

Analysis of Patients with Positive Acid-fast Bacilli Culture and Negative T-SPOT.TB Results

You Mie Han, M.D.¹, Hyun Soo Kim, M.D.², Cheol Hong Kim, M.D.³, Hee Jung Kang, M.D.², and Kyu Man Lee, M.D.²

Departments of Radiology¹, Laboratory Medicine², and Internal Medicine³, Hallym University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : T-SPOT.TB is a sensitive test that detects interferon-gamma producing T-cells in tuberculosis patients following stimulation with tuberculosis-specific antigens. Our study was aimed to investigate the possible causes of false negative results of the test by analyzing the patients with positive acid-fast bacilli (AFB) culture and negative T-SPOT.TB results.

Methods : We investigated 138 patients with positive AFB culture results reported between January 2009 and April 2010. Medical records of these patients were reviewed for the results of T-SPOT.TB test, AFB culture, PCR for *Mycobacterium tuberculosis* (TB-PCR), chest X-ray, drug treatment, etc. Diagnosis of tuberculosis was confirmed by positive TB-PCR or identification of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). Sensitivity of T-SPOT.TB test was calculated and the possible causes of AFB culture positive and T-SPOT.TB negative results were analyzed.

Results : T-SPOT.TB test was performed in 63 of the 138 patients with AFB culture positive results. Fifty-six (88.9%) were positive and 7 patients (11.1%) were negative on T-SPOT.TB test. Of these 7 negative cases, 4 were confirmed as nontuberculous mycobacteria (NTM), 2 were suspected as NTM and diagnosis could not be confirmed in 1. Six of these 7 patients were over 70 yr old and 6 patients had lymphocytopenia. T-SPOT.TB negative results were not observed in any of the 44 patients confirmed to have active tuberculosis (sensitivity 100%).

Conclusions : Our results suggest that T-SPOT.TB test is very sensitive for diagnosing active tuberculosis. NTM may be the main cause of AFB culture positive and T-SPOT.TB negative results, but MTB infection in immunocompromised patients also has to be considered. (*Korean J Lab Med* 2010;30:414-9)

Key Words : Tuberculosis, Interferon-gamma, Nontuberculous mycobacteria, T-SPOT.TB, False negative

서 론

결핵의 확진은 결핵균 배양검사 등으로 환자의 검체에서 결핵균을 증명해야 하지만, 결핵균이 배출되지 않는 경우 진단이 쉽지 않아 흉부X선 등 다른 여러 가지 검사와 임상 소견을 종합하여 판단해야 한다. 이런 결핵의 보조적 진단검사로, 또한 잠복결

핵의 진단검사로 최근 결핵균 특이항원 자극 인터페론감마검사가 각광을 받고 있는데 QuantiFERON-TB Gold (Cellestis Ltd, Victoria, Australia) 검사와 T-SPOT.TB 검사(T-SPOT.TB, Oxford Immunotec Ltd, Abingdon, UK) 두 종류가 상품화되어 이용되고 있으며, 결핵피부반응검사에 비해 BCG 접종이나 비결핵항산균(nontuberculous mycobacteria, NTM)에 의한 위양성이 적은 것으로 알려져 있다[1].

T-SPOT.TB 검사는 enzyme-linked immunospot analysis (ELISPOT) 기법을 이용하며, 환자의 림프구를 분리하여 일정 수의 림프구(250,000 cells)를 microwell에 넣고 2종류의 결핵균 특이항원(ESAT-6, CFP-10)으로 자극하여 환자의 림프구에서 인터페론감마가 분비되는지를 항원 항체 반응원리를 이용하여 확인하는 검사로 결핵균 항원에 반응하는 T-림프구

Received : April 24, 2010

Revision received : June 15, 2010

Accepted : July 20, 2010

Corresponding author : Hyun Soo Kim, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Hallym University College of Medicine, 94-200 Yeongdeungpo-dong, Yeongdeungpo-gu, Seoul 150-719, Korea

Tel : +82-2-2639-5562, Fax : +82-2-2671-5270

E-mail : hskim0901@empal.com

Manuscript No : KJLM10-074

ISSN 1598-6535 © The Korean Society for Laboratory Medicine

의 대략적인 정량 측정이 가능하다. 또 다른 결핵균 특이항원 자극 인터페론감마검사법인 QuantiFERON-TB Gold와 비교하였을 때 내인성 인터페론감마의 영향을 받지 않으며, 환자의 림프구 수를 일정하게 맞추어 반응시키므로 림프구수가 저하된 면역억제환자에서 유용하고 결과의 보존이 가능하다는 장점이 있다. 그러나 검사 시간과 노력이 많이 든다는 단점을 가지고 있다[2, 3].

T-SPOT.TB 검사는 다른 결핵 진단 검사에 비해 민감도가 높은 검사이나 간혹 결핵균이 배출되는 환자에서도 음성으로 나타나는 경우가 있다[4]. QuantiFERON-TB Gold는 림프구 수에 상관없이 혈액 1 mL를 반응시키므로 HIV 환자와 같이 림프구 수가 감소된 환자에서 위음성으로 나타날 수 있으나[5], T-SPOT.TB는 림프구 수를 맞추어서 반응시키므로 림프구감소증 환자에서도 정확한 결과를 보인다는 장점이 있다.

본 연구에서는 항산균 배양 양성인면서 T-SPOT.TB 음성으로 나타나는 환자의 비율이 얼마나 되는지, 또 어떤 환자에서 항산균 배양 양성인면서 T-SPOT.TB 검사가 음성으로 나타나는지 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2009년 1월부터 2010년 4월까지 1년 4개월 동안 항산균 배양 양성인 138명의 환자 중 T-SPOT.TB 검사가 시행된 63명을 대상으로 T-SPOT.TB, 흉부 X선, PCR for *Mycobacterium tuberculosis* (TB-PCR), 결핵약제감수성검사, 결핵약 투여 여부 등 의무기록을 조사하였다. 한 환자에서 1-11회까지 항산균 배양검사가 의뢰되었으며 1번이라도 항산균 배양 양성인 경우는 대상군에 포함시켰고, 여러 번 양성인 경우는 1명으로 계산하였다. 항산균 염색만 양성이고 배양 음성인 경우는 대상군에서 제외하였다. 본원은 2009년도까지 항산균 배양검사에서 양성으로 나오는 경우 균질적으로 항산균 염색을 확인하여 양성이면 “AFB growth” 라고 보고하면서 결핵균인지 NTM인지 감별되지 않으며 결핵균 약제 감수성검사를 권유하는 문구를 결과보고서에 넣어서 보고하고 있었으므로 추후 결핵균 약제 감수성검사가 의뢰되지 않는 경우는 항산균 배양 양성(AFB growth)이 결핵균인지 NTM인지 감별이 안 되는 경우가 종종 있었다. 2010년부터는 배양된 균주로 항산균 염색과 함께 결핵균 항원 검사(SD Bioline TB Ag MPT64 Rapid, Standard Diagnostics, Inc, Yongin, Korea)를 시행하여 양성인 경우는

“*Mycobacterium tuberculosis identified*”와 함께 약제 감수성 검사를 권유하는 문구를 넣었고, 결핵균 항원 음성인 경우는 “AFB growth”와 함께 NTM의 가능성이 있으며 NTM 동정 및 감수성검사를 권유하는 문구를 넣어 보고하였다. 따라서 본 연구에서 항산균 배양 양성 환자를 3군으로 분류하였는데 항산균 배양 양성인면서 TB-PCR 양성이거나, 배양된 균으로 시행한 TB-PCR 또는 결핵균 항원 양성인 경우, 그리고 약제감수성검사에서 결핵으로 동정된 경우 결핵으로 확진하였고(TB confirmed), NTM 동정검사나 약제감수성검사를 의뢰하여 실시되는 동정검사에서 NTM으로 확인된 경우는 NTM으로 분류하였으며(NTM confirmed), 동정검사가 이루어지지 않은 나머지 경우는 미확인 항산균 배양 양성(unconfirmed AFB culture positive)으로 분류하였다.

2. 항산균 염색 및 배양, 결핵균 종합효소연쇄반응

항산균 염색은 Ziehl-Neelsen 염색법을 이용하였고 결핵배양은 고체배지(3% Ogawa)와 액체배지(BacT/ALERT MP Process, bioMerieux Inc., Durham, NC, USA)를 동시에 이용하였다. 액체 배지는 6주까지, 고체배지는 8주까지 배양하였다. 배양에서 양성으로 나온 경우는 배양액 또는 배양균으로 항산균 염색 및 결핵균 항원 검사를 실시하였다. 임상에서 항산균 배양 양성 결과를 확인하고 추가로 결핵균 약제 감수성검사나 NTM 동정 및 감수성검사를 의뢰한 경우에는 수탁 기관에 배양된 균을 보내서 결핵균인지 NTM인지를 구분하였다. 대부분의 환자에서 TB-PCR 검사가 동시에 의뢰되었고 PCR은 Artus M. tuberculosis LC PCR kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany)로 검사하였다.

3. T-SPOT.TB 검사

T-SPOT.TB 검사는 제조사의 지침대로 다음과 같이 시행하였다. 헤파린 채혈관에 혈액 8 mL를 채취하여 비중액을 이용하여 단핵구를 분리하고 250,000 cells/100 μ L로 세포부유액을 준비하였다. 항-인터페론감마 항체가 결합되어 있는 microplate의 4개 well (음성대조 well, ESAT-6 well, CFP-10 well, 양성대조 well)에 해당 시약(medium alone, ESAT-6, CFP-10, phytohemagglutinin)을 넣고 분리된 세포를 250,000개씩 넣은 후 37°C에서 16-20시간 배양하였다. 다음날 well을 세척하고, conjugate 시약과 기질을 넣어 spot을 발현시켰다. 각 well의 spot 수를 기록하고 양성/음성을 제조사의 지침에 따라 판독

하였는데 ESAT-6 또는 CFP-10을 넣은 well의 spot 수가 음성대조 well에 비해 2배 이상이면서 6개 이상의 차이를 보이는 경우 양성(reactive)으로 판정하고 이 기준보다 작을 경우는 음성(non-reactive)으로 판정하였다. ESAT-6 또는 CFP-10 중 한 쪽에서만 양성인 경우는 양성으로 판독하였다. 음성대조(Nil control) spot 수가 10개 이상이거나 양성대조 spot 수가 20개 이하일 경우는 불명확(indeterminate)으로 판정하였다.

4. 흉부 X선 및 전산단층촬영 분석

폐병변에 대해서는 경화성 병변(consolidation), 결절(nodule), 공동(cavitation), 중심소엽성 결절(centrilobular nodule), 작은 나무가지모양(tree-in-bud)의 소견이 있는 경우를 활동성 병변으로 판독하였다. 영상의학적 기준에 따라 일부 환자들에 대해 결핵 또는 NTM으로 분류하였는데 병변이 폐 상엽 뿐 아니라 중엽이나 하엽에 분포해 있으면서, 병변의 모양이 작은 결절이 주 소견이면서 기관지확장증의 소견을 동반할 때 NTM의 가능성이 높다고 판단하였고 그렇지 않은 경우는 결핵이나 NTM의 가능성이 있다고 판단하였다. 또한 의무기록을 조사하여 항결핵약 복용 유무와 임상적인 정보를 확인하였다. 항결핵약에 대한 반응은 추적 흉부 방사선영상에서 눈에 띄게 뚜렷한 차이를 보이는 경우를 약에 대한 반응이 있다고 판단하였다.

5. 결과분석

Microsoft사의 Excel 프로그램(Microsoft corporation, Redmond, WA, USA)을 이용하여 각 해당군의 도수와 비율을 구하였고 민감도 및 95% 신뢰구간은 MedCalc version 11 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium)을 이용하여 구하였다. T-SPOT.TB 양성군과 음성군에서 림프구 저하가 있는 환자수의 비율 차이는 Fisher's exact test로 비교하였으며 P 값이 0.05 미만인 경우 유의한 것으로 판단하였다.

결 과

1. 항산균 배양 양성 환자 중 T-SPOT.TB 양성률

1년 4개월 동안 항산균 배양 양성 환자 138명 중 T-SPOT.TB를 시행한 환자가 63명이었으며, 이 중 56명(88.9%)은 T-SPOT.TB 양성이고, 7명(11.1%)이 음성이었다. T-SPOT.TB 양성 56명 중 결핵 확진 환자가 44명이었고 1명은 NTM, 나머

지 11명은 균이 동정되지 않았다. T-SPOT.TB를 시행하지 않았던 환자는 75명이었다. 결핵으로 확진된 환자는 138명 중 75명이었으며 이 중 44명이 T-SPOT.TB 양성이고 T-SPOT.TB 검사 음성인 경우는 없었으며 31명은 T-SPOT.TB를 시행하지 않았다. NTM이 분리된 환자가 총 8명 있었고, 이 중 1명이 T-SPOT.TB 양성이고, 4명이 음성, 나머지 3명은 T-SPOT.TB 검사를 시행하지 않았다. 총 138명 중 55명은 배양된 균으로 PCR이나 동정검사 등 확인 검사를 하지 않아서 결핵인지 NTM인지 확인되지 않았다(Table 1).

결핵으로 확진되었으면서 T-SPOT.TB 검사를 시행한 44명은 모두 T-SPOT.TB 검사가 양성으로 나와 본 연구에서 T-SPOT.TB 검사의 민감도는 100% (44/44, 95% 신뢰구간, 92.0-100%)로 나타났다.

2. 항산균 배양 양성 환자 중 T-SPOT.TB 음성 환자들의 분석

항산균 배양 양성하면서 T-SPOT.TB 검사를 시행한 63명 중 7명의 환자에서 T-SPOT.TB가 음성이었다(Table 1, 2). 이 7명의 환자들은 1명을 제외하고는 모두 70세 이상이었고 림프구 수가 $900/\mu\text{L}$ 이하로 감소된 환자가 6명이었다(Table 2). 이에 반해 T-SPOT.TB 양성인 환자군에서는 56명 중 12명에서 림프구가 감소되어 있어 T-SPOT.TB 양성군과 음성군에서의 림프구수가 저하된 환자의 비율에서 유의한 차이가 있었다 (21.4% vs. 85.7%, $P=0.0016$). 항산균 배양 양성하면서 T-SPOT.TB 음성이었던 7명 중 4명(1, 2, 3, 7번째 환자)에서 NTM이 분리되었고 1명(4번째 환자)은 임상적으로 NTM 감염으로

Table 1. AFB culture positive patients (N=138)

Group	N of patients
TB confirmed	
T-SPOT.TB positive	44
T-SPOT.TB negative	0
T-SPOT.TB, not tested	31
NTM confirmed	
T-SPOT.TB positive	1
T-SPOT.TB negative	4
T-SPOT.TB, not tested	3
Unconfirmed AFB culture positive	
T-SPOT.TB positive	11
T-SPOT.TB negative	3
T-SPOT.TB, not tested	41
Total	138

Abbreviations: TB, tuberculosis; NTM, nontuberculous mycobacterium; AFB, acid fast bacilli.

Table 2. Clinical findings of patients with AFB culture positive and T-SPOT.TB negative results

Patient No.	Age/sex	Specimen	AFB smear	AFB culture	TB-PCR	T-SPOT.TB	X-ray CT	Leukocyte count (/uL)	Lymphocyte count (/uL)	Underlying disease	Tb Tx	TB/NTM confirmed
1	78/M	Sputum	-/-	+/-	-	-	Chronic destructive lung, traction bronchiectasis, TB or NTM, probable stabilized	14,600	600	COPD, past TB history, AMI	ND, death	NTM (<i>Mycobacterium</i> spp.)
2	24/M	Sputum	-/-	-/+	-	-	Consolidation, infected bullae pneumonia or TB (NTM)	7,590	740	Pneumonia	Done, improved	NTM (<i>M. fortuitum</i> complex)
3	71/F	BW	1+/-	+/+	-/-	-	Nodule, bronchiectasis TB or NTM, probable stabilized	7,800	800	Old CVA, cough, past TB history	Done, improved	NTM
4	72/M	Sputum	3+/-	+/+	-/-	-	Cavitary, consolidation, nodules TB or NTM, probable active	9,530	2,270	Burn, pneumonia	Done, not improved	Unconfirmed NTM probable
5	82/M	BW	-	+	-	-	Patchy consolidation, nodules TB or NTM, undetermined activity	9,880	740	Cholecystitis, pneumonia	ND	Unconfirmed
6	93/F	Sputum	-/-	-/+	-	-	Pulmonary fibrosis, consolidation R/O pneumonia	6,670	890	Congestive heart failure	ND	Unconfirmed
7	79/M	Sputum	-/-	-/+	-	-	Consolidation lobar pneumonia	17,200	516	Pneumonia	ND	NTM (<i>M. fortuitum</i> complex)

Abbreviations: AFB, acid-fast bacilli; TB, tuberculosis; NTM, nontuberculous mycobacterium; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; AMI, acute myocardial infarction; ND, not done; BW, bronchial washing; CVA, cerebro-vascular accident.

생각되었고 1명(5번째 환자)은 NTM 또는 결핵 감염의 가능성이 있었고 나머지 1명(6번째 환자)은 NTM 오염으로 생각되었다.

이 7명에 대한 임상 및 검사 소견을 Table 2에 요약하였다. 첫 번째 환자는 78세 남자로 40년 전 결핵 치료 병력이 있었던 만성 폐쇄성 폐질환 환자로 림프구수가 600/ μ L로 감소되어 있었고 항산균 염색은 3회 모두 음성, 3회 항산균 배양 중 2회 양성인 반면 NTM이 동정되어 NTM 감염으로 생각되는 환자였다. 이후 폐렴으로 사망하였다.

두 번째 환자는 폐렴이 의심되는 24세 남자로 림프구수가 740/ μ L로 감소되어 있었고, 우측 상엽에 폐경화가 있으면서 공기 액체층을 보이는 감염성 기포 또는 국소성 농흉이 있어 항생제로 치료하던 중 항산균이 확인되어 결핵 치료를 받았고, 3회의 객담 항산균 도말 검사에서 모두 음성이었고 3회 중 1회에서만 NTM 중 *Mycobacterium fortuitum* complex로 동정되었다. 이후 치료를 지속하여 추적 흉부 X선 검사에서 병변이 거의 소멸되었다.

세 번째 환자는 흉부 단층촬영에서 폐 결절과 기관지 확장증이 있었던 71세 여자 환자로 림프구수가 800/ μ L로 감소되어 있었고 2년 전에 폐결핵으로 진단 및 치료를 받았던 환자로 2번의 기관지세척액에서 항산균 도말 1회 양성(1+)이었고 2회 모두

NTM이 동정되었다. TB-PCR은 2회 모두 음성이었고 이후 결핵약 치료로 호전되었다.

네 번째 환자는 화상 환자로 우폐 상부에 공동성 경화가 있으면서 작은 결절들이 있던 72세 남자 환자로 림프구 감소증은 없었으며 수 차례의 객담 항산균 도말 및 배양 모두 양성, TB-PCR 음성이었으나 결핵 치료를 시작하였으나 1개월 후 추적 검사에서 계속하여 항산균 도말 및 배양 양성이었고 흉부 X선도 호전되지 않아 NTM 감염이 강하게 의심되는 환자였다.

다섯 번째 환자는 담낭염이 있었던 82세 남자로 림프구 수가 740/ μ L로 감소되어 있었고 흉부 CT에서 우폐 상부에 활동성 여부가 불확실한 결핵의 소견이 있었으나 1회의 기관지 세척액에서 항산균 도말 음성이면서 항산균 배양 양성, PCR 음성이었고, 결핵치료 및 추적검사가 시행되지 않아 결핵인지 NTM인지 확인되지 않았다.

여섯 번째 환자는 93세 여자 환자로 림프구가 890/ μ L로 감소되어 있었고 흉부 CT상 기존의 폐섬유화증에 동반된 양측 폐하엽 경화 소견이 있었고, 항산균 도말 음성, 항산균 배양 3회 중 1회 양성, TB-PCR 음성이면서 세균성 폐렴이 의심되어 항산균 오염으로 생각되었고 항결핵 치료는 시행하지 않았다.

일곱 번째 환자는 79세 남자 환자로 림프구가 516/ μ L로 감소

되어 있었고 폐렴이 있었는데 항산균 배양 3회 중 1회에서만 양성 있었고 *M. fortuitum* complex로 동정되어 오염의 가능성이 있었다.

고 찰

본 연구는 잠복 결핵 및 활동성 결핵의 진단 검사로 민감도가 높은 것으로 알려진 T-SPOT.TB 검사에 대해 결핵균 배양 양성 이면서 T-SPOT.TB 검사가 음성으로 나오는 경우가 있는지, 또 어떤 경우에 위음성이 나오는지 알아보고자 시행되었다. 2009년부터 1년 4개월간 항산균 배양 양성 이면서 T-SPOT.TB 음성인 7명이었는데 이 중 4명에서 NTM이 분리되었고 1명은 임상적으로 NTM 감염으로 생각되었고, 1명은 NTM 또는 결핵 감염의 가능성이 있었으며 나머지 1명은 NTM 오염으로 생각되었다. 그러므로 항산균 배양 양성 이면서 T-SPOT.TB 음성인 경우 NTM 감염이나 오염의 가능성이 높은 것으로 생각되었다.

NTM은 결핵균과 나병균을 제외한 항산균을 지칭하며 100여 종 가까운 균종이 알려져 있다[6]. NTM은 토양, 물 등 주위 환경에 흔히 존재하고 결핵균보다 병원성이 약해 면역력이 저하된 환자에서 감염을 일으키는 기회감염균으로, 때로 만성폐질환의 중요한 원인균이 되기도 한다. 따라서 객담과 기관지 세척액 등 호흡기 검체에서 NTM이 분리되었다고 해서 이것이 NTM 폐질환의 증거라고 할 수 없으며 오염균 또는 집락균과 NTM 폐질환의 구별을 위해서는 정확한 균 동정과 함께 적절한 임상적, 방사선학적, 미생물학적 기준에 따른 진단이 필요하다. 1997년 미국흉부학회에서 NTM 폐질환의 진단기준을 제시한 바 있으며, 이 기준이 최근까지 가장 널리 사용되고 있다[6]. 본 연구의 7명 환자 중 NTM 감염 진단 기준에 해당되는 경우는 1번째, 3번째, 4번째, 5번째 환자이며, 2번째, 6번째, 7번째 환자는 항산균 도말 음성이며 항산균 배양 3번 중 1회만 양성 이므로 오염으로 판단할 수 있겠다. 우리나라의 결핵균 검사 실태에 대한 연구[7]를 보면 결핵균 및 NTM까지 동정하는 기관이 적은 것으로 보고 되고 있는데, 국내 임상 검체에서 분리되는 마이코박테리아 중 NTM이 차지하는 비율이 20-30%이며[6] 결핵과 NTM의 치료가 다르다는 것을 고려해 볼 때 결핵과 NTM을 감별하는 것이 반드시 필요하다. 최근 결핵균 항원 검사 및 TB-PCR 검사가 많은 검사실에서 가능해졌으므로 가능하면 검사실에서 추가 감별 검사를 실시하는 것이 좋겠으며 여건이 되지 않을 경우 수탁기관에 균주를 보내어 동정 검사를 의뢰하는 것이 필요 하겠다.

본 연구에서는 결핵으로 확진된 환자 44명에서 모두 양성으

로 나타나 민감도 100% (44/44, 95% 신뢰구간, 92-100%)로 나타났다. 국내 환자를 대상으로 시행한 이전 연구에서도 T-SPOT.TB 검사의 민감도가 92.0%, 96.4%, 96.6%로 높게 보고된 바 있다[2, 3, 8]. T-SPOT.TB 양성인 56명 중 결핵균 배양 양성 은 44명이었고 1명은 NTM이 분리되었으며 나머지 11명은 동정검사가 이루어지지 않아 결핵인지 NTM인지 확인하지 못했는데, NTM이 배양되었다고 해서 T-SPOT.TB 검사 결과가 위양성이라고 볼 수는 없겠다. 왜냐하면 한국은 중등도의 결핵유행률을 보이는 국가이므로 위양성이라기 보다는 잠복 결핵(latent infection)의 가능성이 높으며 이전 국내 보고와 같이 치료되었거나 결핵균에 노출 경험이 있었던 환자일 수 있기 때문이다[8]. 또한 일부 NTM (*Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium szulgai*, *Mycobacterium marinum* 등)은 ESAT-6와 CFP-10 항원을 가지고 있으므로 이런 NTM의 감염 시에는 ESAT-6와 CFP-10 항원을 사용하여 환자의 림프구를 자극시키는 T-SPOT.TB나 QuantiFERON-TB Gold 검사에서 양성으로 나올 수 있다[1]. 서론에서 언급한 바와 같이 결핵균특이항원에 대한 림프구의 반응력(면역능)이 저하된 환자에서는 결핵에 감염되었더라도 T-SPOT.TB 검사가 음성으로 나타날 수 있을 것이다. 본 연구에서도 항산균 배양 양성 이면서 T-SPOT.TB 검사 음성인 7명의 환자 중 림프구 수가 감소된 환자가 6명 있었으며, 또 6명이 70세 이상의 노인 환자였다. 이는 70세 이후에서 T-SPOT.TB 양성률이 낮아지는 기존의 국내 보고[8]와 일치하는 결과로 생각되었으며, 70세 이상의 노인이나 면역력이 저하된 환자에서는 림프구 수와 기능이 같이 감소되므로[9] T-SPOT.TB 양성률이 낮아지는 원인이 될 수도 있을 것으로 해석하였다.

결론적으로 본 연구의 항산균 배양 양성 이면서 T-SPOT.TB 음성인 7명의 환자는 모두 NTM 감염 또는 오염이거나 림프구 수가 감소된 환자였으므로, 항산균 배양 양성 이면서 T-SPOT.TB 음성인 경우에는 NTM 감염 또는 오염이 많을 것이나 면역억제에 의한 위음성 또한 고려해야 할 것으로 생각되었다. 그리고 결핵균으로 확인된 44명의 결핵 환자는 모두 T-SPOT.TB 양성으로 T-SPOT.TB 검사의 민감도가 매우 높게 나타났으나 (100%, 44/44) 다른 연구에서 활동성 결핵에 대한 T-SPOT.TB의 민감도가 100%가 아니며, 면역억제자에서 위음성이 나올 수 있다고 보고된 바 있으므로 추후 더 많은 검체에서의 확인이 필요할 것으로 생각된다.

요 약

배경 : 결핵 진단용 T-SPOT.TB 검사는 환자의 림프구를 결

핵균특이항원으로 자극하여 인터페론감마가 분비되는지를 확인하는, 민감도가 높은 검사이다. 본 연구에서는 항산균 배양 양성인면서 T-SPOT.TB 음성인 경우를 분석하여 어떤 환자에서 위음성으로 나타나는지 확인하고자 하였다.

방법 : 2009년 1월에서 2010년 4월 사이에 항산균 배양 양성인 138명의 환자를 대상으로 T-SPOT.TB 검사, 항산균 배양, TB-PCR, 흉부 X선, 결핵 치료 등에 관한 의무기록을 조사하였다. 항산균 배양 양성인면서 TB-PCR 양성이거나 결핵균으로 동정된 경우 결핵으로 확진하였다. T-SPOT.TB 검사의 민감도를 구하였고, 항산균 배양 양성인면서 T-SPOT.TB 음성인 경우는 원인을 분석하였다.

결과 : 총 138명의 항산균 배양 양성 환자 중 63명의 환자에서 T-SPOT.TB 검사가 시행되었다. T-SPOT.TB 검사 양성인 56명(88.9%)이었고 음성이 7명(11.1%)이었는데 음성 7명 중 4명은 비결핵항산균(NTM)으로 확인되었고 2명은 NTM이 의심되었으며 나머지 1명은 확인되지 않았다. 또 7명 중 6명이 70세 이상의 노인 환자였으며, 6명은 림프구수가 감소되어 있었다. 활동성 결핵으로 확진된 44명 중 T-SPOT.TB 음성인 경우는 한 건도 없었다(민감도 100%).

결론 : 본 연구 결과에서 활동성 결핵 진단을 위한 T-SPOT.TB 검사의 민감도가 매우 높았으며, 항산균 배양 양성인면서 T-SPOT.TB 음성인 경우는 NTM인 경우가 많겠지만 면역억제에 의한 MTB 감염 또한 고려해야 할 것으로 생각되었다.

참고문헌

1. Lee JY and Shim TS. Diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection using ex-vivo interferon-gamma assay. *Tuberc Respir Dis* 2006; 60:497-509. (이정연 및 심태선. 체외 Interferon-gamma 검사를 이용한 결핵감염의 진단. *Tuberc Respir Dis* 2006;60:497-509.)
2. Kang YA, Lee HW, Hwang SS, Um SW, Han SK, Shim YS, et al. Usefulness of whole-blood interferon- γ assay and interferon- γ enzyme-linked immunospot assay in the diagnosis of active pulmonary tuberculosis. *Chest* 2007;132:959-65.
3. Lee JY, Choi HJ, Park IN, Hong SB, Oh YM, Lim CM, et al. Comparison of two commercial interferon-gamma assays for diagnosing *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Eur Respir J* 2006;28:24-30.
4. Liao CH, Lai CC, Tan CK, Chou CH, Hsu HL, Tasi TH, et al. False-negative results by enzyme-linked immunospot assay for interferon-gamma among patients with culture-confirmed tuberculosis. *J Infect* 2009;59:421-3.
5. Kobashi Y, Shimizu H, Ohue Y, Mouri K, Obase Y, Miyashita N, et al. False negative results of QuantiFERON TB-2G test in patients with active tuberculosis. *Jpn J Infect Dis* 2009;62:300-2.
6. Koh WJ and Kwon OJ. Diagnosis and treatment of nontuberculous mycobacterial lung disease. *Korean J Med* 2008;74:120-31. (고원중 및 권오정. 비결핵 항산균 폐질환의 진단과 치료. *Korean J Med* 2008; 74:120-31.)
7. Chang CL, Park TS, Kim MN, Lee NY, Lee HJ, Suh JT. Survey on changes in mycobacterial testing practices in Korean laboratories. *Korean J Clin Microbiol* 2001;4:108-14. (장철훈, 박태성, 김미나, 이남용, 이희주, 서진태. 국내 결핵균 검사 기관의 결핵균 검사 실태의 변화. *대한임상미생물학회지* 2001;4:108-14.)
8. Kim HS, Kim CH, Hur M, Hyun IG, Park MJ, Song W, et al. Clinical usefulness of T-SPOT.TB test for the diagnosis of tuberculosis. *Korean J Lab Med* 2010;30:171-7. (김현수, 김철홍, 허미나, 현인규, 박민정, 송원근, 박지영, 강희정, 이규만. 결핵 진단용 T-SPOT.TB의 임상적 유용성. *대한진단검사의학회지* 2010;30:501-7).
9. Provinciali M, Moresi R, Donnini A, Lisa RM. Reference values for CD4+ and CD8+ T lymphocytes with naive or memory phenotype and their association with mortality in the elderly. *Gerontology* 2009; 55:314-21.