

Clinical Usefulness of T-SPOT.TB Test for the Diagnosis of Tuberculosis

Hyun Soo Kim, M.D.¹, Cheol Hong Kim, M.D.², Mina Hur, M.D.³, In Gyu Hyun, M.D.², Min Jeong Park, M.D.¹,
Wonkeun Song, M.D.¹, Ji-Young Park, M.D.¹, Hee Jung Kang, M.D.¹, and Kyu Man Lee, M.D.¹

Departments of Laboratory Medicine¹ and Internal Medicine², Hallym University College of Medicine, Seoul;
Department of Laboratory Medicine³, Konkuk University School of Medicine, Seoul, Korea

Background : Tuberculosis-specific ELISPOT assay (T-SPOT.TB, Oxford Immunotec, UK) is a test that detects interferon-gamma producing T-cells after stimulating patient's lymphocytes with two kinds of tuberculosis-specific antigens (ESAT-6 and CFP-10). We evaluated clinical usefulness of T-SPOT.TB test in Korean adults with intermediate burden of tuberculosis and high rate of BCG vaccination at birth.

Methods : T-SPOT.TB test was performed in 79 patients and 64 healthy volunteers and these patients and volunteers were classified into four groups: group 1, patients with active tuberculosis (n=30); group 2, patients with not-active tuberculosis (n=27); group 3, patients without tuberculosis (n=24); group 4, healthy volunteers without tuberculosis history (n=62). Positive rates and average spot counts of T-SPOT.TB test were obtained among these groups.

Results : Positive rates of group 1 (96.4%) and group 2 (92.3%) were higher than those of group 3 (31.6%) and group 4 (27.4%) ($P<0.0001$). The sensitivity deduced from group 1 and specificity deduced from group 4 of T-SPOT.TB test were 96.4% and 72.6%, respectively. The average spot counts of group 1 and 2 were higher than those of group 3 and 4 ($P<0.001$). There was a tendency of increasing positive rate with increasing age. Overall agreement between T-SPOT.TB test and tuberculin skin test was 63.8% (kappa=0.29).

Conclusions : T-SPOT.TB test would be a very useful screening and supplementary test for diagnosis of tuberculosis due to its high sensitivity. However, positive results of T-SPOT.TB should be cautiously interpreted because of high positivity in treated tuberculosis patients and healthy volunteers in Korea. (*Korean J Lab Med* 2010;30:171-7)

Key Words : Tuberculosis, Interferon-gamma, ELISPOT

서론

결핵은 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*)의 감염에 의해서 발생하므로 결핵의 확진은 배양검사 등으로 환자의 검체에서

결핵균을 증명해야 한다. 그러나 결핵균이 배출되지 않는 잠복 결핵(latent infection)이나 폐외결핵, 객담배출이 어려운 소아 환자에서의 결핵 진단은 쉽지 않아 X-ray 등 다른 여러 가지 검사와 임상 소견을 종합하여 판단해야 한다. 전통적으로 투베르쿨린 검사가 잠복 결핵의 유일한 진단법이었으나 비결핵항산균 감염이나 BCG 접종에 의한 교차반응이 있으므로 국내에서와 같이 BCG 접종률이 높은 경우는 유용성이 떨어지며, 감염, 영양결핍, 림프계를 침범하는 질환에서는 위음성을 초래할 수 있다[1].

T-SPOT.TB 검사는 잠복 결핵의 진단검사로 최근(2008년)에 미국 FDA 공인을 받았으며 활동성 결핵의 진단에도 유용한 것으로 보고되고 있다. 검사방법은 enzyme-linked immunospot analysis (ELISPOT) 기법을 이용한다. 환자의 림프구를 분리하여 일정 수의 림프구(250,000 cells)를 microwell에 넣고 2종류의 결핵균특이항원(ESAT-6, CFP-10)으로 자극하여

Received : October 25, 2009 Manuscript No : KJLM09-125
Revision received : January 7, 2010
Accepted : January 18, 2010
Corresponding authors : 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

Cheol Hong Kim, M.D.
Department of Internal Medicine, Hallym University College of Medicine, 94-200 Yeongdeungpo-dong, Yeongdeungpo-gu, Seoul 150-719, Korea
Tel : +82-2-2639-5412, Fax : +82-2-2677-9756
E-mail : kimch2002@hallym.or.kr

환자의 림프구에서 인터페론감마가 분비되는지를 항원 항체 반응원리를 이용하여 확인하는 검사로 결핵균 항원에 반응하는 T-림프구의 대략적인 정량 측정이 가능하다. 투베르쿨린 검사와 비교하였을 때 대부분의 비결핵항산균이나 BCG 균주에는 없고 결핵균에만 있는 항원인 early secreted antigenic target 6-kDa (ESAT-6) 단백질과 culture filtrate protein 10 (CFP-10)을 사용하여 BCG 접종에 의한 위양성을 줄일 수 있으므로 한국과 같이 BCG 접종률이 높은 경우에 유용한 검사법으로 생각된다. 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[1, 2].

T-SPOT.TB 검사에 대한 연구는 다양한 국가에서 여러 연구자에 의해 시행되었는데 민감도는 81.8-100%로 넓은 범위에 걸쳐 보고되었으며, 대부분의 연구에서 T-SPOT.TB 검사가 QuantiFERON-TB Gold (QFT-G) 검사보다 민감도가 높은 것으로 보고되었다[2, 3]. 검사법의 민감도와 특이도는 대상 인구집단의 특성에 따라 달라질 수 있으므로 외국에서 연구된 민감도와 특이도를 국내에 적용시킬 수 있을지는 확인할 필요가 있다. 한국은 대부분의 국민이 출생 시 BCG 접종을 받고 있으며 국내 결핵 유병률은 2004년에 인구 10만 명당 65.4명이 신고되어 과거에는 결핵 유병률이 높은 국가였으나 현재는 중등도의 결핵 유병률을 보이는 국가로 분류되고 있다[4-6]. 국내 T-SPOT.TB test의 유용성에 관한 연구로 국외 학회지에 보고된 2개의 연구가 있는데 민감도는 각각 96.7%와 92%로 보고된 바 있다[2, 7]. 그러나 한 연구[7]는 환자군만을 대상으로 한 연구였으며 또 다른 연구[2]는 대조군으로 15-16세 고등학생만을 대상으로 한 연구였으므로 국내 성인에서의 T-SPOT.TB의 양성률에 대한 국내 자료는 없는 실정이다.

이에 저자들은 중등도의 결핵 유병률을 가지며 BCG 접종률이 높은 국내에서 기존 연구의 민감도를 재확인하고 국내 성인을 대상으로 T-SPOT.TB 검사의 임상적 유용성을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2008년 12월부터 2009년 4월까지 한강성심병원 진단검사의학과에 T-SPOT.TB 검사가 의뢰되었던 환자 79명과 건강한

자원자 64명을 대상으로 하였다. 본 연구는 한림대학교 한강성심병원 의학연구심의위원회(institutional review board)의 심의를 통과하였다. 모든 환자에서 결핵균 도말검사 및 배양검사, 흉부 X선 검사가 시행되었으며, 일부 환자에서는 PCR 검사나 결핵피부반응검사도 시행되었다. 자원자는 모두 자발적으로 연구에 참여한다는 동의서를 제출하였으며 설문조사와 면담을 통해 결핵 병력이나 결핵균 노출 위험도를 확인하였다. T-SPOT.TB 검사와 결핵피부반응검사, 흉부 X선, 항-HIV 검사가 시행되었으며 모든 자원자는 흉부 X선 소견 정상이었고 항-HIV 검사 음성이었다. 대상군을 미국흉부학회(American Thoracic Society, ATS) 분류를 참조하여[8] 다음과 같이 4개의 군으로 분류하였다(Table 1).

- 1군: 활동성 결핵 환자(결핵균 배양 양성 또는 결핵이 의심되어 결핵 치료를 시작한 경우)
- 2군: 비활동성 결핵 환자(과거 결핵 치료의 병력이 있거나 방사선 판독에서 과거 결핵 또는 비활동성 결핵 소견이 기술된 경우)
- 3군: 병력이 검토상 결핵으로 진단할만한 소견이 없는 환자(비결핵환자)
- 4군: 결핵 병력이 없는 건강한 자원자(4-1군, 병원근무자; 4-2군 비병원근무자)

2. T-SPOT.TB 검사

T-SPOT.TB검사(T-SPOT.TB, Oxford Immunotec Ltd, Abingdon, UK)는 제조사의 지침대로 다음과 같이 시행하였다. 헤파린 채혈관에 혈액 8 mL를 채취하여 비중액을 이용하여 단백질을 분리하고 250,000 cells/100 μ L로 세포부유액을 준비하였다. 항-인터페론감마 항체가 결합되어 있는 microplate

Table 1. Grouping of patients and healthy volunteers

| Group | Characteristics | N |
|---------|---|-----|
| Group 1 | TB, active patients | |
| | AFB culture positive | 19 |
| | Clinically suspected, anti-TB therapy | 11 |
| Group 2 | TB, not-active patients | |
| | Past TB history | 14 |
| | Old or stable TB description in radiological report | 13 |
| Group 3 | Patients without history or evidence of TB | 24 |
| Group 4 | Healthy volunteers without TB history | |
| | Group 4-1 Hospital workers | 36 |
| | Group 4-2 Non-hospital workers | 26 |
| Total | | 143 |

Abbreviation: TB, tuberculosis.

의 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 판독하였는데 ESAT-6 또는 CFP-10을 넣은 well의 spot 수가 음성대조 well에 비해 2배 이상이면 6개 이상의 차이를 보이는 경우 양성(reactive)으로 판정하고 이 기준보다 작을 경우는 음성(non-reactive)으로 판정하였다. 음성대조(Nil control) spot 수가 10개 이상이거나 양성대조 spot 수가 20개 이하일 경우는 불명확(indeterminate)으로 판정하였다. Spot 수는 2명의 판독자가 각각 판독하였으며 2명 판독자의 육안 판독, 확대경 판독, ELISPOT 판독기(CTL-ImmunoSpot S4 analyzer, Cellular Technology Ltd, Shaker Heights, OH, USA) 결과를 종합하여 최종적으로 spot 수를 결정하였다.

3. 결핵피부반응검사(투베르쿨린 검사)

투베르쿨린 검사는 2TU PPD RT23 (Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark)를 피내 주사하는 Mantoux법을 이용하였고 48-72시간 사이에 경결의 크기를 측정하여 10 mm 이상인 경우 양성으로 판정하였다.

4. 결과 분석

Microsoft사의 Excel 프로그램(Microsoft corporation,

Redmond, WA, USA)을 이용하여 각 해당 군의 도수와 양성률을 구하였고, 민감도와 특이도, 95% 신뢰구간은 MedCalc version 11 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium)를 이용하여 구하였다. ESAT-6 또는 CFP-10 중 한 쪽에서만 양성인 경우는 양성으로 판독하였다. 각 군별 양성률 차이는 카이제곱 검증을 하였고 각 군별 spot수의 평균과 표준편차를 구하고 각 군별 spot수 차이는 ANOVA (Analysis of Variance)를 시행하였다. *P*값이 0.05 미만인 경우 유의한 것으로 판단하였다. 결핵피부반응검사와 T-SPOT.TB 결과의 총 일치율, 양성일치율, 음성일치율을 2×2 table을 작성하여 계산하였으며[9] Cohen's kappa (k)를 구하여 k치가 0.75 이상이면 매우 높은 일치율, 0.40-0.75면 중등도의 일치율, 0.40 이하면 일치율이 좋지 않은 것으로 판단하였다[10].

결 과

1. 각 군에서 T-SPOT.TB 양성률

자원자 중 2명이 결핵 치료를 받았던 과거력이 있으므로 이 2명을 건강한 자원자군(4군)이 아닌 비활동성결핵환자군(2군)으로 분류하였다. 총 143명 중 8명(5.6%)에서 불명확 결과(indeterminate)를 보여 이 결과는 분석에서 제외하였는데, 불명확한 결과를 보인 대상은 2군 2명, 3군 1명, 4군 5명이었고 모두 음성대조에서 10개 이상의 spot을 보였다.

ESAT-6 또는 CFP-10 항원 중 한 항원에만 양성을 보이는 환자는 총 24명(17.8%)이 있었으며 ESAT-6만 양성인 환자가 12명, CFP-10만 양성인 환자가 12명이었다. 이 중 활동성 결핵

Table 2. Positive rate and diagnostic validity of T-SPOT.TB test in the different groups of patients and healthy volunteers

| Group | N | Sex (M:F) | Age (yr) Mean (SD) | T-SPOT.TB positive | T-SPOT.TB negative | Positive rate |
|--------------------------------------|-----|-----------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|---------------|
| Group 1 | 28 | 20:8 | 54.2 (18.4) | 27 | 1 | 96.4% |
| Group 2 | 26 | 18:8 | 56.4 (15.8) | 24 | 2 | 92.3% |
| Group 3 | 19 | 14:5 | 60.0 (17.4) | 6 | 13 | 31.6% |
| Group 4 | 62 | 30:32 | 30.2 (7.8) | 17 | 45 | 27.4% |
| Group 4-1 | 36 | 11:25 | 31.7 (8.6) | 13 | 23 | 36.1% |
| Group 4-2 | 26 | 19:7 | 28.1 (5.9) | 4 | 22 | 15.4% |
| Total | 135 | 82:53 | 46.7 (18.2) | 74 | 61 | 54.8% |
| Sensitivity deduced from group 1 | | | | 96.4% (95% CI: 81.6-99.9) | | |
| Sensitivity deduced from group 1 & 2 | | | | 94.4% (95% CI: 84.6-98.8) | | |
| Specificity deduced from group 3 & 4 | | | | 71.6% (95% CI: 60.6-81.1) | | |
| Specificity deduced from group 4 | | | | 72.6% (95% CI: 59.7-83.2) | | |
| Specificity deduced from group 4-2 | | | | 84.6% (95% CI: 68.8-97.5) | | |

Group 1, 2, 3, 4: See Table 1.

Abbreviations: SD, standard deviation; CI, confidence interval.

환자군(1군)에 속하는 7명은 모두 CFP-10만 양성으로 나타났고($P<0.05$) 다른 군(2-4군)에서는 ESAT-6와 CFP-10 항원의 양성률에서 유의한 차이가 없었다.

각 군별 T-SPOT.TB 양성률은 Table 2에 나타내었다. 활동성 결핵 환자, 비활동성 결핵 환자에서의 T-SPOT.TB 양성률은 각각 96.4%, 92.3%로 높았으나, 비결핵 환자군과 건강한 자원자군에서의 양성률은 31.6%, 27.4%로 낮았다($P<0.0001$). 활동성 결핵 환자군은 결핵균 배양 양성 환자와 결핵이 의심되어 결핵 치료를 시작한 환자가 모두 포함되었으므로 결핵균 배양 양성 환자만을 대상으로 T-SPOT.TB 검사의 양성률은 94.7% (18/19)로 나타났다. 결핵 배양 양성인면서 T-SPOT.TB 음성을 보인 환자가 1명 있었는데 73세 남자 환자로 다른 원인으로 내원하였다가 흉부 X선에서 결핵이 의심되는 소견이 있어 기관지경 검사 후 기관지세척액에서 결핵균이 검출된 경우였다. 건강한 자원자를 병원근무자와 비병원근무자로 분류했을 경우 병원근무자의 양성률이 36.1%였고, 비병원근무자는 15.4%로 낮았으나 통계적으로 유의한 차이를 보이지 못했다. 활동성 결핵 환자군(group 1)으로부터 계산된 민감도는 96.4%, 활동성 및 비활동성 결핵환자군(group 1 & 2)으로부터 계산된 민감도는 94.4%, 비결핵 환자군과 자원자군(group 3 & 4)으로부터 계산된 특이도는 71.6%, 건강한 자원자군(group 4)으로부터 계산된 특이도는 72.6%, 건강한 자원자이면서 비병원근무자군(group 4-2)으로부터 계산된 특이도는 84.6%이었다.

폐외결핵인 환자는 총 143명 중 7명 있었는데 이 중 5명(1군 2명, 결핵성 척수염 1명, 결핵성 복막염 1명; 2군 3명, 결핵성 수막염 1명, 결핵성 심장막염 1명, 결핵성 흉막염 1명)은 T-SPOT.TB 결과 양성을 보였다. 결핵성 수막염과 결핵성 흉막염을 각각 보인 나머지 2명(2군)은 불명확 결과로 판정되어 본 연구에서 폐외결핵 환자가 음성으로 판정된 경우는 없었다.

Table 3. Positive rate of T-SPOT.TB test according to the age

| Age | N (Total) | T-SPOT.TB positive | Positive rate | N (Group 3,4) | T-SPOT.TB positive | Positive rate |
|-------|-----------|--------------------|---------------|---------------|--------------------|---------------|
| 20-30 | 44 | 12 | 27.3% | 40 | 8 | 20.0% |
| 31-40 | 25 | 12 | 48.0% | 17 | 4 | 23.5% |
| 41-50 | 21 | 17 | 81.0% | 10 | 6 | 60.0% |
| 51-60 | 14 | 12 | 85.7% | 5 | 4 | 80.0% |
| 61-70 | 11 | 10 | 90.9% | 1 | 0 | 0.0% |
| >70 | 20 | 11 | 55.0% | 8 | 1 | 12.5% |
| Total | 135 | 74 | 54.8% | 81 | 23 | 28.4% |
| P | | | <0.0001 | | | 0.013 |

Group 3, 4: See Table 1.

2. 연령에 따른 T-SPOT.TB의 양성률

T-SPOT.TB의 양성률이 연령에 따라 차이가 있는지를 보기 위해서 대상군을 연령대별로 분류하고 양성률을 구하였다(Table 3). 연령이 가장 적은 20대의 양성률이 27.3%로 가장 낮았으며 연령이 증가할수록 양성률이 높아져 60대가 90.9%로 가장 높은 양성률을 보였고 71세 이상은 55.0%로 오히려 감소하였다($P<0.001$). 각 군에 결핵환자가 얼마나 포함되었느냐에 따라 양성률이 달라질 수 있으므로 비결핵 환자군(3군)과 건강한 자원자군(4군)만을 대상으로 연령에 따른 양성률을 Table 3 우측에 표시하였다. 마찬가지로 연령 증가에 따라 양성률이 증가하다가 61세 이상에서 감소하는 양상을 보였다($P<0.05$).

3. 각 군에서 spot 수

각 군에서 ESAT-6, CFP-10 항원 자극 후 spot을 형성하는 세포 수의 분포를 Fig. 1에 나타내었다. 각 군의 평균 spot 수 비교 및 그래프 산출을 위해 spot수가 200 이상인 경우는 '200'으로 기록하였으며 ESAT-6 well 또는 CFP-10 well 중 spot수가 많은 쪽을 선택하여 기록하였다. 활동성 결핵환자군(1군, 96.7 ± 73.3)과 비활동성 결핵 환자군(2군, 83.8 ± 73.9)의 평균 spot 수가, 비결핵 환자군(3군, 14.2 ± 12.0)이나 건강한 자원자군(4군, 18.4 ± 38.2 , 병원근무자 21.1 ± 36.6 , 비병원근무자 14.6 ± 40.7)보다 유의하게 높았다($P<0.001$). 건강한 자원자군 중 병원근무자와 비병원근무자 간에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

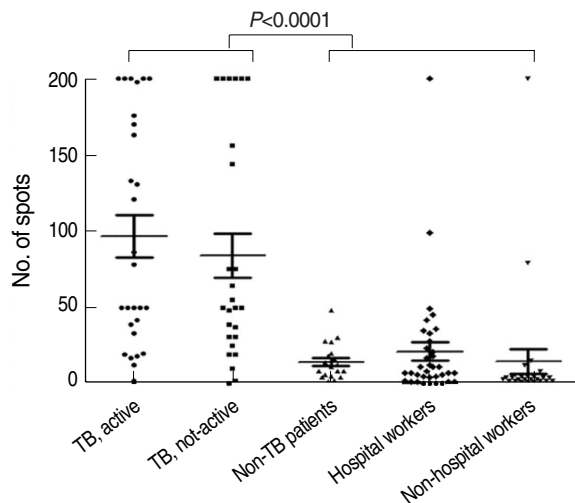


Fig. 1. The number of spot-forming cells of T-SPOT.TB test in the different groups of patients and healthy volunteers.

Table 4. Comparison of T-SPOT.TB test with tuberculin skin test (TST)

| | TST (+) | TST (-) | Total |
|-------------------|---------------------------------------|---------|-------|
| T-SPOT.TB (+) | 29 | 8 | 37 |
| T-SPOT.TB (-) | 22 | 24 | 46 |
| Total | 51 | 32 | 83 |
| Overall agreement | 63.9% (95% CI: 52.6-74.1), kappa=0.29 | | |
| PPA | 56.9% (95% CI: 43.2-70.7) | | |
| NPA | 75.0% (95% CI: 56.6-88.5) | | |

TST positive: ≥ 10 mm

Abbreviations: PPA, positive percent agreement; NPA, negative percent agreement; CI, confidence interval.

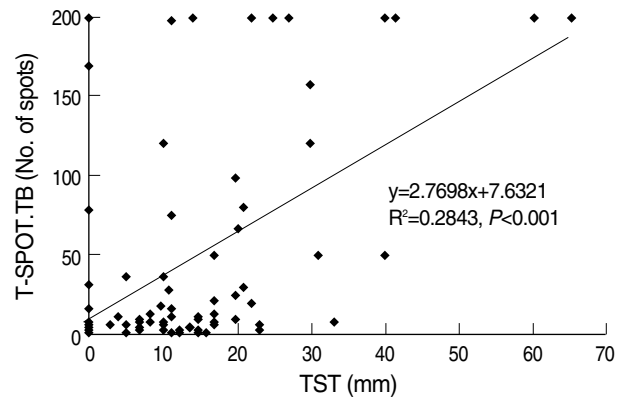
또한 spot수가 50 이상인 사람은 1군 67.9%, 2군 57.7%로 높은 비율을 차지하는 반면에 3군은 없었고(0%) 4군은 4명(6.5%)이었다. 1군 활동성 결핵환자 중 spot 수가 50 미만이면서 양성인 경우가 총 8건이었는데 결핵균이 처음으로 배양된 초기 결핵환자가 2건, 결핵균이 배양되지 않은 경우로는 X-ray에서 결핵이 의심되어 치료를 시작한 경우가 2건, 조직검사로 진단된 경우 2건, 결핵성 수막염 1건, 속립성 결핵 1건이었다. 한편 과거에 폐결핵으로 진단되어 치료받았다는 환자는 모두 18명이었으며 1명은 불명확, 2명은 음성, spot 수 50 미만의 양성 3명, spot 수 50 이상 12명으로 66.7% (12/18)에서 spot 수 50 이상을 보였다.

4. 결핵피부반응검사와 T-SPOT.TB와의 일치율

27명의 환자와 56명의 자원자에서 결핵피부반응검사(TST) 결과가 있었는데, T-SPOT.TB 검사 결과와의 일치/불일치 정도를 Table 4에 나타내었다. 전체적으로 TST의 양성률이 61.4% (51/83)로 T-SPOT.TB 44.5% (37/83)보다 높았다. T-SPOT.TB 검사와 TST와의 총 일치율은 63.9% (95% confidence interval [CI]: 52.6-74.1)로 검사법 간의 일치율이 낮은 것으로 나타났다($k=0.29$). T-SPOT.TB의 TST에 대한 양성일치율은 56.9% (95% CI: 42.3-70.7)였고 음성일치율은 75.0% (95% CI: 56.6-88.5)였다. 결핵피부반응검사 양성이고 T-SPOT.TB 음성인 환자가 22명이었고, 결핵피부반응검사 음성, T-SPOT.TB 양성 환자가 8명이었는데 이 중 3명은 결핵으로 확진된 환자였다. 두 검사의 정량적인 관계를 Fig. 2에 나타내었다.

고 찰

본 연구는 중등도의 결핵 유병률을 보이는 국내에서 T-SPOT.

**Fig. 2.** Correlation of tuberculin skin test (TST) results with T-SPOT.TB results in patients and healthy volunteers.

TB 검사의 유용성을 알아보려고 시행되었다. 활동성 결핵환자군, 비활동성 결핵환자군, 비결핵 환자군, 건강한 자원자군에서 T-SPOT.TB 검사의 양성률은 각각 96.4%, 92.3%, 31.6%, 27.4%이었으며 따라서 민감도 96.4%, 특이도 72.6%로 나타났다. T-SPOT.TB 검사의 민감도 96.4%는 국내 폐결핵 환자를 대상으로 한 다른 두 연구의 민감도(96.6%, 92.0%)와 비슷한 결과이므로[2, 7] 한국인에서 T-SPOT.TB 검사는 결핵균 배양 검사 등에 비해 민감도가 높은 검사로 생각되었다. T-SPOT.TB 검사의 특이도는 연구에 따라 다양하게 보고되었는데 이는 대상군의 특성과 유병률의 차이로 생각되었다. 본 연구에서는 특이도 72.6%로, 기존 연구[2]인 15-16세 한국 고등학생을 대상으로 구한 특이도 84.7%에 비해 다소 낮게 나타났다. 그러나 본 연구에서도 건강한 자원자이면서 병원에 근무하지 않는 사람을 대상으로 하면 특이도가 84.6%로 계산되므로 한국인을 대상으로 한 두 연구 결과에서 매우 유사한 특이도를 보여주었다고 할 수 있겠다. 한편 T-SPOT.TB 검사의 특이도를 47%로 보고한 국내의 한 연구[7]는 비결핵 환자군으로부터 계산된 특이도였으므로 본 연구에서도 비결핵 환자군(3군)으로부터 특이도를 구해보면 68.4%로 특이도가 더 낮게 나타나게 된다. 또한 유병률에 따라서 특이도가 달라질 수 있는데 유병률이 낮은 인구집단에서는 특이도가 높으나, 유병률이 높은 집단에서는 결핵이 아닌 대상군을 선택할 때 잠복 결핵 환자가 포함될 가능성이 많으므로 특이도가 낮게 나타날 수 있다. 한국은 과거에 결핵 유병률이 높았었고 현재도 중등도의 유병률을 보이고 있으므로 유병률이 낮은 미국이나 유럽에 비하여 검사의 특이도가 낮게 나타난 것으로 생각된다. 현재까지의 검사법으로는 결핵결핵균에 감염되었으나 발병하지 않은 잠복 결핵과 결핵균에 노출된 경험은 있으나 체내에 결핵균이 없는 상태를 구분할 수 없으므로, 즉 결핵으로 결핵균이 체내에 존재하는 것을 확인할 수 있는 방

법이 없으므로 어떤 검사법이든 결핵 진단용 검사법의 정확한 민감도와 특이도를 구할 수는 없는 실정이다.

본 연구에서 불명확 결과를 보인 8명(5.6%)은 모두 음성대조에서 10개 이상의 spot을 보였다. QuantiFERON-TB의 단점으로 지적되는 불명확 결과는 대부분 림프구 수가 저하된 면역억제자에서 양성대조가 양성으로 나타나지 않은 경우가 많은데 [2] T-SPOT.TB는 림프구 수가 감소된 면역억제자의 경우도 림프구 수를 맞추어 넣어주므로 양성대조는 양성으로 잘 나타나며 오히려 비특이 반응으로 음성 대조 well에서 10개 이상의 spot을 보이는 경우가 많은 것으로 생각되었다.

본 연구에서 밝혀진 새로운 점으로 첫째, 환자군에서만뿐만 아니라 치료되었거나 비활동성 결핵 환자에서도 T-SPOT.TB의 양성률이 매우 높은 것을 확인하였다. 국외 연구결과에서 치료 후 시간 경과에 따라 T-SPOT.TB 결과가 음전된다는 보고도 있었으나 [3] 중등도의 유병률을 보이는 국내의 상황에서는 결핵균에 지속적으로 노출될 확률이 높으므로 결핵균항원에 반응하는 T세포가 감소되어 결과가 음전되기는 어려운 것으로 생각되었다. 따라서 국내에서 T-SPOT.TB 양성 결과는 치료가 필요한 활동성 결핵과 치료가 필요하지 않은 치료된 결핵이나 잠복 결핵 등을 구분하지 못하므로 문진, 결핵균 도말 및 배양 결과, PCR, X-ray 등의 소견을 종합해서 판단해야 하겠다. 둘째로 연령에 따른 T-SPOT.TB 양성률을 구했다는 점을 들 수 있다. 본 연구에서 연령 증가에 따라 T-SPOT.TB 양성률이 증가하다가 60세 이후에서는 오히려 감소하는 양상을 보였다. 대상군의 연령이 증가함에 따라 결핵환자비율(1군, 2군)이 증가하였으므로 각 연령대에서 결핵환자를 제외시키고 T-SPOT.TB의 양성률을 구하였는데, 마찬가지로 연령 증가에 따라 T-SPOT.TB 양성률이 증가하다가 60세 이후에 감소하는 것으로 나타났다. 이는 높은 결핵 유병률로 인해 연령 증가에 따라 그 동안 결핵균에 노출되었을 확률이 증가하므로 양성률이 증가하며, 60세 이후 노인에서는 림프구 수와 기능이 감소되어 [11] T-SPOT.TB 양성률이 낮아지는 것으로 해석하였다. 셋째로 결핵 유병률이 중등도인 국내 인구집단에서 국내 성인을 대상으로 양성률을 구했으며 결핵 노출 위험이 높은 군과 낮은 군으로 분류하였을 때 결핵 노출 위험이 높은 군에서 비록 통계학적인 차이는 없었으나 양성률이 더 높고 spot수도 많은 경향이 있음을 보여주었다.

각 군에서의 spot수 분포를 Fig. 1에 나타내었는데 활동성 결핵환자와 비활동성 결핵 환자군에서는 평균 spot 수가 결핵이 아닌 군에 비해서 높게 나타났으며, spot수가 50이 넘는 경우가 활동성 결핵 환자군에서 67.9%, 비활동성 결핵 환자군에서 57.7%으로, 비결핵 환자군(0%)이나 자원자군(6.5%)에 비해 많

은 비율을 차지하였다. 하지만 건강한 자원자 중 4명에서 spot 수가 50 이상으로 나타났으므로 spot수가 많다고 결핵으로 진단하기는 어려운 것으로 생각되었다

본 연구에서 T-SPOT.TB 검사와 결핵피부반응검사와의 일치율은 63.9% ($k=0.29$)로 낮게 나타났다. 결핵피부반응검사 양성이고 T-SPOT.TB 음성인 환자가 22명이었는데 결핵피부반응검사가 비항산성결핵이나 BCG 접종에 의해서도 양성으로 나타나기 때문에 결핵피부반응검사의 위양성이 많을 것으로 해석하였다. 또한 결핵피부반응검사 음성이고 T-SPOT.TB가 양성이었던 경우가 8명이 있었는데 불일치를 보이는 두 검사 중 어느 검사가 정확한지는 알 수 없었으나 이 중 3명은 결핵으로 확진된 환자였으므로 피부반응검사가 위음성인 것으로 판명되었다. 국내 한 연구에서 T-SPOT.TB와 QuantiFERON-TB gold의 일치율은 우수하였으나($k=0.58$), T-SPOT.TB와 결핵피부반응검사와의 일치율은 본 연구와 마찬가지로 낮은 것으로($k=0.27$) 보고한 바 있다 [7].

결론적으로 T-SPOT.TB 검사는 결핵 감염의 진단에 있어 민감도가 높아 결핵의 선별 검사나 보조 검사로 유용하게 사용될 것으로 기대되었으며, 특히 폐외결핵, 객담배출이 어려운 소아 결핵, 림프구 수가 저하된 면역억제자의 경우에 유용할 것으로 생각되었다. 그러나 치료된 환자에서의 양성률이 높고, 건강한 자원자나 비결핵 환자군에서도 양성률이 높으며, 연령에 따라 양성률이 증가하는 경향이 있고, 결핵균이 체내에 존재하는 잠복 결핵과 결핵균이 없어진 결핵 노출 경험을 구분하지 못하므로 양성 결과의 해석 시 이런 점을 고려하여 판단하여야 할 것이다.

요 약

배경 : 결핵 진단용 ELISPOT 검사(T-SPOT.TB, Oxford Immunotec, UK)는 환자의 림프구를 2종류의 결핵균특이항원(ESAT-6, CFP-10)으로 자극하여 인터페론감마가 분비되는지를 확인하는 검사이다. 본 연구에서는 중등도의 결핵 유병률을 가지며 BCG 접종률이 높은 국내 성인을 대상으로 T-SPOT.TB 검사의 임상적 유용성을 알아보고자 하였다.

방법 : T-SPOT.TB 검사가 의뢰되었던 환자 79명과 건강한 자원자 64명에서 T-SPOT.TB 검사가 시행되었다. 대상군을 활동성 결핵 환자(1군, 30명), 비활동성 결핵 환자(2군, 27명), 비결핵 환자(3군, 24명), 결핵병력이 없는 건강한 자원자(4군, 62명)의 4군으로 분류하였고, 각 군에서의 T-SPOT.TB 검사의 양성률과 결핵균특이항원에 반응하는 평균 림프구 수(spot 수)를 조사하였다.

결과 : T-SPOT.TB의 양성률은 1군(96.4%)과 2군(92.3%)에서 3군(31.4%)과 4군(27.4%)에 비해 유의하게 높았다($P<0.0001$). 1군과 4군으로부터 구한 T-SPOT.TB 검사의 민감도와 특이도는 96.4%, 72.6%였다. 1군과 2군의 평균 spot 수는 3군과 4군에서보다 유의하게 높았다($P<0.001$). 연령이 증가할수록 T-SPOT.TB의 양성률이 높아지는 경향이 있었으며 결핵피부반응과 T-SPOT.TB의 총 일치율은 63.8% ($k=0.29$)였다.

결론 : T-SPOT.TB 검사는 결핵 감염의 진단에 있어 민감도가 높아 결핵의 선별 검사나 보조 검사로 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 치료된 환자나 건강한 자원자에서도 양성률이 높으므로 양성 결과의 해석 시 이런 점을 고려하여야 하겠다.

감 사

본 연구를 위해 기술적 도움을 주신 이윤경 선생과 검사실 관계자 분들, 시약을 제공해주신 (주)경일하이텍 관계자 분들, 그리고 연구에 참여해주신 자원자 분들께 감사드립니다.

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. *결핵 및 호흡기질환* 2006;60:497-509.)
2. 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.
3. Domínguez J, De Souza-Galvão M, Ruiz-Manzano J, Latorre I, Prat C, Lacoma A, et al. 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.
4. Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V, Raviglione MC. Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. *JAMA* 1999;282:677-86.
5. World Health Organization. Tuberculosis. <http://www.who.int/tb> (Updated on 2009).
6. Kang YA, Lee HW, Yoon HI, Cho B, Han SK, Shim YS, et al. Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. *JAMA* 2005;293:2756-61.
7. 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.
8. American Thoracic Society. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. This official statement of the American Thoracic Society and the Centers for Disease Control and Prevention was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. This statement was endorsed by the Council of the Infectious Disease Society of America, September 1999. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1376-95.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. User protocol for evaluation of qualitative test performance; Approved guideline-Second edition. CLSI document EP12-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
10. Linnet K and Boyd JC. Selection and analytical evaluation of methods-with statistical technique. In: Burtis CA, Ashwood ER, et al., eds. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. 4th ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2006:367-8.
11. Provinciali M, Moresi R, Donnini A, Lisa RM. Reference values for CD4+ and CD8+ T lymphocytes with naïve or memory phenotype and their association with mortality in the elderly. *Gerontology* 2009; 55:314-21.