human immunodeficiency virus infection	2 ( 3.8)
Malignancy	2 ( 3.8)
Transplantation	1 ( 1.9)
Diabetes mellitus	1 ( 1.9)
Rheumatologic disease	1 ( 1.9)
No underlying illness	45 (86.5)
Immunosuppressive condition <sup>a</sup>	6 ( 11.3)
Prior latent tuberculosis treatment	3 ( 5.8)
Prior active tuberculosis treatment	0 ( 0)

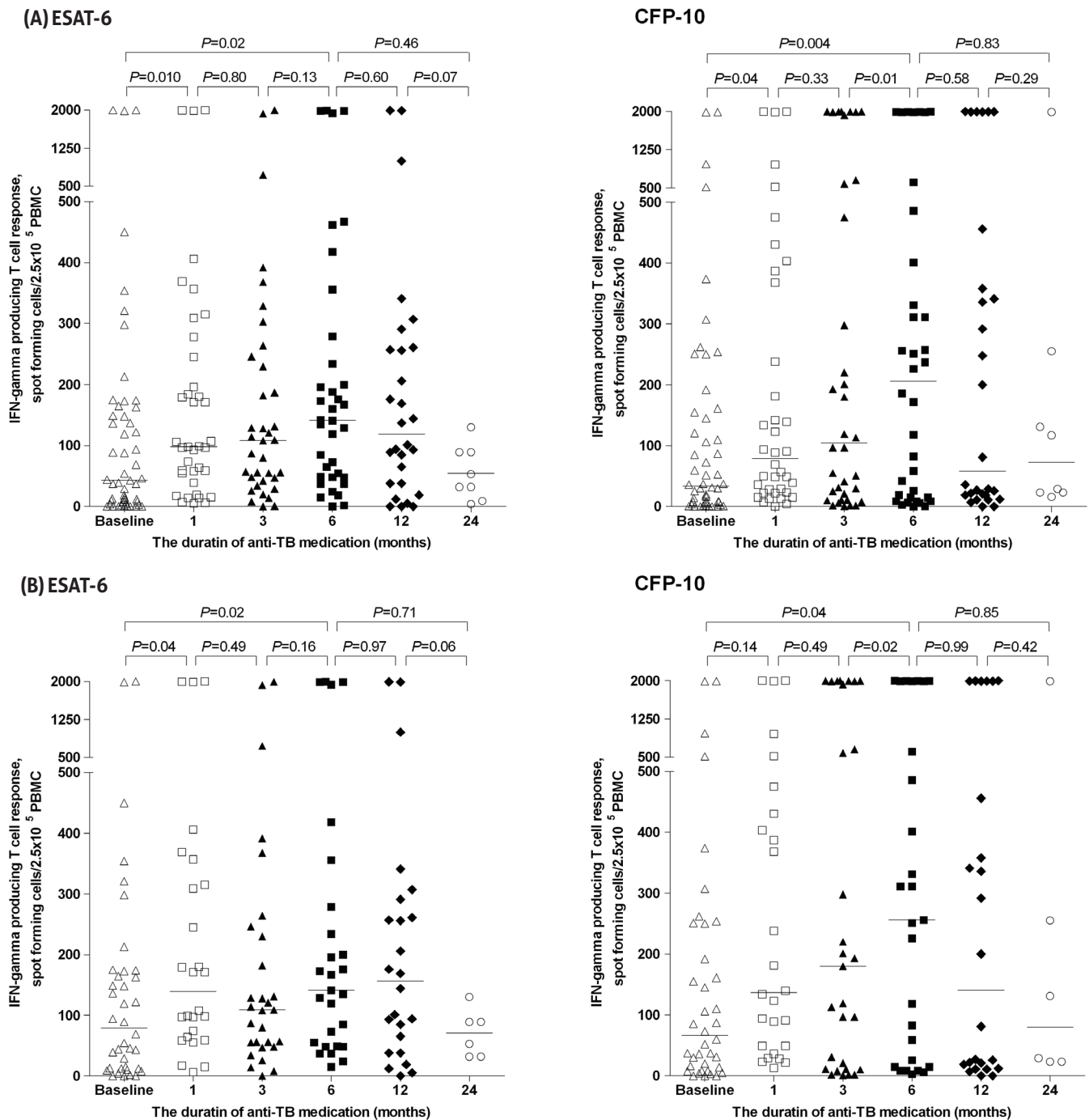
<sup>a</sup>Immunosuppressive condition is defined as patients with underlying disease, such as Human immunodeficiency virus infection, malignancy, chronic renal failure, and/or patients receiving immunosuppressive treatment.

**Table 3.** Serial Change of T-SPOT.TB Assay Results for Patients with Extrapulmonary TB based on Time Elapsed since Initiation of Anti-TB therapy

Time after initiation of anti-TB therapy, months	Patients with Positive T-SPOT.TB results, n/N (%) <sup>a</sup>		
	ESAT-6	CFP-10	ESAT-6+CFP-10
0	40/52 (77)	39/52 ( 75)	47/52 ( 90)
1	37/38 (97)	36/38 ( 95)	38/38 (100)
3	34/36 (94)	32/36 ( 89)	36/36 (100)
6	34/36 (94)	33/36 ( 92)	36/36 (100)
12	24/28 (86)	26/28 ( 93)	26/28 ( 93)
24	7/8 (88)	8/8 (100)	8/8 (100)

TB, tuberculosis; ESAT-6, early secreting antigenic target-6; CFP-10, culture filtrate protein-10.

<sup>a</sup>Number of patients with positive T-SPOT.TB test results/total number of patients tested (% of patients with positive T-SPOT.TB results).



**Figure 1.** Serial change of IFN-gamma producing T cell response in all patients with extrapulmonary tuberculosis (n=52) (A) and in the subgroup with confirmed extrapulmonary TB (n=28) (B) ESAT-6, early secreting antigenic target-6; IFN, interferon; TB, tuberculosis; PBMC, peripheral blood mononuclear cell; CFP-10, culture filtrate protein-10.

었으며, 치료 시작 시점에 73%에서 양성이었다고, 치료 시작 6개월 후에도 79%에서 양성이었다[8]. 그러나 T-SPOT.TB 검사를 이용한 상당수의 다른 연구들은 항결핵 치료 후에 인터페론 생산 T세포의 반응이 감소하는 것을 보여주었다[9, 12-14, 21-23]. 최근의 한 연구에서 객담 도말 양성인 환자 116명에 대하여 T-SPOT.TB 검사를 시행하였을 때 치료 1개월에 17.2%가 음전되었고, 치료 6개월에는 32.9%가 음전되었다

[22]. 폐결핵 환자의 이전 연구와 대조적으로, 본 연구의 폐외결핵 환자들에서 T-SPOT.TB 검사는 치료 6개월까지 양성인 지속되었다가 치료 12개월에 이르러서야 9%만이 음전되었다. 다른 한편으로, 인터페론감마 T세포 반응의 정량적인 변화는 일부 연구에서는 치료와 함께 지속적으로 감소하였지만, 본 연구를 포함한 다른 연구에서는 일시적으로 증가하였다가 이후 감소하는 것을 보고하였다. T세포 반응은 한 연구에서는



치료 10일째[24], 다른 연구에서는 치료 한달째[25]에 최고치를 보인 후 감소하였다. 이와 대조적으로 본 연구의 환자들은 치료 6개월째까지도 T세포 반응이 증가하는 모습을 보였고, 치료 12개월이 되어서야 다소 감소하기 시작하였다. 그러나 12개월 이후의 감소는 통계학적 유의성에는 도달하지는 못하였는데, 아마도 치료 12개월, 치료 24개월의 추적 T-SPOT.TB의 시행한 환자의 수가 적은 것이 이유일 수 있다.

이렇게 본 연구의 폐외 결핵 환자들에게서 T-SPOT.TB 검사의 음전이 적고, T세포 반응의 증가가 치료 6개월까지도 지속되는 이유는 분명치 않다. 그러나 임상적으로 폐외결핵이 폐결핵에 비하여 항결핵제 치료 도중 기존 병변이 악화되거나 새로운 병변이 생기는 역설적 반응(paradoxical response)이 더 흔한 점을 고려할 때, 아마도 폐외결핵에서 면역학적으로도 결핵에 특이한 면역반응이 치료 도중에 더 증가하기 때문일 가능성이 있다[26]. 더불어 본 연구의 75%의 환자들에서 투베르쿨린 피부반응 검사가 시행되었는데, 투베르쿨린 피부반응 검사가 인터페론감마 분비 T세포 반응의 증가를 촉진시켰을 수도 있다. 그러나 일부 연구에서는 투베르쿨린 피부반응 검사가 인터페론감마 분비 T세포 반응의 증가를 촉진시켰지만[27-30], 다른 연구들에서는 그렇지 않았기 때문에 이에 대하여는 추가적인 연구가 필요한 상황이다[31-33].

본 연구는 몇 가지 제한점을 가진다. 첫째, 본 연구는 폐결핵 환자들을 포함하지 않았기 때문에 치료에 따른 T세포 반응의 감소가 느리고, T-SPOT.TB 검사의 음전이 적은 것이 폐외결핵과 폐결핵 차이에서 오는 것인지를 직접적으로 확인할 수는 없었다. 둘째, 추적 T-SPOT.TB 검사는 추적 초반에는 비교적 잘 시행된 반면, 추적 후반부에는 일부 환자에서만 시행되어 선택 편견(selection bias)이 개입되었을 가능성이 있다. 그러나, 추적 T-SPOT.TB 검사가 추적 후반부까지 이루어진 환자들만을 대상으로 하여 분석하였을 때도 T세포 반응의 변화는 유사한 양상을 보였다. 마지막으로 본 연구는 중간 정도의 결핵 부담을 가진 국가의 일개 대학 병원에서 시행된 연구로, 연구 결과를 전체 인구 집단에 일반화시킬 수는 없었다. 실제로 결핵 부담이 높은 국가와 결핵 부담이 낮은 국가에서 IGRA의 진단적 유용성에 차이가 날 수 있으므로 주의 깊은 해석이 필요하겠다.

결론적으로, 우리 연구는 폐외결핵 환자들에게서 T-SPOT.TB 검사로 측정된 T세포 반응은 치료 시작 후 6개월까지도 증가되었고, 대부분의 환자들은 항결핵제 치료 종료 후에도 T-SPOT.TB 검사가 음전되지 않음을 보여 주었다. 따라서 폐외결핵 환자들에게서 추적 T-SPOT.TB 검사는 치료반응을 평가하는데 제한점이 있다. 향후 폐외결핵 환자들에게서 추적 T-SPOT.TB 검사가 임상적인 역설적 반응 또는 재발 등과 연관성이 있는지에 대하여는 추가적인 연구가 필요하다.

## 감사의 글

본 연구는 2009년 5월 대한화학요법학회 학술연구비를 지원받아 시행한 연구입니다.

## References

1. World Health Organization. Tuberculosis profile: Republic of Korea. Available at: [http://extranet.who.int/sree/Reports?op=Replet&name=%2FWHO\\_HQ%2FSTB\\_TME%2FPublic%2FTBCountryProfile&ISO2=KR&outtype=html](http://extranet.who.int/sree/Reports?op=Replet&name=%2FWHO_HQ%2FSTB_TME%2FPublic%2FTBCountryProfile&ISO2=KR&outtype=html). Accessed 28 March 2011.
2. Pai M, Riley LW, Colford JM Jr. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2004;4:761-76.
3. Kim SH, Choi SJ, Kim HB, Kim NJ, Oh MD, Choe KW. Diagnostic usefulness of a T-cell based assay for extrapulmonary tuberculosis. *Arch Intern Med* 2007;167:2255-9.
4. Kim SH, Song KH, Choi SJ, Kim HB, Kim NJ, Oh MD, Choe KW. Diagnostic usefulness of a T-cell-based assay for extrapulmonary tuberculosis in immunocompromised patients. *Am J Med* 2009;122:189-95.
5. Doherty TM, Demissie A, Olobo J, Wolday D, Britton S, Egualé T, Ravn P, Andersen P. Immune responses to the *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigen ESAT-6 signal subclinical infection among contacts of tuberculosis patients. *J Clin Microbiol* 2002;40:704-6.
6. Vordermeier HM, Chambers MA, Cockle PJ, Whelan AO, Simmons J, Hewinson RG. Correlation of ESAT-6-specific gamma interferon production with pathology in cattle following *Mycobacterium bovis* BCG vaccination against experimental bovine tuberculosis. *Infect Immun* 2002;70:3026-32.
7. Lee SW, Lee CT, Yim JJ. Serial interferon-gamma release assays during treatment of active tuberculosis in young adults. *BMC Infect Dis* 2010;10:300.
8. Pai M, Joshi R, Bandyopadhyay M, Narang P, Dogra S, Taksande B, Kalantri S. Sensitivity of a whole-blood interferon-gamma assay among patients with pulmonary tuberculosis and variations in T-cell responses during antituberculosis treatment. *Infection* 2007;35:98-103.
9. Aiken AM, Hill PC, Fox A, McAdam KP, Jackson-Sillah D, Lugos MD, Donkor SA, Adegbola RA, Brookes RH. Reversion of the ELISPOT test after treatment in Gambian tuberculosis cases. *BMC Infect Dis* 2006;6:66.
10. Kobashi Y, Mouri K, Yagi S, Obase Y, Miyashita N, Oka M. Transitional changes in T-cell responses to *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens during treatment. *J Infect* 2009;58:197-204.
11. Katiyar SK, Sampath A, Bihari S, Mamtani M, Kulkarni H. Use of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test to monitor treatment efficacy in active pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2008;12:1146-52.
12. Carrara S, Vincenti D, Petrosillo N, Amicosante M, Girardi E, Goletti D. Use of a T cell-based assay for monitoring efficacy of antituberculosis therapy. *Clin Infect Dis* 2004;38:754-6.

13. Chee CB, KhinMar KW, Gan SH, Barkham TM, Koh CK, Shen L, Wang YT. Tuberculosis treatment effect on T-cell interferon-gamma responses to *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens. *Eur Respir J* 2010;36:355-61.
14. Dheda K, Pooran A, Pai M, Miller RF, Lesley K, Booth HL, Scott GM, Akbar AN, Zumla A, Rook GA. Interpretation of *Mycobacterium tuberculosis* antigen-specific IFN-gamma release assays (T-SPOT.TB) and factors that may modulate test results. *J Infect* 2007;55:169-73.
15. Domínguez J, De Souza-Galvão M, Ruiz-Manzano J, Latorre I, Prat C, Lacombe A, Milà C, Jiménez MA, Blanco S, Maldonado J, Altet N, Ausina V. T-cell responses to the *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens in active tuberculosis patients at the beginning, during, and after antituberculosis treatment. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009;63:43-51.
16. Blumberg HM, Burman WJ, Chaisson RE, Daley CL, Etkind SC, Friedman LN, Fujiwara P, Grzemska M, Hopewell PC, Iseman MD, Jasmer RM, Koppaka V, Menzies RI, O'Brien RJ, Reves RR, Reichman LB, Simone PM, Starke JR, Vernon AA; American Thoracic Society, Centers for Disease Control and Prevention and the Infectious Diseases Society. American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America: treatment of tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:603-62.
17. Liebeschuetz S, Bamber S, Ewer K, Deeks J, Pathan AA, Lalvani A. Diagnosis of tuberculosis in South African children with a T-cell-based assay: a prospective cohort study. *Lancet* 2004;364:2196-203.
18. Kim SH, Cho OH, Park SJ, Ye BD, Sung H, Kim MN, Lee SO, Choi SH, Woo JH, Kim YS. Diagnosis of abdominal tuberculosis by T-cell-based assays on peripheral blood and peritoneal fluid mononuclear cells. *J Infect* 2009;59:409-15.
19. Cho OH, Park SJ, Park KH, Chong YP, Sung H, Kim MN, Lee SO, Choi SH, Woo JH, Kim YS, Kim SH. Diagnostic usefulness of a T-cell-based assay for osteoarticular tuberculosis. *J Infect* 2010;61:228-34.
20. Kim SH, Cho OH, Park SJ, Lee EM, Kim MN, Lee SO, Choi SH, Kim YS, Woo JH, Lee SA, Kang JK. Rapid diagnosis of tuberculous meningitis by T cell-based assays on peripheral blood and cerebrospinal fluid mononuclear cells. *Clin Infect Dis* 2010;50:1349-58.
21. Lalvani A, Nagvenkar P, Udawadia Z, Pathan AA, Wilkinson KA, Shastri JS, Ewer K, Hill AV, Mehta A, Rodrigues C. Enumeration of T cells specific for RD1-encoded antigens suggests a high prevalence of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in healthy urban Indians. *J Infect Dis* 2001;183:469-77.
22. Adetifa IM, Ota MO, Walther B, Hammond AS, Lugos MD, Jeffries DJ, Donkor SA, Adegbola RA, Hill PC. Decay kinetics of an interferon gamma release assay with anti-tuberculosis therapy in newly diagnosed tuberculosis cases. *PLoS One* 2010;5:e12502.
23. Pathan AA, Wilkinson KA, Klenerman P, McShane H, Davidson RN, Pasvol G, Hill AV, Lalvani A. Direct ex vivo analysis of antigen-specific IFN-gamma-secreting CD4 T cells in *Mycobacterium tuberculosis*-infected individuals: associations with clinical disease state and effect of treatment. *J Immunol* 2001;167:5217-25.
24. Herrmann JL, Belloy M, Porcher R, Simonney N, Aboutaam R, Lebourgeois M, Gaudelus J, De Losangeles L, Chadelat K, Scheinmann P, Beydon N, Fauroux B, Bingen M, Terki M, Barraud D, Cruaud P, Offredo C, Ferroni A, Berche P, Moissenet D, Vuthien H, Doit C, Bingen E, Lagrange PH. Temporal dynamics of interferon gamma responses in children evaluated for tuberculosis. *PLoS One* 2009;4:e4130.
25. Nicol MP, Pienaar D, Wood K, Eley B, Wilkinson RJ, Henderson H, Smith L, Samodien S, Beatty D. Enzyme-linked immunospot assay responses to early secretory antigenic target 6, culture filtrate protein 10, and purified protein derivative among children with tuberculosis: implications for diagnosis and monitoring of therapy. *Clin Infect Dis* 2005;40:1301-8.
26. Cheng SL, Wang HC, Yang PC. Paradoxical response during anti-tuberculosis treatment in HIV-negative patients with pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007;11:1290-5.
27. van Zyl-Smit RN, Pai M, Peprah K, Meldau R, Kieck J, Juritz J, Badri M, Zumla A, Sechi LA, Bateman ED, Dheda K. Within-subject variability and boosting of T-cell interferon-gamma responses after tuberculin skin testing. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;180:49-58.
28. Naseer A, Naqvi S, Kampmann B. Evidence for boosting *Mycobacterium tuberculosis*-specific IFN-gamma responses at 6 weeks following tuberculin skin testing. *Eur Respir J* 2007;29:1282-3.
29. Igari H, Watanabe A, Sato T. Booster phenomenon of QuantiFERON-TB Gold after prior intradermal PPD injection. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007;11:788-91.
30. Vilaplana C, Ruiz-Manzano J, Gil O, Cuchillo F, Montané E, Singh M, Spallek R, Ausina V, Cardona PJ. The tuberculin skin test increases the responses measured by T cell interferon-gamma release assays. *Scand J Immunol* 2008;67:610-7.
31. Richeldi L, Ewer K, Losi M, Roversi P, Fabbri LM, Lalvani A. Repeated tuberculin testing does not induce false positive ELISPOT results. *Thorax* 2006;61:180.
32. Leyten EM, Prins C, Bossink AW, Thijsen S, Ottenhoff TH, van Dissel JT, Arend SM. Effect of tuberculin skin testing on a *Mycobacterium tuberculosis*-specific interferon-gamma assay. *Eur Respir J* 2007;29:1212-6.
33. Nguyen M, Perry S, Parsonnet J. QuantiFERON-TB predicts tuberculin skin test boosting in U.S. foreign-born. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005;9:985-91.