

小中学校における定期健診での結核健診

森 亨*

要 旨

学校 BCG 接種の廃止に連動してツベルクリン反応検査を利用する小中学校の結核健診が廃止された。代わって問診を中心に一般定期健診の結核関連項目を拡充する形でリスク個人のふるい分けが行われるようになった。この制度は、同時に地域の結核対策との連携、学校職員の結核管理の強化、患者発生時の適切な対応などとの調整のなかで生かされるべきである。学童生徒の結核の動向を慎重に見守っていくなかで、今後の健診のあり方を考える必要がある。

I. 制度の成立まで

1999年7月の「結核緊急事態宣言」を受けて厚生省（現厚生労働省）は結核対策の抜本的な見直しを検討し始め、2000年には「結核緊急実態調査」を実施、2001年7月には厚生科学審議会に結核対策の見直しを諮問した。その結果、2002年3月に「包括的な結核対策の見直しに関する提言」が同審議会から出され、また一部の問題点に関して2002年6月に「合同委員会報告」として追加的な見解が出された。学校保健に関する部分を見ると、小中学校入学時（および一部小中学2学年時）のBCG接種が廃止され、それに付随して行われるツベルクリン反応検査も廃止、そしてその結果を利用して行われていた「個別精密検診」も廃止とされた。

つまり、今後の学校における結核対策は予防接種や健康診断にたよるのではなく、①地域の

結核対策のなかで学校を守る（学校に結核感染を持ち込まない）、②万が一学校で患者が発生したら十分な蔓延拡大防止方策を実施する、③教職員の結核予防を徹底する、という条件の下で、いわば間接的に子どもたちを守る方針に転換したといえる。

しかし現実には急に学校のなかで結核対策活動がみえなくなることに関係者の間から不安の声が上がったため、文部科学省は急遽「学校における結核対策に関する協力者会議」（主査：森亨）を設置し方針を検討した。その結果、健診に関しては、学校の一般定期健診のなかに結核関連項目を取り入れ、これによってハイリスク者をふるい分けし、保健所の関与のもとに精密検査を行うこととした。その具体的な方法については学校保健会が「結核対策研究小委員会」（委員長：平山宗宏）を設け検討を行った。このようにして、2003年度から新体制に入った（表1）。

* Toru MORI 結核予防会結核研究所

[連絡先] ☎ 204-8533 東京都清瀬市松山 3-1-24 結核予防会結核研究所

表1 学校保健における結核対策の流れ

1974	BCG接種の定期化、間接撮影の大幅間引き（小1、中2のみに接種・撮影） BCG接種対象を「陰性」のみに限定、ツベルクリン反応判定方法も簡素化 化学予防の枠を中学生年齢までに引き上げ
1982	健診対象を高校生では1年生のみに、中学生では2年生から1年生に
1992	心臓検診の胸部間接撮影を廃止
1992	小1、中1の胸部間接撮影を廃止、ツベルクリン反応強陽性者への個別精密検査に
1992	BCG接種（ツベルクリン反応検査も）が義務から努力義務に ツベルクリン反応検査の判定基準改定（疑陽性廃止、学校では翌年度から）
2003	BCG接種・ツベルクリン反応検査の全廃、新たな健診制度へ

この体制には当初から批判や疑問がかなりあった。もっとも厳しいのが、いまの日本における子どもの疫学的状況で学校での結核に関するスクリーニングを実施することの意義を問うものである。次いでその方法にわたる批判で、たとえば呼吸器症状に関する問診とその扱い、内科診察（打聴診）によるふるい分けなどはとくに問題とされた。しかし、BCG接種やツベルクリン反応検査全廃後の学校関係者の不安や衝撃を緩和することがこの制度の当初の目的における重要な要素であり、それを果たしつつできるだけ子どもたちに負担のかからない方法を、という模索をした結果がこれだった。

II. 小中学校における結核管理の体系

次に健康診断を含めて同時に決められた小中学校における結核管理の体系を「結核健診マニュアル」からみてみる¹²⁾(図1)。健康診断そのものよりも、それがこのような体系のなかで行われるべきものであるという認識は非常に重要である。

1. 基本的な考え方

従来は予防接種および定期健康診断を中心とした対策であったが、ツベルクリン反応検査およびBCG再接種の廃止を踏まえ、今後は、①児童生徒への感染防止、②感染者および発病者の

早期発見・早期治療、③患者発生時の対応、の3方向からの対策を充実・強化することによる多面的な対策への転換が必要となる。また、その際、④学校保健と地域保健の連携を強化していく必要がある。

2. 児童生徒への感染防止対策

① 地域における結核流行状況および児童生徒のBCGの接種状況の把握と教育活動への適切な反映、教職員の健康診断の徹底（注：2005年4月からの新たな結核対策でも、学校職員は他の職種とは異なり、定期結核健診を受ける義務があることが定められた）

② 感染者および発病者の早期発見・早期治療対策

- ・定期健康診断（図1）：問診を行い、対象者を絞り込んで精密検査などを実施。問診は、全学年に対し実施。内科検診の充実
- ・結核に関する健康相談の実施
- ・結核に関する正しい知識の普及啓発：結核を疑わせる症状がある場合には、早期に医療機関を受診するよう普及啓発

③ 患者発生時の対応

- ・出席停止の措置の適切な実施
- ・接触者検診への協力、必要に応じ、臨時健康診断を実施

④ 地域と連携した結核対策の検討：結核の発生状況には大きな地域差があること、感染防止のために情報を収集し提供することや、患者発生時の速やかな対応を考える必要があること

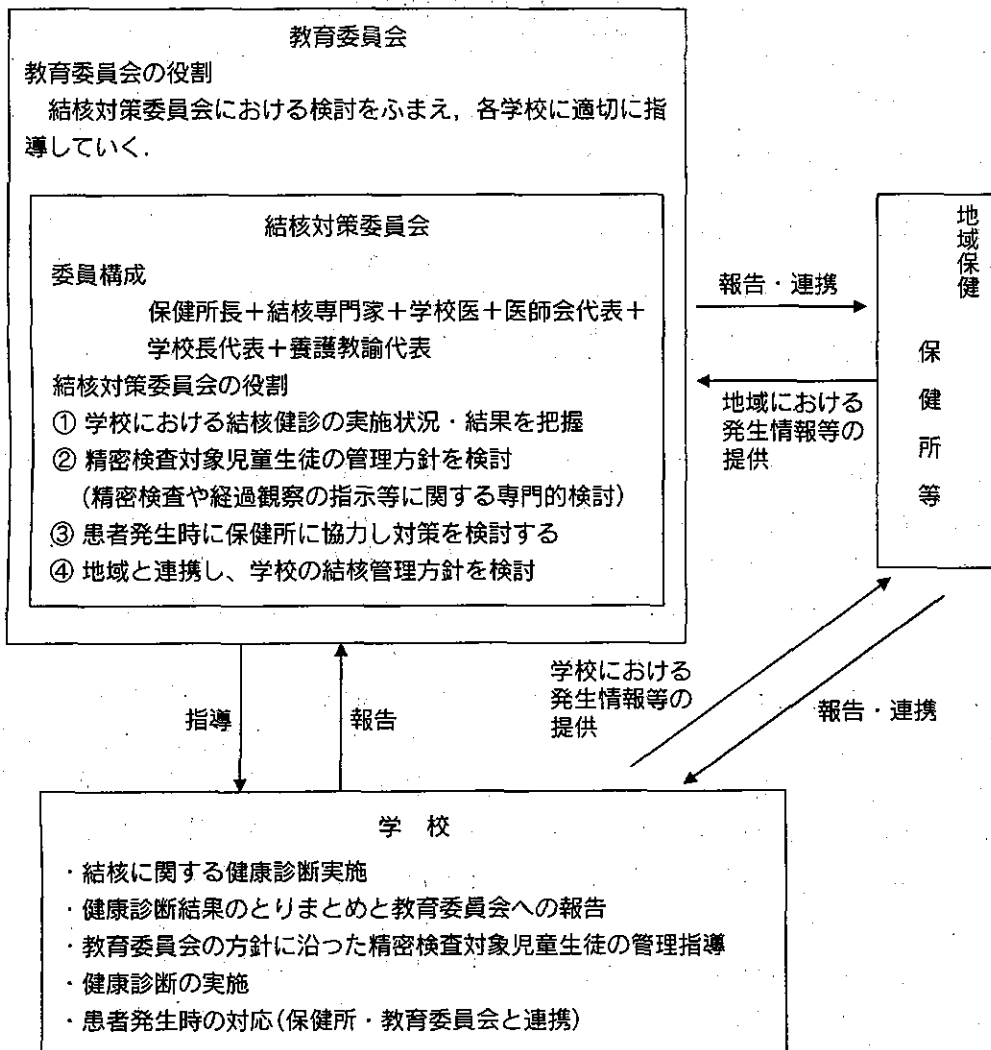


図1 学校における結核対策の概念図 (文部科学省：結核健診マニュアル¹⁾)

などから、今後は、学校単位ではなく、地域保健と連携し、地域として結核対策を考えていく必要がある。そのため、各教育委員会などにおいては、保健所、結核の専門家、学校医などの協力を得て、地域における学校の結核管理方針を検討することが必要であり、また、必要に応じ委員会(結核対策委員会)を設けるなどして、十分に連携を図ることが重要である。

III. 健康診断と精密検査対象の決定

上記のようにまず問診を行う。内容は以下の

とおりである(文部科学省原案、自治体によって改編あり)。

- ① このお子様が、いままでに結核性の病気(例、肺浸潤、胸膜炎またはろくまく炎、頸部リンパ腺結核)にかかったことがありますか?
- ② このお子様が、いままでに結核に感染を受けたとして予防のお薬を飲んだことがありますか?
- ③ このお子様が、生まれてから家族や同居人で結核にかかった人がいますか?
- ④ このお子様が、過去3年以内に通算して半年以上、外国に住んでいたことがありますか?
(ア) それはどこの国ですか?

⑤ このお子さまは、この2週間以上「せき」や「たん」が続いていますか？

(ア) このお子さまは、その「せき」や「たん」で医療機関において、治療や検査を受けていますか？

(イ) このお子さまは、ぜんそく、ぜんそく性気管支炎などといわれていますか？

⑥ このお子さまは、いままでBCGの接種(スタンプ式の予防接種)をうけたことがありますか？

(ア) それはどうしてですか？

これらの質問設定の基礎になった考え方は以下のとおりである。

①② 本人の結核・化学予防の既往歴：0～4歳、5～9歳における近年のマル初(化学予防)の罹患率に基づいて、6歳児、12歳児について累積罹患率を2001年について計算すると、それぞれ0.13%、0.24%となった。1998～2001年の東京都近郊の小中学校1学年生徒(延べそれぞれ14,970人、14,384人)について、ツベルクリン反応検査に伴って行った問診票調査によれば、化学予防の既往ありの者は、それぞれ11人(0.073%)、26人(0.181%)であった。

③ 家族の結核罹患歴(たとえば、過去2年以内)：おおざっぱな推定によれば6歳児、12歳児の父母、祖父母の過去2年間の結核罹患率は人口10万対447(0.45%)、550(0.55%)程度である。東京都近郊の小中学校での上記の調査によれば、「過去2年間に家族が結核に罹患した」と回答した者は、小学校1年生7人(0.047%)、中学校1年生4人(0.028%)であり、推定罹患率よりもかなり低い申告状況であった。

④ 結核高蔓延国居住歴：「高蔓延国」とは日本よりも明らかに結核が蔓延している国として、WHOが毎年発表している塗抹陽性肺結核推定罹患率が日本よりも3倍以上の国を想定している。2003年度健診に際しては、アフリカ全域、アフガニスタン、インド、インドネシア、

カンボジア、タイ、ネパール、パキスタン、バングラデシュ、フィリピン、ベトナム、ペルー、ボリビア、ミャンマーなどが含まれた。この国は毎年少しずつ変わる。

⑤ 自覚症状(咳や痰が2週間以上)：参考のため「大気汚染健康影響継続観察調査報告書(環境庁、1986～1991年)」による、いくつかの地域における小学生(1～6年生)の質問紙調査において、「慢性の咳、痰」の頻度(「年に3カ月以上毎日のように(週4回以上)咳が出ますか」、「年に3カ月以上毎日のように(週4回以上)胸がゼロゼロしたり、痰がでることがありますか」に該当する者をみた(喘息・喘鳴症状有症者を除く)。この有症状率は1～6年生でそれぞれ0.4%、0.6%であった。ただし学校間のばらつきも大きく、レンジはそれぞれ1.0～0.0%、1.6%～0.0%であった。明瞭な学年間の差はなかった。

補問(ア)は主治医の診療を重視し、また(イ)は喘息性気管支炎のための慢性呼吸器症状を除外するためである。

⑥ BCG接種歴：入学時にBCG接種を廃止したことに関連して乳幼児期の接種状況を把握することを主目的とし、未接種者がツベルクリン反応陽性によるものである場合には結核リスク要因としてチェックされる。1998～2000年の乳幼児期BCG接種率の推定値は97.3%(地域保健・成人保健事業報告)、これから未接種者は2.7%と推定される。未接種者には接種が行われるわけではない。

続いて行われる内科診察では上記問診票、とくに呼吸器症状の項を参照しつつ、症状がある場合にはそれが急性上気道炎や喘息によるものかどうかを診察する。

問診の①～③で「はい」、④で国が該当、⑤で結核が否定しがたい、⑥でツベルクリン反応陽性のため未接種、という児童生徒については、「要検討」として対策委員会にまわされ、精密検査を指示すべきか否かが検討される。これが学

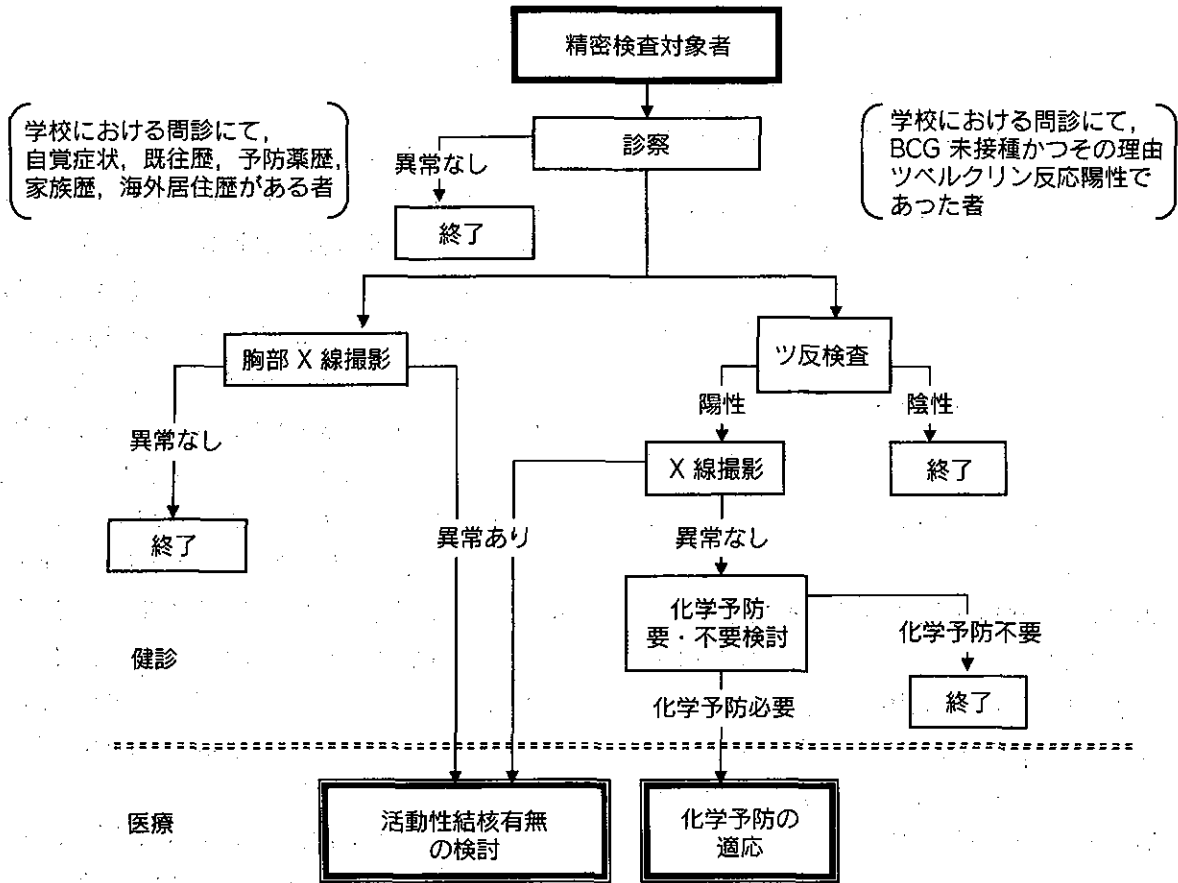


図2 精密検査の実施方法 (文部科学省：結核健診マニュアル)

校医だけの判断で行われないのは、学校医の心理的負担を軽くするため、また地域の結核発生情報を持ち、対策に重く与っている保健所に関与してもらうためである。検討委員会では、要検討者の過去の記録（「昨年要精検で異常がなかった」、「既往歴が旧学年以前からのものがあった」、など）、保健所での接触者健診などの結果（これについては保健所の結核登録者の個人情報として扱いは十分注意が必要であるとして、各保健所でそれぞれに配慮されているようである）などを参考に検討が行われ、精密検査対象が決定される。

IV. 精密検査の実施

精密検査の手順は自治体や実施医療機関に

よっても違うであろうが、基本的な流れは以下のように想定されている（図2）。対象者にはまず、問診・内科診察を行う。この時点で、自覚症状のために精密検査にまわされた者で、問診票調査からそれまでの間に主治医の診療を受けたり、症状が消失した者はこれで精密検査終了としてよい。

まだ未受診であるとか、症状が持続している者、または既往歴、予防投薬歴、家族歴、海外居住歴のため精密検査対象となった者については続いて胸部 X 線撮影を行う。これで結核を疑わせる所見がなければ精密検査は終了、結核を疑わせる所見があれば、各機関においてその後の方針を検討する。

BCG 未接種でかつその理由がツベルクリン反応陽性であったため、精密検査の対象となった者については、診察後、まずツベルクリン反

表2 要検討指示の状況

(調査対象：8都道府県 小学生 1,525,960人 中学生 730,019人)

		要検討とされた者の割合		
		問診により (問診済み者中%)	診察により (診察済み者中%)	在籍者中率
小学校	1年生(再)	4.4%	1.8%	3.0%
	総数	2.8%	1.1%	1.7%
中学校	1年生(再)	2.4%	0.9%	1.5%
	総数	2.4%	0.9%	1.5%
総数		2.6%	1.0%	1.7%

(2003年度文部科学省調査³⁾)

応検査を行い、陰性であれば精密検査は終了とし、陽性の者については胸部X線検査を行う。そこで結核または初感染結核(最近の感染)を疑わせる所見がなければ化学予防の必要性を検討し、所見があれば各医療機関において、通常の診療としてその後の方針を検討する。

教育委員会は精密検査の実施状況と成績を把握し、定められた様式(精密検査受験理由・精密検査結果報告)にまとめ、結核対策委員会で評価・精度管理を行うこととしている。

V. 学校健診の実施状況

従来の方式で発見される結核患者数は、5~14歳新登録肺結核患者の37%、同マル初例の36%に相当し、小児結核のかなりを発見していたことになる(2002年)。しかし、今後そのためだけにツベルクリン反応検査を全員に実施する体制を維持するとなると、その極端に低い効率(患者発見率は小学1年生で0.34/10万、中1で同1.0)が問題になる。同時に、それによる過剰な「発見」(活動性結核やマル初の過剰診断、とくに後者は診断手段の制約から致し方ないといえ現実でも相当な数にのぼるであろうと思われる)というデメリットとのバランスを考える必要も出てくる。

それでは新しい制度ではどのようなになった

か。文部科学省は全国から8都道府県の協力を得て、これらの地域の小中学校において2003年度に行われた結核健診について調査を行った³⁾。これは全国の約1/5の児童生徒に相当し、全国の平均的な傾向として参考になると思われるのでここに引用する。

まず問診・診察で要検討とされた者は全体で1.7%(これは当初の予想をかなり上回った)、小中学生の間には全体としての差はないが、小学校1年生は3.0%と高い。指示の理由別にみると問診から2.6%、診察から1.0%で、これもともに小学1年生で高い(表2)。

次に精密検査についてみると(表3)、精密検査を受けた者は在籍者の0.52%、これも小学1年生が1.04%と高い。要検討となった者の31%が精密検査となっており、検討委員会が予想以上に厳密に絞り込みをしていることが知られる。精密検査の理由は29%が自覚症状によるものであり、この割合は小学1年生は低く、中学生がやや高い。最終的な所見で「要医療」となった者(大部分が化学予防例である)は1.0/10万であり、これは明らかに小学1年生(3.5)が高く、中学生(0.3)で低い。BCG未接種からのツベルクリン反応検査の結果が影響していると思われる。

このように行われた健診の最終結果として、全国の小中学生の結核患者登録成績を実施前の2002年と、実施後の2003年とで比較した(表

表3 精密検査の実施状況、実施理由、結果

		精密検査済み者		精密検査の理由				精密検査で 要医療 在籍者10万対
		対在籍者 率	要検討者中 割合	自覚症状により		その他の理由		
				構成	問診済み者中 %	構成	問診済み者中 %	
小学校	1年生(再)	1.04%	34.8%	18.9%	0.20%	77.4%	0.81%	3.5
	総数	0.53%	30.5%	27.2%	0.15%	69.6%	0.37%	1.4
中学校	1年生(再)	0.50%	32.7%	29.3%	0.15%	68.2%	0.34%	0.4
	総数	0.48%	32.5%	32.0%	0.16%	65.9%	0.32%	0.3
総数		0.52%	31.1%	28.7%	0.15%	68.5%	0.36%	1.0

(2003年度文部科学省調査³⁾)

表4 小中学生からの患者発生状況・発見方法別(2002年・2003年の比較)

		学校健診	家族健診	その他*	医療機関	総数
2002年	肺結核	18	12	2	17	49
	肺外結核	3	8	2	14	27
	総数	21	20	4	31	76
	(別) マル初	936	764	493	12	2,205
2003年	肺結核	7	17	1	14	39
	肺外結核	0	4	1	5	10
	総数	7	21	2	19	49
	(別) マル初	102	701	296	13	1,112

*：その他の定期外健診、個別健診、その他の健診などを含む。

4). 活動性結核は、実施前は小中学生年齢では18人が学校健診で発見されていたが、新制度により7人に、またマル初は936人から102人ともに減少した。この変化が他の発見方法に影響しているか否かをみると、接触者健診は不変、医療機関発見は減少していた(学校健診から医療機関に紹介された者が「医療機関発見」とされており、これが少なくなったのかもしれない)。しかし、いずれにせよ、発見患者数の減少は予想されたとおりであり、それが他に深刻な影響を与えている証拠はない。

このような観察は学校健診とともにBCG接種制度の変化の影響としても今後慎重に観察を続けていく必要がある。またそのような知見がある程度蓄積されてくれば、学校の結核対策とくに健康診断のあり方についてより合理的な対

応が自信をもってできるようになると考える。同時にこれには2005年4月に施行される改正結核予防法による新しい予防体系が小児や学校をどのように守れるかにもかかっており、IIで述べたような面に関して保健所や市町村がここ数年どのように取り組むかが注目される。

文 献

- 1) 文部科学省スポーツ・青少年学校健康教育課：定期健康診断における結核健診マニュアル，2002
- 2) 森 亨(監修)，増山英則，桜山豊夫：学校の結核健診マニュアルとその解説。結核予防会，2003
- 3) 文部科学省：平成15年度小中学校における結核健診の実施状況に関する調査，2004

Specific Detection of Tuberculosis Infection

An Interferon- γ -based Assay Using New Antigens

Toru Mori, Mitsunori Sakatani, Fumio Yamagishi, Tetsuya Takashima, Yoshiko Kawabe, Keiji Nagao, Eriko Shigeto, Nobuyuki Harada, Satoshi Mitarai, Masaji Okada, Katsuhiko Suzuki, Yoshikazu Inoue, Kazunari Tsuyuguchi, Yuka Sasaki, Gerald H. Mazurek, and Izuo Tsuyuguchi

Research Institute of Tuberculosis and National Tokyo Hospital, Tokyo; National Kinki Chuo Hospital for Chest Diseases and Osaka Prefectural Habikino Hospital, Osaka; National Chiba Higashi Hospital and Chiba University School of Medicine, Chiba; and National Hiroshima Hospital, Hiroshima, Japan; and Centers for Disease Control and Prevention and Emory University School of Medicine, Atlanta, Georgia

Reprinted from American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine
Vol. 170, No. 1, July 2004, pp. 59-64

The tuberculin skin test for immunologic diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection has many limitations, including being confounded by bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccination or exposure to nontuberculous mycobacteria. *M. tuberculosis*-specific antigens that are absent from BCG and most nontuberculous mycobacteria have been identified. We examined the use of two of these antigens, CFP-10 and ESAT-6, in a whole blood IFN- γ assay as a diagnostic test for tuberculosis in BCG-vaccinated individuals. Because of the lack of an accurate standard with which to compare new tests for *M. tuberculosis* infection, specificity of the whole blood IFN- γ assay was estimated on the basis of data from people with no identified risk for *M. tuberculosis* exposure (216 BCG-vaccinated Japanese adults) and sensitivity was estimated on the basis of data from 118 patients with culture-confirmed *M. tuberculosis* infection who had received less than 1 week of treatment. Using a combination of CFP-10 and ESAT-6 responses, the specificity of the test for the low-risk group was 98.1% and the sensitivity for patients with *M. tuberculosis* infection was 89.0%. The results demonstrate that the whole blood IFN- γ assay using CFP-10 and ESAT-6 was highly specific and sensitive for *M. tuberculosis* infection and was unaffected by BCG vaccination status.

Keywords: bacillus Calmette-Guérin; diagnostics; infection; IFN- γ ; tuberculosis

Tuberculosis continues to be a heavy burden on human health, with the World Health Organization estimating that one-third of the world's population is infected with *Mycobacterium tuberculosis* (1). Detection and treatment of latent tuberculosis infection are important measures in the fight against this epidemic, especially in industrialized countries. The tuberculin skin test (TST) has been the only practical means of detecting latent *M. tuberculosis* infection in the past century. Unfortunately, the TST suffers from a number of well-documented performance and logistic problems, the most serious being false-positive responses due to reactivity caused either by infection with nontuberculous mycobacteria (NTM), or by bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccination (2, 3).

An *in vitro* whole blood test that detects *M. tuberculosis* infection by measuring IFN- γ responses to tuberculin purified

protein derivative (PPD) was approved in the United States. Although this assay may be less affected by BCG vaccination than the TST (3), it is falsely positive in some BCG-vaccinated individuals (4) as many PPD antigens are similar or identical to antigens in BCG and NTM. Parts of the *M. tuberculosis* genome that are absent from the genomes of all BCG substrains and most NTM have been identified (5). These *M. tuberculosis*-specific regions encode a number of proteins including CFP-10 and ESAT-6. Cell-mediated responses to these antigens have been shown to correlate with both proven *M. tuberculosis* infection and a high risk of infection (4, 5-10). The application of CFP-10 and ESAT-6 to the whole blood IFN- γ assay should allow specific and sensitive diagnosis of *M. tuberculosis* infection in a relatively simple test format.

Thus, the aim of this study was to estimate the specificity and sensitivity of a whole blood IFN- γ assay employing CFP-10 and ESAT-6, for the detection of *M. tuberculosis* infection in a predominantly BCG-vaccinated population. Estimates of sensitivity and specificity of tests for *M. tuberculosis* infection are hampered by the lack of a "gold standard"; one cannot prove the presence or absence of latent tuberculosis (TB) infection. In this study, sensitivity was determined in untreated patients with culture-proven tuberculosis, which although definitive for active tuberculosis requires extrapolation to equate to latent tuberculosis infection. Specificity was estimated in a group of BCG-vaccinated individuals with no known risks for *M. tuberculosis* exposure.

METHODS

Participants

Patients and student nurses consenting to the study were enrolled in Tokyo (National Tokyo Hospital, Fukujji Hospital, and Japan Anti-Tuberculosis Association), Osaka (National Kinki Chuo Hospital and Osaka Prefectural Habikino Hospital), Chiba (National Chiba Higashi Hospital; and Nursing College, Chiba University), Miyazaki (Miyazaki Prefectural Nursing University), and Hiroshima (National Hiroshima Hospital), Japan after the protocol was approved by each institution's ethics review committee. Subjects were enrolled into one of two groups: Group 1 consisted of student nurses (older than 17 years of age) who were enrolled at the beginning of their training and had no identified risk for *M. tuberculosis* exposure; and Group 2 consisted of patients clinically suspected to have active tuberculosis and who had received less than 1 week of antituberculosis treatment.

After giving written consent, subjects were asked to complete a questionnaire about possible risk factors for exposure to *M. tuberculosis*. For low-risk subjects enrolled into Group 1, data were collected on their country of birth, history of prior tuberculosis or exposure to a person with tuberculosis, and other tuberculosis risk factors such as having an immunosuppressive condition (i.e., human immunodeficiency virus [HIV], leukemia, lymphoma, diabetes mellitus, or renal failure) or having taken immune suppressive drugs in the 3 months before enrollment. Information regarding any previous Mantoux TST results and BCG vaccination status was also collected. For patients recruited into Group 2, information on their clinical symptoms of active tuberculosis and chest

(Received in original form February 10, 2004; accepted in final form March 26, 2004)

Supported by the Research Project of Emerging and Re-emerging Diseases, Ministry of Health, Labor, and Welfare, Japan (a Study for the Development of New Tuberculosis Control Strategy); Nichirei Corporation, Tokyo, Japan; and Cellestis R&D Pty. Ltd., Melbourne, Australia.

Correspondence and requests for reprints should be addressed to Toru Mori, M.D., Ph.D., Research Institute of Tuberculosis, 3-1-24 Matsuyama, Kiyose, Tokyo 204-8533, Japan. E-mail: tmori@jata.or.jp

Am J Respir Crit Care Med Vol 170, pp 59-64, 2004
Originally Published In Press as DOI: 10.1164/rccm.200402-1790C on April 1, 2004
Internet address: www.atsjournals.org

X-ray findings were collected at the time of enrollment. Sputum or other appropriate nonrespiratory samples were collected from Group 2 patients and cultured for mycobacteria.

Sample Collection and TST

A heparinized blood sample was collected for the whole blood IFN- γ assay from each subject by venipuncture. Blood was collected before administration of Mantoux TSTs when the latter test was performed. For the TST, 0.1 ml of tuberculin PPD (Nippon BCG Manufacturing, Tokyo, Japan; equivalent to about 3 TU of PPD-S) was injected intradermally into the volar aspect of the forearm and transverse induration diameter was measured 48 hours later.

M. tuberculosis-specific Antigens

Pools of overlapping peptides representing CFP-10 and ESAT-6 were used as TB-specific antigens in the whole blood IFN- γ assay. The sequence of six peptides representing CFP-10 and of seven peptides representing ESAT-6 are shown in Table 1. Peptides, manufactured by either Mimotopes (Clayton, Australia) or Schafer-N (Copenhagen, Denmark), were at least 79% pure as determined by HPLC analysis. Peptides were solubilized in phosphate-buffered saline and aliquots (10 μ g/ml for each peptide) were stored at -70°C , before use in the whole blood IFN- γ assay.

Whole Blood IFN- γ Assay

The whole blood IFN- γ assay (QuantiFERON [QFT]; Cellestis, Carnegie, Australia) involves two stages: (1) overnight incubation of whole blood with antigens and (2) measurement of IFN- γ production in harvested plasma samples by ELISA. Within 12 hours of collection, 1-ml aliquots of blood samples were dispensed into 24-well tissue culture plates and antigens were added to appropriate wells. Three drops of saline (nil control) or phytohemagglutinin (5 μ g/ml; mitogen-positive control), and 100 μ l of ESAT-6 or CFP-10 peptide cocktail, were added to separate wells to give a final peptide concentration of 1 μ g/ml. Blood samples were incubated with antigens for 16 to 24 hours at 37°C before harvesting about 300 μ l of plasma from above the settled blood cells.

The concentration of IFN- γ in the four plasma samples from each subject was determined by QuantiFERON-CMI ELISA as per the manufacturer's instructions. This ELISA is reported by the manufacturer to have a limit of detection of 0.05 IU/ml for IFN- γ . Samples from up to 16 subjects were tested in each ELISA run, which also included a set of standards that were measured in duplicate. For an ELISA run to be valid, strict performance criteria (coefficient of variation less than 15% and correlation coefficient for the standard curve greater than 0.98) had to be met. ELISA data for the *M. tuberculosis*-specific antigens CFP-10 and ESAT-6 and the nil and mitogen controls were converted to international units per milliliter on the basis of the IFN- γ standard curve generated for each ELISA plate. For an individual's test to be deemed valid, their response to at least one antigen (ESAT-6, CFP-10, or mitogen) had to be at least 0.25 IU of

IFN- γ per milliliter above that of their nil control (five times the limit of detection for the ELISA). Results for ESAT-6 and CFP-10 are expressed as the concentration of IFN- γ detected minus the concentration of IFN- γ in the respective nil control plasma.

Statistical Analysis

Information from the questionnaires, TST results, and whole blood IFN- γ assay results was entered into Excel 2000 (Microsoft, Redmond, WA) and transferred to Stata version 7.0 (Stata, College Station, TX) for statistical analysis. Analysis consisted of *t* tests for differences in means based on logarithmic transformation of the IFN- γ measurements, χ^2 test for testing difference in proportions, exact binomial methods to compute confidence intervals for proportions, and maximum-likelihood logistic regression to estimate the strength of the relation between age and response to the whole blood IFN- γ assay and the TST.

RESULTS

Subjects were enrolled into the study over a 4-month period from July to October 2002. There were 216 people with no identified risk for *M. tuberculosis* exposure enrolled into Group 1 and 152 tuberculosis suspects enrolled into Group 2. The mean age for Group 1 subjects was 20 years (range, 18–33 years) and for Group 2, 54 years (range, 13–86 years; age was not recorded for eight people). Group 1 subjects were predominantly female (92.7%), whereas Group 2 subjects were predominantly male (66.4%). No subjects in Group 1 reported any history of contact with patients with tuberculosis or of working in any health care setting.

The majority of Group 1 subjects had last been screened with the TST when entering junior high school, 6 years before the current study. None of these subjects reported having an immunosuppressive condition such as HIV, leukemia, lymphoma, diabetes mellitus, or renal failure; and none reported having taken immune-suppressive drugs in the 3 months before enrollment. TST results were available for 113 of the 216 Group 1 subjects; of them, 97 (85.8%) had an induration 5 mm or more, 73 (64.6%) had an induration 10 mm or more, and 36 (31.9%) had an induration 15 mm or more. Thus, taking 10-mm induration as the cutoff, the specificity of tuberculin skin testing was 35.4%. The mean age and its standard error of those without TST were 19.5 years and 0.266, which compared with those with TST (19.2 and 0.238, respectively). All Group 1 subjects reported having received BCG vaccination at least once by the time of graduation from junior high school.

Of the 152 TB suspects in Group 2, 119 were proven to have *M. tuberculosis* infection (and active tuberculosis) by culture of the organism from sputum or other bodily samples. Sputum acid-fast smear results were available for only 78 of the 119 persons with culture-proven tuberculosis, as one hospital did not report smear results. Sixty-eight of 78 patients had positive smears. One person, whose culture was positive for *M. tuberculosis*, had an indeterminate QFT result due to insufficient IFN- γ production in response to the mitogen or TB-specific antigens. Results from this person were omitted from further analysis. *M. tuberculosis* was recovered from pleural fluid of four Group 2 subjects and from sputum of 114 subjects. All TB suspects had received less than 7 days of antituberculous chemotherapy at the time of testing; 95 (80.5%) had received none. TST results were available for 76 of the 118 evaluable Group 2 subjects; 50 of these (65.8%) displayed an induration of 5 mm or greater. The patients who had TST results had a mean age (\pm standard error) of 54.7 ± 2.3 years, compared with 51.7 ± 3.6 years for those in whom skin tests were not performed ($p = 0.74$). Both groups had a similar sex distribution (65 and 66% males, respectively; $p = 0.96$) and a similar percentage of patients with positive sputum acid-fast smears (92 and 82%, respectively; $p = 0.17$).

TABLE 1. AMINO ACID SEQUENCES OF OVERLAPPING PEPTIDES FOR ESAT-6 AND CFP-10

Antigen	Amino Acid Sequence
CFP-10	
Peptide 1	MAEMKTDAAATLAQEAGNFERISGDL
Peptide 2	GNFERISGDLKTQIDQVESTAGSLQ
Peptide 3	DQVESTAGSLQGQWRGAAGTAAQAAV
Peptide 4	AAGTAAQAAVRFQEAANKQKQELD
Peptide 5	AANKQKQELDEISTNIRQAGVQYSR
Peptide 6	IRQAGVQYSRADEEQQALSSQMGF
ESAT-6	
Peptide 1	MTEQQWNFAGIEAASAIQ
Peptide 2	GIEAASAIQGNVTSI
Peptide 3	SAIQGNVTSIHSLLDEGKQSLTKLA
Peptide 4	EGKQSLTKLAAWGGSGSEAYQGVQ
Peptide 5	SGSEAYQGVQKWDATATELNALQ
Peptide 6	TATELNALQNLARTISEAGQAMAS
Peptide 7	NLARTISEAGQAMASTEYVTGMFA

No patients self-reported to be seropositive for HIV, undergoing hemodialysis, currently being treated with corticosteroids, or known to have a malignant disease. There were four patients with diabetes mellitus. There were 33 people in Group 2 whose cultures were negative for *M. tuberculosis* despite symptoms and suspicion of active tuberculosis; *Mycobacterium avium* complex (MAC) organisms were recovered from 5 of these people; *Mycobacterium kansasii* was recovered from 3; and 25 had negative culture results for mycobacteria.

Response to Specific Antigens

All IFN- γ ELISA runs met the specified performance criteria and were deemed valid. The range of responses in the whole blood IFN- γ assay for subjects in each study group are shown in Figure 1. Patients with culture-proven tuberculosis had a significantly higher mean IFN- γ response than did low-risk Group 1 subjects for both CFP-10 (geometric means being 0.657 and 0.010 IU/ml, respectively; $p < 0.001$) and ESAT-6 (1.330 and 0.003 IU/ml, respectively; $p < 0.001$).

Table 2 shows test specificities and sensitivities for CFP-10 and ESAT-6 at various cutoff concentrations. To estimate specificity, all 216 subjects in Group 1 were assumed not to be infected with *M. tuberculosis*. To estimate sensitivity, only QFT results from the 118 Group 2 subjects for whom *M. tuberculosis* infection was confirmed by culture were used. To ascertain appropriate cutoffs for the ESAT-6 and CFP-10 antigens, receiver operating characteristic analysis was performed, based on data from Group 1 individuals for specificity and Group 2 patients with culture-confirmed *M. tuberculosis* infection for sensitivity. Receiver operating characteristic analysis was performed with data from these subjects and confirmed that 0.35 IU/ml was an appropriate cutoff for both CFP-10 and ESAT-6. This cutoff was chosen to maximize specificity without significant loss of test sensitivity. Using this cutoff, the specificities (with 95% confidence intervals) for CFP-10 and ESAT-6 were 98.6% (96.0 to 99.7%; $n = 213$, data for CFP-10 were unavailable for three people because of insufficient blood being collected) and 99.5% (97.5 to 100.0%; $n = 216$), respectively, and the sensitivities were 65.3% (55.9 to 73.8%) and 81.4% (73.1 to 87.9%), respectively. If the data from CFP-10 and ESAT-6 were combined such that a person positive to at least one of the two antigens is judged as test positive, a sensitivity of 89.0% (81.9 to 94.0%) and a specificity of 98.1% (95.3 to 99.5%; $n = 213$) were obtained.

Test results were positive in 60 (88%) of 68 patients with positive sputum acid-fast smears and 6 (60%) of 10 patients with negative smears ($p = 0.07$).

Data for the 33 people in Group 2 whose cultures were negative for *M. tuberculosis* despite symptoms and suspicion of active tuberculosis are shown in Figure 1C. For the 25 tuberculosis suspects from whom mycobacteria were not recovered, 56% (14) were positive to either CFP-10 or ESAT-6 in the whole blood IFN- γ assay, a significantly smaller proportion as compared with those with culture-confirmed *M. tuberculosis* infection (89%; χ^2 test, $p = 0.0001$). The whole blood IFN- γ assay with either antigen was positive for all three patients from whom *M. kansasii* was recovered. For one of the five patients from whom MAC was recovered, the CFP-10 response was positive (IFN- γ , 7.5 IU/ml).

To examine the effect of age on sensitivity of the whole blood IFN- γ assay and the TST, data from the 110 patients with confirmed tuberculosis, and whose ages were recorded, were stratified as shown in Table 3. Logistic regression analyses were used to estimate the associations between age and QFT response, and between age and TST response. On average, persons were 0.83 times as likely to have a positive QFT and 0.71 times as likely to have a positive TST, compared with persons 10 years younger. The 95% confidence interval for the former odds ratio was 0.56 to 1.23, with decline being not statistically significant ($p = 0.35$), and that for the latter was 0.53 to 0.94, with a statistically significant decline ($p = 0.015$).

DISCUSSION

The current study demonstrates a high degree of accuracy in detecting *M. tuberculosis* infection, using the whole blood IFN- γ assay with the *M. tuberculosis*-specific proteins CFP-10 and ESAT-6. The assay was shown to be highly specific (greater than 98%) in BCG-vaccinated low-risk subjects (Group 1) assumed to be truly free of *M. tuberculosis* infection. Specificity of the whole blood IFN- γ assay was much better than the specificity observed for the TST in the present study (35.4%, using a 10-mm induration cutoff), or previously reported for Japan (10%) (11). Although we assumed that none of the Group 1 subjects were infected with *M. tuberculosis*, it is probable that some of the 216 subjects had been infected, as the prevalence of *M. tuberculosis* infection in 20-year-old people in Japan is estimated at 1% (12).

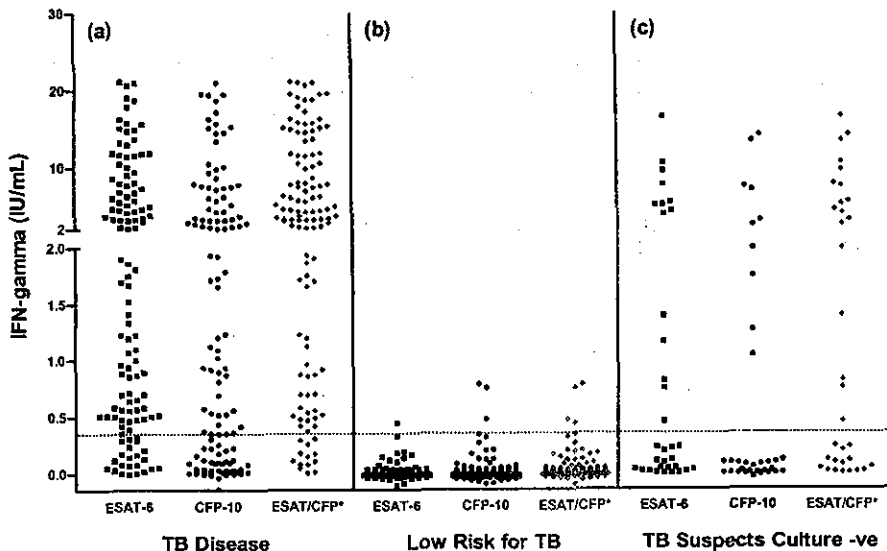


Figure 1. Dot plot of individual responses to CFP-10 and ESAT-6 for 118 culture-positive patients with tuberculosis (TB) (a), 213 subjects with a low risk for TB exposure (b), and 33 TB suspects whose TB status could not be determined, as *Mycobacterium tuberculosis* could not be cultured (c). *For "ESAT/CFP" the data for the antigen (ESAT-6 or CFP-10) giving the highest response is shown. The dashed line represents the cutoff of 0.35 IU/ml for IFN- γ .

TABLE 2. TEST SENSITIVITY AND SPECIFICITY FOR CFP-10 AND ESAT-6 AT VARIOUS CUTOFFS IN WHOLE-BLOOD IFN- γ ASSAY

Cutoff, IFN- γ (IU/ml)	CFP-10		ESAT-6		CFP-10 and/or ESAT-6	
	Specificity (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Sensitivity (%)
0.05	92.5	81.4	94.8	94.9	89.4	97.5
0.10	94.4	77.1	96.2	90.7	92.0	95.8
0.15	95.8	72.9	97.6	88.1	93.9	93.2
0.20	96.7	71.2	99.1	86.4	96.2	91.5
0.25	97.2	67.8	99.1	84.7	96.7	91.5
0.30	97.7	66.9	99.1	83.1	97.2	89.8
0.35	98.6	65.3	99.5	81.4	98.1	89.0
0.40	98.6	61.9	99.5	79.7	98.1	88.1
0.45	98.6	60.2	100.0	78.8	98.6	86.4
0.50	99.1	60.2	100.0	75.4	99.1	83.9

Sensitivity was determined on the basis of data from 118 patients with culture-positive tuberculosis, and specificity was determined on the basis of data from 213 low-risk subjects. The chosen cutoff (0.35) is in boldface.

Thus, the true specificity of the test may be higher than that estimated in the present study.

To estimate sensitivity of the whole blood IFN- γ test, the presence of culture-confirmed *M. tuberculosis* infection was used as the standard. This approach has been widely used in sensitivity studies with the TST, often using patients who were receiving, or who had completed, treatment at the time of testing (3, 13–16). However, as it is well documented that both IFN- γ responses can vary in relation to antituberculosis treatment (3, 17–19), we limited this study to patients who had received minimal or no treatment at the time of testing. At the time of enrollment into the study, all 152 Group 2 subjects had radiologic and/or clinical signs suggesting tuberculosis and sensitivity was estimated from the 118 who had *M. tuberculosis* recovered subsequently by culture. Both ESAT-6 and CFP-10 demonstrated high positive rates in these patients (65.3 and 81.4%, respectively) as compared with that in tuberculin skin testing (65.8%). Combining results from the *M. tuberculosis*-specific antigens improved test sensitivity to 89.0% and had little effect on specificity (98.1%).

The poor skin test specificity of TST (35.4%) seen in this study is likely to be predominantly a result of the extensive use of BCG vaccination in Japan. However, poor skin test specificity may also be due to exposure or infection with NTM. Exposure to NTM, and not latent *M. tuberculosis* infection, appears to be responsible for the majority of 5- to 14-mm Mantoux test reactions among U.S.-born health care workers and medical students (20). The present study was not designed to assess the specificity of the whole blood IFN- γ assay after exposure to NTM. However, given the reported mycobacterial species specificity of ESAT-6 and CFP-10 (5), the assay is likely to be negative for infection with *M. avium* complex (MAC), which is a major source

of NTM infection. This was compatible with the study's finding that IFN- γ response to both of ESAT-6 and CFP-10 was negative in all patients who were culture negative for *M. tuberculosis* and positive for MAC, except one. The latter MAC patient with a positive IFN- γ response could have coinfection with tuberculosis. On the other hand, positive reactions are expected from people infected with *M. kansasii*, *Mycobacterium marinum*, or *Mycobacterium szulgai* as the genes encoding both ESAT-6 and CFP-10 are present in these NTM (7). Therefore, it is not surprising that another three TB suspects positive for *M. kansasii* responded to ESAT-6 and/or CFP-10 in the whole blood IFN- γ assay.

It remains to be confirmed whether the enhanced sensitivity of the whole blood IFN- γ assay over the TST, as seen for untreated patients in this study, will also be found for people with latent tuberculosis infection. However, such a possibility can be supported by reports that contacts of patients with tuberculosis, who are possibly latently infected with *M. tuberculosis*, have stronger IFN- γ responses to *M. tuberculosis* antigens than do patients with active tuberculosis (18, 19, 21–23). Further investigations on the performance of the CFP-10/ESAT-6-based whole blood IFN- γ assay in contact investigations and in other situations where *M. tuberculosis* exposure can be quantified are required to further estimate the test performance for detecting latent tuberculosis infection.

Screening for latent tuberculosis infection is most effective if those with positive test results are likely to progress to clinical disease. A preliminary study by Doherty and coworkers (24) demonstrated a close relationship between IFN- γ responses and subsequent development of clinical tuberculosis disease in household tuberculosis contacts in Ethiopia, but this needs corroboration in

TABLE 3. CFP-10 AND ESAT-6 IFN- γ ASSAY AND MANTOUX TUBERCULIN SKIN TEST RESULTS, STRATIFIED BY AGE, FOR 110 PATIENTS WITH CULTURE-POSITIVE TUBERCULOSIS

Age (yr)	No. IFN- γ -tested	No. IFN- γ -positive	Percent IFN- γ -positive	No. Mantoux-tested	No. Mantoux-positive	Percent Mantoux-positive
13–30	19	17	89.5	9	9	100.0
31–40	14	14	100.0	12	7	58.3
41–50	16	15	93.8	12	9	75.0
51–60	19	19	100.0	10	5	50.0
61–70	19	17	89.5	12	9	75.0
71–80	13	12	92.3	11	6	54.5
> 80	10	8	80.0	6	1	16.7

Results for the Mantoux test are based on a 5-mm cutoff.

other populations of different immune status and background. In addition, although the current study indicates utility of the IFN- γ assay in screening adults for TB infection, further studies are required, including those in select patient populations such as children, people with X-ray evidence of prior tuberculosis, and those with HIV infection or other immunodeficiencies. Test utility would also be enhanced by studies determining the kinetics of IFN- γ response after infection, and the effect of antituberculosis therapy on IFN- γ test results.

Previous studies have demonstrated the potential of both ESAT-6 and CFP-10 for the specific detection of *M. tuberculosis* infection in humans (4, 5–10), although the method generally used to measure IFN- γ responses to these antigens, such as lymphocyte proliferation and IFN- γ enzyme-linked immunospot, are relatively complex and labor intensive to perform (25). Some of these studies have demonstrated that a combination of results from ESAT-6 and CFP-10 provides higher sensitivity than is seen with either antigen alone (7, 8). In addition, Vordermeier and coworkers demonstrated greater sensitivity with a cocktail of CFP-10 and ESAT-6 over either antigen alone, when used in an IFN- γ enzyme-linked immunospot assay (26), and Arend and coworkers showed that use of both antigens increased test sensitivity, as there were variations in responses to CFP-10 and ESAT-6 between individuals with different HLA-DR types (10). These data suggest that the combined use of both TB-specific antigens is warranted to increase sensitivity and our results support this conclusion.

In addition to the high diagnostic accuracy resulting from the use of *M. tuberculosis*-specific antigens, the whole blood IFN- γ assay offers many methodologic and logistic advantages, both over the TST and other laboratory methods of immunological testing. The test requires a single patient visit, does not induce boosting of subsequent test results, and can provide results within 1 day. Interreader variability is low and results are highly reproducible (27) as it is a controlled laboratory assay. Importantly, whole blood testing uses minimal labor and simple equipment, allowing large numbers of samples to be tested concurrently.

Conflict of Interest Statement: T.M. does not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript; M.S. does not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript; F.Y. does not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript; T.T. does not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript; Y.K. does not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript; K.N. does not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript; E.S. does not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript; N.H. does not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript; S.M. does not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript; M.O. does not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript; K.S. does not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript; Y.I. does not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript; K.T. does not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript; Y.S. does not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript; G.H.M. does not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript; I.T. does not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript.

Acknowledgment: The authors acknowledge the following people for technical assistance and input in this trial: Dr. Takashi Kitoh (Nichirei Corporation, Tokyo, Japan), Dr. Peter Andersen (Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark), Drs. Angela Cosgriff and Jim Rothe (Cellestis Limited, Carnegie, Australia), Dr. K. Higuchi and Ms. S. Sekiya (Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association, Japan), and Ms. N. Matsumoto (Miyazaki Prefectural Nursing University, Japan). The authors also thank Professor Damien Jolley for advice on statistical analysis of the data. Finally, the authors thank the participants who made this study possible.

References

1. World Health Organization. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing [WHO report]. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2002.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2000;49:1–51.
3. Mazurek GH, LoBue PA, Daley CL, Bernardo J, Lardizabal AA, Bishai WR, Iademarco MF, Rothel JS. Comparison of a whole-blood interferon γ assay with tuberculin skin testing for detecting latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *JAMA* 2001;286:1740–1747.
4. Brock I, Munk ME, Kok-Jensen A, Andersen P. Performance of whole blood IFN- γ test for tuberculosis diagnosis based on PPD or the specific antigens ESAT-6 and CFP-10. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001;5:462–467.
5. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 2000;356:1099–1104.
6. van Pinxteren LA, Ravn P, Agger EM, Pollock J, Andersen P. Diagnosis of tuberculosis based on the two specific antigens ESAT-6 and CFP10. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000;7:155–160.
7. Arend SM, Andersen P, Van Meijgaarden KE, Skjot RL, Subronto YW, van Dissel JT, Ottenhoff TH. Detection of active tuberculosis infection by T cell responses to early-secreted antigenic target 6-kDa protein and culture filtrate protein 10. *J Infect Dis* 2000;181:1850–1854.
8. Munk ME, Arend SM, Brock I, Ottenhoff TH, Andersen P. Use of ESAT-6 and CFP-10 antigens for diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *J Infect Dis* 2001;183:175–176.
9. Lalvani A, Pathan AA, Durkan H, Wilkinson KA, Whelan A, Deeks JJ, Reece WH, Latif M, Pasvol G, Hill AV. Enhanced contact tracing and spatial tracking of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Lancet* 2001;357:2017–2021.
10. Arend SM, Engelhard AC, Groot G, De Boer K, Andersen P, Ottenhoff TH, van Dissel JT. Tuberculin skin testing compared with T-cell responses to *Mycobacterium tuberculosis*-specific and nonspecific antigens for detection of latent infection in persons with recent tuberculosis contact. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:1089–1096.
11. Noshiro T, Satoh K, Sato H, Miura Y. [Tuberculin survey of university students and postgraduates in 1998]. *Kekkaku* 2000;75:363–368.
12. Mori T. Recent trends in tuberculosis, Japan. *Emerg Infect Dis* 2000;6:566–568.
13. Bellebe B, Coberly J, Barnes GL, Ko C, Chaisson RE, Comstock GW, Bishai WR. Evaluation of a whole-blood interferon- γ release assay for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in 2 study populations. *Clin Infect Dis* 2002;34:1449–1456.
14. Villarino ME, Burman W, Wang YC, Lundergan L, Catanzaro A, Bock N, Jones C, Nolan C. Comparable specificity of 2 commercial tuberculin reagents in persons at low risk for tuberculous infection. *JAMA* 1999;281:169–171.
15. Duchin JS, Jereb JA, Nolan CM, Smith P, Onorato IM. Comparison of sensitivities to two commercially available tuberculin skin test reagents in persons with recent tuberculosis. *Clin Infect Dis* 1997;25:661–663.
16. Villarino ME, Brennan MJ, Nolan CM, Catanzaro A, Lundergan LL, Bock NN, Jones CL, Wang YC, Burman WJ. Comparison testing of current (PPD-S1) and proposed (PPD-S2) reference tuberculin standards. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1167–1171.
17. Rooney JJ Jr, Crocco JA, Kramer S, Lyons HA. Further observations on tuberculin reactions in active tuberculosis. *Am J Med* 1976;60:517–522.
18. Hirsch CS, Toossi Z, Othieno C, Johnson JL, Schwander SK, Robertson S, Wallis RS, Edmonds K, Okwera A, Mugerwa R, et al. Depressed T-cell interferon- γ responses in pulmonary tuberculosis: analysis of underlying mechanisms and modulation with therapy. *J Infect Dis* 1999;180:2069–2073.
19. Pathan AA, Wilkinson KA, Klenerman P, McShane H, Davidson RN, Pasvol G, Hill AV, Lalvani A. Direct *ex vivo* analysis of antigen-specific IFN- γ -secreting CD4 T cells in *Mycobacterium tuberculosis*-infected individuals: associations with clinical disease state and effect of treatment. *J Immunol* 2001;167:5217–5225.
20. von Reyn CF, Horsburgh CR, Olivier KN, Barnes PF, Waddell R, Warren C, Tvaroha S, Jaeger AS, Lein AD, Alexander LN, et al. Skin test reactions to *Mycobacterium tuberculosis*-purified protein derivative and *Mycobacterium avium* sensitin among health care workers and medical students in the United States. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001;5:1122–1128.
21. Swaminathan S, Gong J, Zhang M, Samten B, Hanna LE, Narayanan PR, Barnes PF. Cytokine production in children with tuberculous infection and disease. *Clin Infect Dis* 1999;28:1290–1293.

22. Shams H, Wizel B, Weis SE, Samten B, Barnes PF. Contribution of CD8⁺ T cells to γ interferon production in human tuberculosis. *Infect Immun* 2001;69:3497-3501.
23. Vekemans J, Lienhardt C, Sillah JS, Wheeler JG, Lahai GP, Doherty MT, Corrah T, Andersen P, McAdam KP, Marchant A. Tuberculosis contacts but not patients have higher γ interferon responses to ESAT-6 than do community controls in the Gambia. *Infect Immun* 2001;69:6554-6557.
24. Doherty TM, Demissie A, Olobo J, Wolday D, Britton S, Eguale 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;40:704-706.
25. Arend SM, Van Meijgaarden KE, De Boer K, De Palou EC, van Soelingen D, Ottenhoff TH, van Dissel JT. Tuberculin skin testing and *in vitro* T cell responses to ESAT-6 and culture filtrate protein 10 after infection with *Mycobacterium marinum* or *M. kansasii*. *J Infect Dis* 2002;186:1797-1807.
26. Vordermeier HM, Whelan A, Cockle PJ, Farrant L, Palmer N, Hewinson RG. Use of synthetic peptides derived from the antigens ESAT-6 and CFP-10 for differential diagnosis of bovine tuberculosis in cattle. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:571-578.
27. Food and Drug Administration, Center for Devices and Radiological Health. QuantiFERON-TB-P010033 [letter]. URL: www.fda.gov/cdrh/pdf/P010033b.pdf (Accessed February 7, 2004.)

結核菌抗原 ESAT-6 および CFP-10 を用いた結核感染診断法 QuantiFERON®TB-2G の基礎的検討

¹原田 登之 ¹樋口 一恵 ¹関谷 幸江 ²Jim RotheI
³木藤 孝 ¹森 亨

要旨:〔目的〕新規結核菌感染診断法である全血インターフェロン・ガンマ (IFN- γ) 応答測定法 QuantiFERON®TB-2G の最適カットオフ値設定を中心とし、その基礎的な特性を検討した。〔対象〕健康常人群: 結核菌暴露のリスク要因が確認されない若年健康人 220 人。結核患者群: 結核菌培養陽性の活動性結核患者 118 人。接触者群: ある接触者健診でツベルクリン反応 (ツ反) 発赤径が 30 mm 以上あった若年健康者 75 人。〔方法〕被験者の全血を結核菌抗原で刺激培養後、血漿成分中の IFN- γ 産生量を QuantiFERON®-CMI により測定した。測定結果は、ROC 曲線と陽性・陰性の誤分類による損失の検討を行い、カットオフ値を設定した。〔結果〕カットオフ値は ESAT-6, CFP-10 双方に対して 0.35 IU/ml と設定し、その感度は 89.0%, 特異度は 98.1% であった。〔考察〕未感染健康者において、全血 IFN- γ 応答測定法は BCG 接種に全く影響されなかった。また、2 種の結核抗原に対する IFN- γ 応答の相関は弱く、判定には両者を独立に用いる必要があった。さらに、既感染率が高い集団に本法を適用する際、カットオフ値はより低いレベルに設定し、陽性的中率をあまり下げずに見落としを減らすべきであると考えられる。

キーワード: 結核感染, 診断法, ESAT-6, CFP-10, IFN- γ , ELISA

緒 言

現在全世界人口の 3 分の 1 が結核菌に感染していると見積もられ、その中から年間 880 万人の結核患者が発生し、いまだに微増傾向にある¹⁾。結核が世界最大級の感染症といわれるゆえんである。この結核対策の有力な方策として、とくに先進国では既感染者の化学予防があげられる²⁾。そのために必要な結核感染の診断に、現在まで用いられている唯一の方法はツ反である。ツ反は結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) の培養濾過液から精製したタンパク (Purified Protein Derivative, PPD) を皮内に注射し、その PPD に対する宿主の遅延型アレルギー反応として注射部位に出現する発赤等を測定する *in vivo* の皮膚反応検査である。この PPD は数百種類にもものぼる結核菌抗原を含んでおり、その多くが結核ワクチンに用いる *Mycobacterium bovis*, subsp. BCG, あるいは環境中の

非結核性抗酸菌の抗原と高い類似性を持つ。このため、結核感染を受けていない者が BCG 接種を受けただけで、あるいは非結核性抗酸菌の感染を受けただけでもツ反が陽性となることがあるため³⁾、真の結核感染とこれらを区別することは実際的にはきわめて困難である。

近年分子生物学的手法を用いた研究により、結核菌の遺伝子配列中において BCG には完全に欠落している領域が同定された⁴⁾。その領域内には、一度結核に感染した動物の記憶 T 細胞に作用し、IFN- γ 産生を強く誘導する蛋白 ESAT-6⁵⁾⁶⁾ および CFP-10⁷⁾ をコードする遺伝子の存在が認められた。そしてこれらの蛋白を刺激抗原として用いることにより特異性の高い結核感染診断が可能であることが示された⁸⁾。さらに、最近全血を PPD などの抗原で刺激し、産生される IFN- γ を測定する *in vitro* 結核菌感染診断キット (QuantiFERON®-TB, Cellestis 社) が開発され、ツ反に代わるヒトの結核感染診断用に

¹結核予防会結核研究所, ²Cellestis Ltd, Melbourne, Australia, ³株式会社ニチレイ

連絡先: 原田登之, 結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンスセンター免疫検査科, 〒204-8533 東京都清瀬市松山 3-1-24 (E-mail: harada@jata.or.jp)

(Received 29 Sep. 2004 / Accepted 18 Nov. 2004)

用いられるようになった⁹⁾。これに引き続き、先に発見された特異蛋白 (ESAT-6および CFP-10) を抗原として使用するシステムが QuantiFERON[®]TB-2G (Cellestis社, オーストラリア; 以下単に QFT と呼ぶ) として開発された。これにより結核感染を BCG 接種の影響を受けずに判定できる可能性が考えられる。最近われわれは結核患者と BCG 接種歴のある健常者の2群にこの検査を試み、この方法の特異的結核感染診断法としての有用性を示した¹⁰⁾¹¹⁾。本論文においては、この検査方法における最適カットオフ値の設定を中心としてその基礎的な特性について検討する。

研究対象および方法

(1) 対象者

研究対象は既に報告されているが¹⁰⁾¹¹⁾、以下3群に分けて簡略に示す。

第1群 (健常人群): 結核菌暴露のリスク要因が確認されない若年健常人220人。

第2群 (結核患者群): 結核菌培養陽性の活動性結核患者118人。治療による免疫能への影響を考慮して、採血時において1週間以上は治療されていないことを条件とした。明らかな免疫抑制状態にある者は含まれていない。

第3群 (接触者群): ある集団での患者発生において接触者健診の対象となり、ツ反で発赤径が30 mm以上であった若年健常人75人。この群は初発患者との接触がとくに濃厚だった群(33人)とそれ以外の群(42人)に二分される。大半はBCG既接種である。

これら各群の被験者に対しては文書による同意書を得て検査を実施した。

(2) ツ反検査および問診

各群の被験者には問診(第1, 第2群には質問紙を使用, 第3群は面接)を行い、感染のリスクや既往歴などを調べた。続いてツ反検査およびQFT検査を行った。

(3) QFTの測定方法

IFN- γ 産生量の測定は既に報告した方法に従って行った¹⁰⁾。簡潔に述べると、各症例からツ反検査実施前および実施後2週間以上経過した時点で採血を行った。被験者から全血(ヘパリン加全血)を採取後、24ウエルの培養プレートに採血から12時間以内の血液検体を1 ml/ウエル分注し、それぞれのウエルに刺激抗原ESAT-6, CFP-10, 陰性コントロール(生理食塩水)および陽性コントロール(PHA)を100~125 μ l添加攪拌し(抗原最終濃度: 各ペプチド1 μ g/ml, PHA: 最終濃度5 μ g/ml), 37°Cで16~24時間静置培養(5% CO₂)後、検体の上澄みの血漿標本を採取した。採取した標本は測定時まで-85°Cで保存した。IFN- γ 産生量は、QFTを用い規定の使用法に基づく操作方法により測定した。

(4) 判定方法

以下に示すように、刺激抗原ESAT-6またはCFP-10により産生誘導されたIFN- γ 値より陰性コントロール(Nil)のIFN- γ 産生値を差し引いた値を算出した。

ESAT-6での値 (IU/ml) = IFN- γ ESAT-6 - IFN- γ Nil

CFP-10での値 (IU/ml) = IFN- γ CFP-10 - IFN- γ Nil

この値に基づき、分布の吟味やカットオフの設定、特異度および感度の分析などを行った。

(5) 統計解析およびカットオフ値の設定・分析

IFN- γ 産生量の測定値は対数正規分布に従うことから、この測定値に基づいた主要な分析には、測定値を対数変換したものをを用いた。解析の大半はExcel[®] (Microsoft[™]) スプレッドシート上で実行した。検定等はEpi-Info2000 (CDC), SPSS-J for Windows (SPSS Inc, USA) を用いた。

カットオフ値の設定には Receiver-Operating Characteristics (ROC) 分析のうえ、設定するカットオフによる誤分類(偽陽性, 偽陰性)に起因する損失を最小限度にするための理論を用いた。その詳細は成書¹²⁾に譲るが、以下に要点を記す。

カットオフ値を x とし、それ以上を陽性、未満を陰性とする。これによって有病者(既感染者)について偽の陰性(FN), また健常人(未感染者)について偽の陽性(FP)という誤分類がそれぞれ生じうる。それらの個々について臨床的結末(死亡や苦痛)や関係する経費(医療費や検査代), すなわち損失が発生する。単位当たり誤分類の臨床的・経済的負担を仮に1つの尺度 L (FN), L (FP) で表しうるものとし、カットオフ x に対応するそれらの和 (Penalty と名づける) を最小にする x を求めることが命題となる。Penalty は検査対象となる集団の有病率によって左右される。すなわち、

$$\text{Penalty} = L(\text{FN}) \cdot \text{FP} \cdot P + L(\text{FP}) \cdot \text{FN} \cdot (1 - P)$$

である。ここで、 $L(\text{FN}) = w \cdot L(\text{FP})$ とする。つまり1件の偽陰性は、1件の偽陽性の w 倍の損失に相当するものとする。単位を無視すれば、 $\text{Penalty} = w \cdot \text{FP} \cdot P + \text{FN} \cdot (1 - P)$ となる。有病率 P は一般に未知なので、このような事象は生起・不生起が等確率であるとする原理に基づき(ラプラス原理) ツベルクリン反応検査について行われるように¹³⁾、 $P = 0.5$ を想定する。このとき、単位を無視すれば、 $\text{Penalty} = w \cdot \text{FP} + \text{FN}$ となる。これを最小にする x を求めればよい。

このように「最善のカットオフ値」は有病率50%という状況で、また仮定的な w (2通りの損失の比) によって決められているが、前者についてはさまざまな水準の有病率に対してその有効性を検討する。この有効性は、陽性的中率(このカットオフで陽性とされたもののうち真に有病者である確率)、陰性的中率(同様に陰性とさ

Table 1 Characteristics of the groups of subjects

Group	No.	Sex		Age (years)	
		Male	Female	Range	Mean
1. Healthy subjects, nursing students	220	16	204	18-33	20
2. Tuberculosis patients, untreated	118	79	39	13-86	54
3. Contacts of a TB patient, college students	Close	33	11	19-24	20
	Less close	42	11	31	18-24

れた者のうち真に健常者である確率)によって評価する。これらは感度 Se, 特異度 Sp, 有病率 P のとき以下の式で計算される。

$$\text{陽性的中率} = P \cdot Se / (P \cdot Se + (1 - Sp) \cdot (1 - P))$$

$$\text{陰性的中率} = 1 - P \cdot (1 - Se) / (P \cdot (1 - Se) + Sp \cdot (1 - P))$$

結 果

被験者各群の背景

対象者計 3 群の背景要因を Table 1 に要約する。

第 1 群は看護学生で、問診から 85% で BCG 既接種を確認したが、実際の既接種率はさらに高いと考えられる。特定の結核感染の機会を申告したものはなかった。ツ反は結果が知られた 219 人中、発赤径 10mm 以上が 83%、30 mm 以上が 26% であった。

第 2 群のうち結核菌塗抹所見の知られた患者のうち 87% が塗抹陽性であった。明らかな免疫抑制要因を持っているものはなかった。

第 3 群は全員 BCG 既接種であり、濃厚、非濃厚群の中から 1 人ずつ活動性結核と診断されたものが発生した。上述のようにこれらは全員ツ反発赤径が 30 mm 以上である。

(1) ESAT-6 および CFP-10 刺激に対する IFN- γ 応答の定量, 分布

健常人群 (第 1 群) の ESAT-6 と CFP-10 刺激により産生された IFN- γ 量 (対数変換値) の分布を Fig. 1 に示した。これら IFN- γ 産生量の分布は、最小値域 (測定不可域) に集中する指数関数に類似した分布に従い、その (幾何) 平均はそれぞれ 0.0070 IU/ml, 0.0078 IU/ml であった。

患者群における ESAT-6 および CFP-10 刺激による IFN- γ 産生量は、Fig. 2 のように観察数が小さいため不規則ではあるが、正規分布に類似した分布に従い、その (幾何) 平均値 \pm 標準偏差はそれぞれ 1.36 \pm 7.65 IU/ml, 0.672 \pm 0.11.15 IU/ml であった。なお Fig. 2 にはこれら IFN- γ 応答の年齢 (13~34 歳, 35~59 歳, 60 歳以上) との関連も見た。34 歳以下では分布の形は定型的な正規分布を示すが、35 歳以上では歪みが目立つ。これら 3 群の年齢群間における IFN- γ 産生量の平均値間に有意

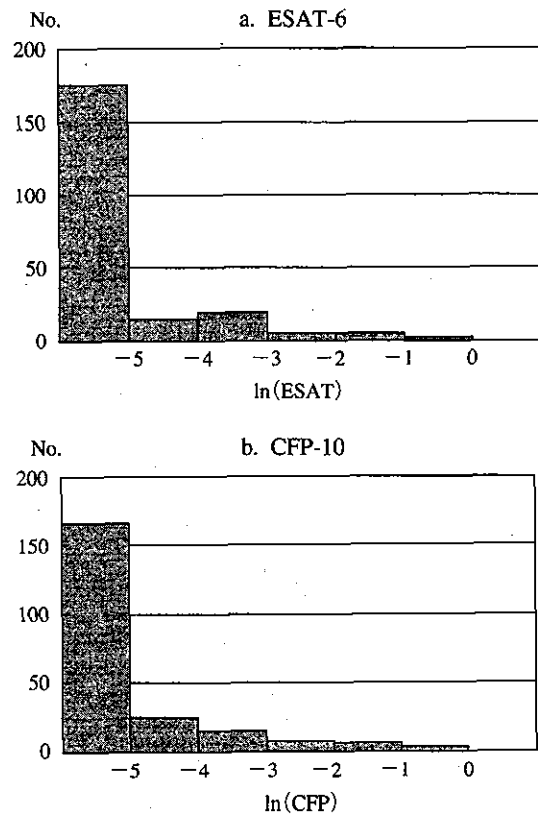


Fig. 1 Distribution of healthy subjects according to IFN- γ response (ESAT-6 above, and CFP-10 below). The horizontal axes [ln (ESAT) and ln (CFP)] indicate log-transformed value of IFN- γ amount induced by stimulation of ESAT-6 and CFP-10, respectively.

の差は見られなかった [一元配置分散分析 (自由度対は 2,107), ESAT-6 では F = 0.614, p = 0.540; CFP-10 では F = 0.346, p = 0.708]。また結果 (4) で決定されるカットオフに基づく陽性率は Table 2 のとおりであった。60 歳以上の群で陽性率が低いように見えるが、3 群の年齢間のばらつきは有意ではなかった。

患者濃厚接触者群における IFN- γ 産生量の分布は Fig. 3 に示すとおり、上記の 2 種の分布の組み合わせと見ることができる。2 種の分布とはつまり、未感染者を代表する最小値域にピークをもつ指数型の分布と、既感染者を代表すると考えられる右方の正規型の分布とである。一方、非濃厚接触者では分布はやや不規則な指数関数型の分布で右肩下がりであった¹⁾。これら 3 群におい

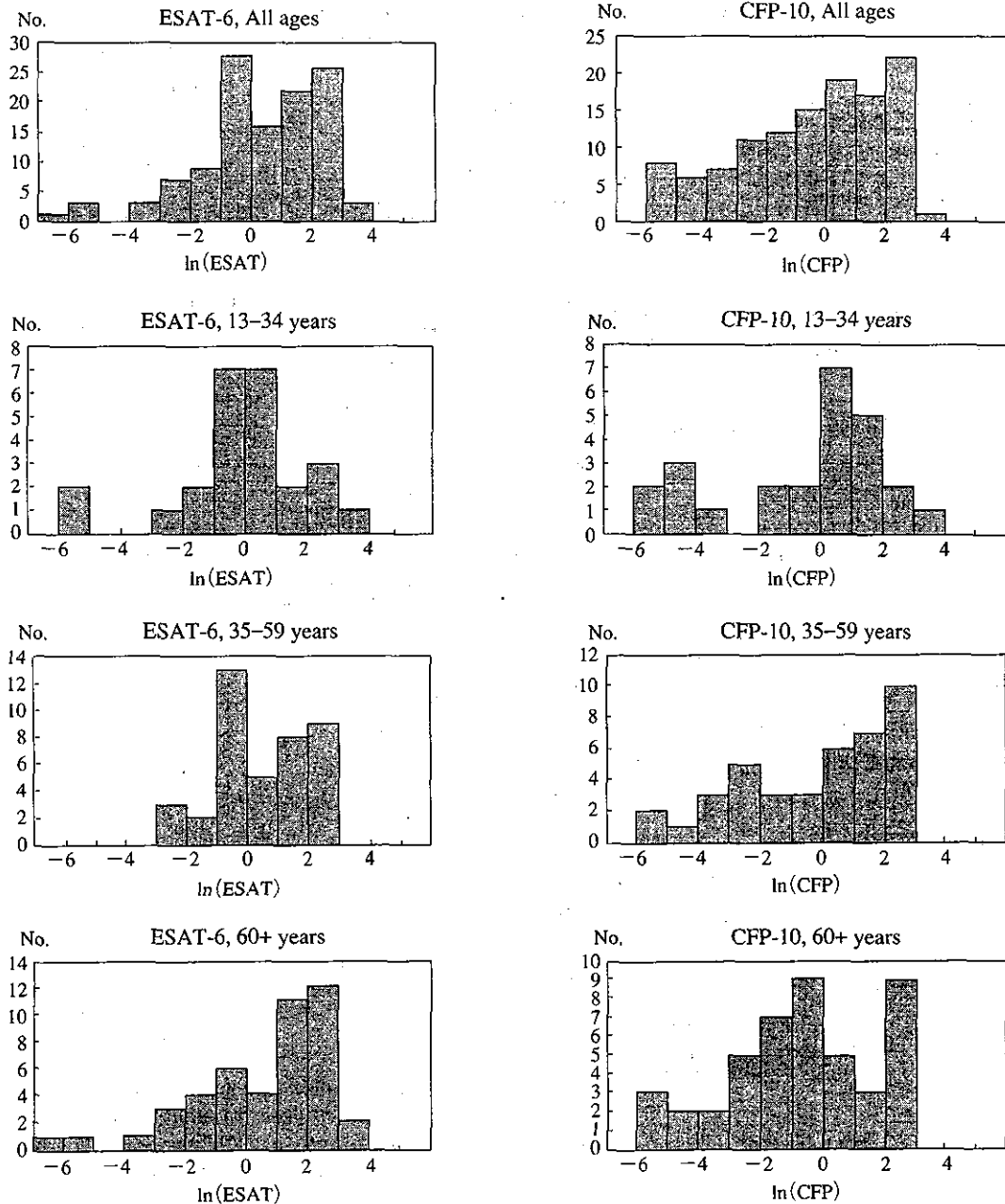


Fig. 2 Age-specific distributions of TB patients according to IFN- γ response to ESAT-6 or CFP-10.

て陽性コントロールに対する反応の弱い者が見られなかったことから、免疫不全状態の者は含まれていないと考えられた。

(2) ESAT-6応答と CFP-10応答の関連

結核患者118人の抗原刺激によるIFN- γ 応答について、ESAT-6に対するものとCFP-10に対するものの関連を、IFN- γ 産生量(対数変換値)の相関で見たのがFig. 4である。相関係数は0.303で(無相関の検定の $p=0.001$)、弱い有意の相関が認められる。

感受性の一致性という観点から、結果(4)で見る両者のカットオフ値を用いた陽性・陰性の分類の一致性を

見ると、Table 3のようになっていた。一致性の指標として、全体一致率(両法による陽性、陰性の判定が一致した例数の割合)は $(68+13)/118=68.6\%$ であった。偶然の一致を排除するために κ 係数を見ると、 $\kappa=0.225$ で、検定では $z=2.659$, $p<0.001$ となり、 κ 値は0よりは有意に大きいとはいえ、その絶対値は小さく一致率は高くはない。

なお、BCG既接種の未感染者(第1群)においても、ESAT-6とCFP-10の間の相関は $r=0.170$ で無相関検定の p 値は0.011と、ごく弱い有意の相関が認められる。

(3) ツベルクリン反応とIFN- γ 応答の関連

Table 2 Comparison of positive rates and means of IFN- γ response among age-groups of TB patients.

		No.	"Positive"		Log-transformed		Original value	
			No.	(%)	ln (Mean)	ln (SD)	Means [†]	SD [†]
ESAT-6	13-34 yrs.	25	21	(84.0)	-0.042	2.111	0.9587	8.2587
	35-59 yrs	40	35	(87.5)	0.447	1.572	1.5630	4.8172
	60+ yrs	45	35	(77.8)	0.486	2.300	1.6256	9.9739
	Total*	118	96	(81.4)	0.311	2.034	1.3641	7.6451
	Test	Exact p=0.492		F-test; F (d.f.=2,107)=0.620, p=0.540				
CFP-10	13-34 yrs	25	17	(68.0)	-0.478	2.577	0.6198	13.1558
	35-59 yrs	40	26	(65.0)	-0.125	2.433	0.8827	11.3963
	60+ yrs	45	29	(64.4)	-0.541	2.278	0.5823	9.7577
	Total*	118	77	(65.3)	-0.398	2.412	0.6715	11.1543
	Test	Exact p=0.967		F-test; F (d.f.=2,107)=0.346, p=0.708				
Either	13-34 yrs	25	23	(92.0)				
	35-59 yrs	40	38	(95.0)				
	60+ yrs	45	38	(84.4)				
	Total*	118	105	(89.0)				
	Test	Exact p=0.273						

*including 8 cases of unknown age.

[†]Mean and SD are based on log-transformed measurement values.

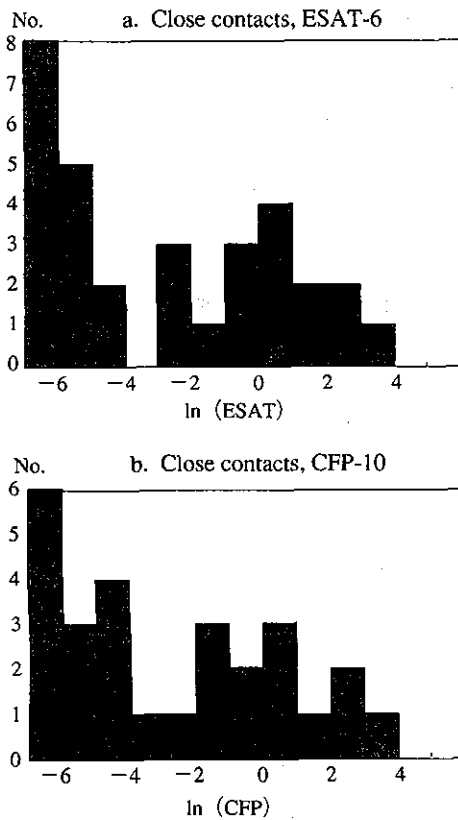


Fig. 3 Distribution of close contacts of a tuberculosis patient according to IFN- γ response (ESAT-6 above, and CFP-10 below). The horizontal axes [ln (ESAT) and ln (CFP)] indicate log-transformed value of IFN- γ amount induced by stimulation of ESAT-6 and CFP-10, respectively.
Note; The most left columns exceed the vertical axes.

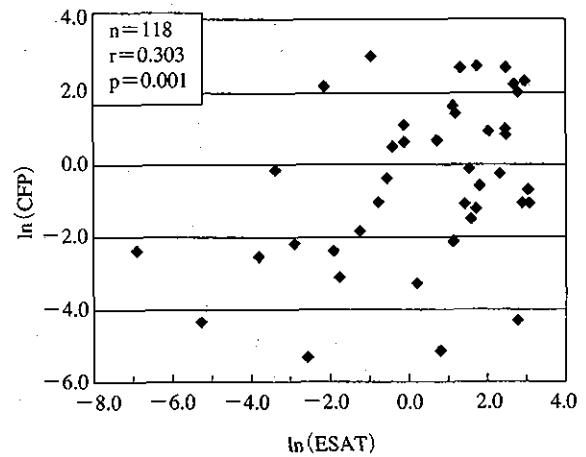


Fig. 4 Correlation between ESAT-6 and CFP-10 measurements in TB patients. ln (ESAT) and ln (CFP) indicate log-transformed value of IFN- γ amount induced by stimulation of ESAT-6 and CFP-10, respectively.

Table 3 Contingency between IFN- γ responses to ESAT-6 and CFP-10 in tuberculosis patients

	CFP-10		Total	
	*Positive	*Negative		
ESAT-6	*Positive	68	28	96
	*Negative	9	13	22
Total	77	41	118	

Over-all agreement=0.686, Kappa coefficient=0.225
*Positive and negative were determined based on the cut-off value (0.35 IU/ml) obtained from data analysis.

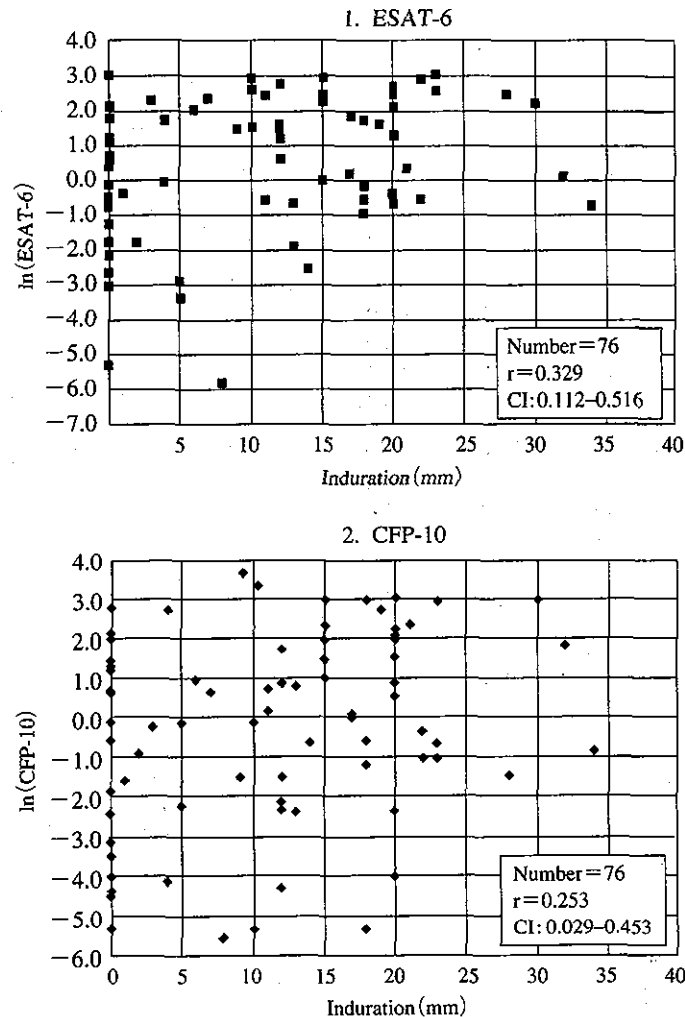


Fig. 5 Correlation between Mantoux test and IFN- γ response in TB patients. ln (ESAT) and ln (CFP) indicate log-transformed value of IFN- γ amount induced by stimulation of ESAT-6 and CFP-10, respectively.

Note; r: Correlation coefficient, CI: 95% confidence interval.

まず、BCG既接種健常者についてツ反応径とIFN- γ 応答の相関を検討した。ツ反発赤および硬結の分布はともに正規型（硬結では左方に偏位し、歪んでいるが）であるのに対し、IFN- γ 応答（ESAT-6およびCFP-10刺激によるIFN- γ 産生量、対数変換値）はFig. 1に見たような指数型の分布に従っていた。ツ反およびIFN- γ 応答の分布はこのように全く異なっており、両者間の関連の低さを示唆している。相関係数は、発赤とESAT-6、CFP-10の間でそれぞれ $r=0.128$, $r=0.047$ で無相関の検定の p はそれぞれ0.059, 0.493, また硬結との間ではそれぞれ $r=0.047$, $r=0.042$ (p 値はそれぞれ0.693, 0.625)であり、いずれも相関はないことが確認された。つまりIFN- γ 値は、BCG接種後のツ反の強さと無関係である。次に結核患者について同様の観察を行う。ツ反の成績が知られた菌陽性結核患者76人のツ反硬結径とIFN- γ 応答（対数変換値、その分布はFig. 2）の散布図

はFig. 5のとおりであった。ESAT-6、CFP-10について相関係数はそれぞれ0.329, 0.253で、無相関検定では p 値はそれぞれ0.0037, 0.0275で、ともに弱い有意の相関が認められる。

(4) カットオフ値の決定

診断については、上の分析からESAT-6とCFP-10のかなりの独立性から、両者を同時に用いることが有用と考えられるので、後者の診断方式は重要である。Fig. 6にESAT-6、CFP-10およびその組み合わせ（いずれかより大きい値の方で）による診断に関するROC曲線を示す。AUC（曲線下面積）は、0.987（95%信頼区間は0.977～0.999）、0.981（同0.967～0.996）、0.937（同0.907～0.969）である。CFP-10に比してESAT-6のほうが診断上有用であり、両者を同時に用いるとさらに有用になることが示されている。

方法（5）で記述した方式により最小Penaltyを与える

ESAT-6, CFP-10のカットオフ値を決定する。2種の誤分類による損失の比 w を10と設定し解析した結果, Fig. 7のように, ESAT-6は0.35 IU/ml付近で最小 Penaltyを与え, CFP-10も同様であった。両者が共通のカットオフになることの利便性からも, この値を最良カットオフとする。このとき感度はESAT-6, CFP-10でそれぞれ81.4%, 65.3%, 特異度はそれぞれ99.5%, 98.6%である。また両者どちらかがこの値を超える者を陽性とする, 感度, 特異度はそれぞれ89.0% (95%信頼区間82.1%~93.4%), 98.1% (95.4%~99.3%)となる。カットオフ値を0.35 IU/mlの前後で変化させて感度, 特異度がどのように変化するかを見た結果, 0.12 IU/mlで感度, 特異度は交差したが, 0.2~0.4 IU/mlの範囲では感度, 特異度が比較的安定した範囲にあることが知られた。

さらに対象集団の有病率(既感染率)の水準によって陽性的中率, 陰性的中率がどのように変わるかを見た。Fig. 8のように陽性的中率は, カットオフが0.3 IU/ml以上であれば有病率が1%~50%の範囲にわたりほぼ100%であるが, 0.2 IU/mlに下げると, 有病率の影響が大きくなり, たとえば, 1%になると陽性とされた者のうち真の有病者は60%に下がる。これに対して, 陰性的中率は有病率が高いほど低くなり, 有病率50%では0.3 IU/ml前後における陰性的中率は90%に下がる(陰性とされた者の10%が有病者)。

考 察

この研究では「潜在結核感染」の診断のための方法論を問題にしているが, 潜在結核感染の Gold standard (絶対基準), つまり規範となる診断法が確立されていないので, この研究では結核菌が培養証明されており, ほぼ未治療の活動性結核をもっていることを結核感染の代理指標とし, また健康若年者(平均年齢20歳)は結核未感染と仮定してこの解析を行った。前者の仮定で問題になるのは, 感染後活動性結核になった者と, 感染して発病しない状態とでこの検査のパフォーマンスがどのように違うかである。同様に治療や感染後の時間経過の影響も問題になる。この検査がとくに有効性を期待されるのは, 感染後間もない潜在感染状態で発病予防治療(化学予防)の適応を決定するためであるが, このような状態では一般にはIFN- γ 応答は発病後よりも強いとする知見^{14)~16)}が多い。もしそうであれば, 患者を代理指標とする本研究で得られた感度の水準は真の潜在感染に関しては過小評価の可能性はある。また健常者を未感染としたが, 最近の日本では20歳では1%前後が既感染と推定されている¹⁷⁾ので, この研究で得られた特異度はその分だけ過小評価になっている可能性がある。さらに, この研究で用いられている抗原は, *Mycobacterium kansasii*や

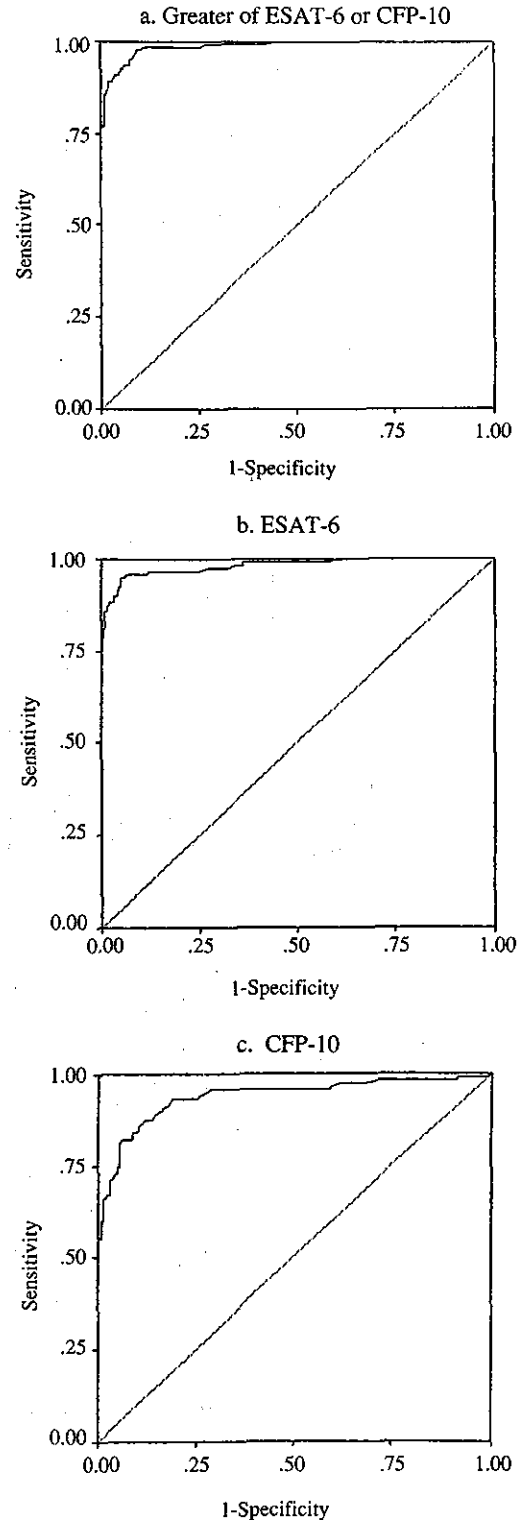


Fig. 6 Receiver-operating characteristics curve for IFN- γ response in classifying the tested to either tuberculosis patients or healthy subjects.

*M. szulgai*にも存在するので健常者でこれらの菌の感染を受けている者があるとすれば, それによる過小評価も考えなければならないが, 観察された特異度は98%なので, これらはあってもほとんど問題にならない。