명칭((제품명,) 품목명, 모델명) : (주)메스디아·고위험성감염체면역검사시약,T-SPOT.TB

수입원 : (주)메스디아, 서울특별시 강서구 양천로 551-17 비즈메트로 1차 1101호 전화 02-313-4541, 팩스 02-313-4539, 이메일 info@mesdia.co.kr

제조자: Oxford Immunotec Ltd., 영국, 143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon, Oxfordshire, OX14 4SE

수입허가번호 : 체외 수허 22-147 호

사용목적: 사람의 전혈에서 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*) 특이항원에 의해 활성화된 T 세포가 분비하는 인터페론 감마(interferon-gamma)를 ELISPOT(Enzyme-Liked Immunospot, 효소 결합 면역 스팟법)을 이용하여 정성적으로 측정하는 체외진단분석기용 시약이다.

저장방법 : 2~8℃

사용기한 : 제품 라벨 표기

온라인 제품설명서 : 한글판 IFU는 다음의 링크에서 다운로드 받을 수 있습니다:

`http://www.mesdia.com/upload/attach/MSD-UM_TB.300_R4.pdf`

사용방법

1. 제공되는 구성품
   1) Microplate(CW.300) x 1개 : 96 wells, 12x8-well 스트립 타입. 사이토카인 인터페론 감마에 대한 마우스 단클론 항체가 코팅되어 있음.
   2) Panel A(PA.300) x 2바이알 : 0.8ml/vial. ESAT-6 항원, 소혈청알부민, 보존제가 포함되어 있음.
   3) Panel B(PB.300) x 2바이알 : 0.8ml/vial. CFP10 항원, 소혈청알부민, 보존제가 포함되어 있음.
   4) Positive Control(CP.300) x 2바이알: 0.8ml/vial. Phytohaemagglutinin(PHA)(세포 기능확인용), 소혈청알부민, 보존제가 포함되어 있음.
   5) 200x Conjugate Reagent(CR.300) x 1바이알 : 50μℓ/바이알. 200배 농축. Alkaline phosphatase가 표지된, 인터페론 감마에 대한 마우스 단클론 항체가 포함되어 있음.
   6) Substrate Solution(SR.300) x 1병: 바로 사용가능한 BCIP/NBT^{plus} 용액

2. 보관
   1) 키트의 모든 구성품은 2~8℃에 보관한다.
   2) Substrate Solution은 빛에 장시간 노출을 피한다.

3. 안정성

1) 서로 다른 로트의 키트 간에 구성품을 혼합하지 않는다.
2) 개봉하지 않은 키트는 2~8°C에서 보관한다. 키트 구성품은 권장 조건에 따라 보관 및 취급할 경우 키트 상자의 라벨에 인쇄된 유효기간까지 안정적이다. 키트 라벨의 유효기간이 지나면 키트를 사용해서는 안 된다.
3) 개봉한 키트 구성품은 2~8°C에서 보관한다. 구성품은 개봉 후 8주 이내에 사용해야 한다.

4. 필요하지만 제공되지 않는 기기 및 시약
   1) 8-well strip plate frame (Oxford Immunotec에서 구입 가능)
   2) 클래스 II 미생물 캐비닛 (권장 사항)
   3) 채혈관, 예를 들면 Vacutainer® CPT™ (Oxoford Immunotec에서 구입 가능), 헤파린 처리된 시험관, 또는 시트르산 포함 시험관.
   4) Ficoll®-Paque*Plus 또는 다른 PBMC 분리 시약
   5) T-Cell *Xtend* reagent(Oxford Immunotec에서 구입 가능)은 채혈 후 32시간내의 검체에 사용가능하다. T-Cell *Select* reagent kit는 채혈 후 54시간내의 검체에 사용가능하다. 다른 granulocyte 제거 방법도 32시간내의 검체에 사용가능하며 실험자는 자체 실험실에서 사용되는 대체 방법들을 검증해야 한다.
   6) LeucoSep tubes는 Ficoll* 방법을 사용하는 PBMCs 분리 과정을 간략화하는 데 사용할 수 있다.
   7) 원심분리기는 PBMCs 준비에 필요하다. 작동 중 실온(18~25°C)를 유지하면서 최소 1800xg의 원심력을 제공해야 한다.
   8) 세포 세척용 원심분리기. 예를 들면, DiaCent-CW centrifuge(Bio-Rad). 분리된 PBMCs를 준비하고 세척하는데 사용된다. 실험자는 자체 실험실에서 해당 장비 사용을 검증해야한다.
   9) PBMCs를 계수하는데 필요한 장비 및 시약. Trypan Blue, 혈구계수기, 현미경을 사용하는 수동 방법을 이용하거나 적절한 혈구 분석장비를 사용하는 자동 방법을 이용할 수 있다.
   10) 가습 배양기. 37 ± 1 °C가 유지되야 하고, 5 % CO_2 가 공급되어야 한다.
   11) Microplate washer 또는 수동 plate 세척 장치
   12) 피펫 및 멸균 피펫팁
   13) 멸균 D-PBS 용액: 예를 들면, GIBCO® 1 x DPBS (Invitrogen, 제품번호 14040-091)
   14) 정제수 또는 탈이온수
   15) Plate을 읽을 수 있는 도구. 예를 들면, 현미경, 디지털 현미경, 확대경, 또는 plate 이미지 장비
   16) 멸균 세포 배양 배지. 예를 들면, GIBCO AIM-V® (Invitrogen, 제품번호 31035-025, 배양 단계에서 이 배지를 사용하기를 강력하게 권고함.), RPMI 1640 (Invitrogen, 제품번호 21875-034, 초기 검체 준비 단계에서만 사용됨.). 세포 배양 배지는 적당한 양으로 분주해서 사용하며, 사용 후 남은 양은 버린다. 세포 배양 배지는 T-SPOT.TB 검사에 사용하기 전에 37°C로 가온 유지해야 한다.

5. 시약 준비

1) Microtitre Plate. T-SPOT.TB 8 microtitre plate는 바로 사용가능한 형태로 제공된다. 필요한 수의 8-well 스트립을 꺼내서 실온과 동일한 온도로 방치한다. 남은 스트립은 외부 호일 팩에 넣고 방습재를 넣은 후 재밀봉한다.
2) Panel A (*M. tuberculosis* ESAT-6 항원 바이알)는 바로 사용 가능하다.
3) Panel B (M. *tuberclulosis* CFP-10 항원 바이알)는 바로 사용 가능하다.
4) Positive Control 바이알은 바로 사용 가능하다.
5) Conjugate Reagent 용액은 1:200 희석하여 작업 농도의 용액으로 준비한다. 필요한 작업 농도 Conjugate Reagent solution를 계산한다 (CD에 포함된 T-SPOT conjugate 희석 계산기 참고). 이 작업 농도 용액은 사용하기 직전에 준비한다. 또는 작업 농도로 만든 후 2~8°C에서 최대 6주간 보관해 둘 수 있다. 유효기간이 초과하면 사용하지 말도록 한다.
6) Substrate Solution은 바로 사용가능한 상태로 제공된다. 사용 전 실온으로 올린 후 사용한다.

6. 검체 수집 및 준비

각 실험자는 혈액 검체 수집, PBMC 분리 및 계수, 검사의 1차 배양 단계에서 T 세포 기능을 지원하는 적절한 배지 선택에 대한 실험 절차를 검증해야 한다. 일반적으로 면역력이 있는 환자의 경우, 다음 지침에 따라 정맥혈 검체에서 검사를 실행하기에 충분한 PBMC를 얻을 수 있다:

- 성인 및 10세 이상 소아 : 1개의 8ml 또는 2개의 4ml CPT tube, 또는 1개의 6ml heparin 또는 citrate tube
- 2~9세 소아 : 1개의 4ml CPT, heparin, 또는 citrate tube
- 2세 이하 소아 : 1개의 2ml 소아용 tube

혈액 검체는 :

- 실온에 보관하고 채혈 8시간 이내에,
- T-Cell *Xtend* reagent를 사용한다면 10~25°C에 보관하고 32시간 이내에,
- T-Cell *Select* reagent kit를 사용한다면 18~25°C에 보관하고 54시간 이내에,

검사를 실시해야 한다.

세포 배양 배지는 T-SPOT.TB 검사를 진행하기 전 37°C로 가온 해둔다.

절차	노트
1. 채혈 기구의 안내서에 따라 혈액 검체를 수집한다. 수집된 혈액은 실온(18~25°C)에 보관한다. T-Cell Xtend reagent를 사용한다면 10~25°C에 보관한다. 냉장 또는 냉동하지 않도록 한다.	1. 혈액 검체는 다양한 tube에 수집할 수 있다. 자사의 실험실에서는 Vacutainer citrate CPT, heparin CPT, standard heparin 또는 cirate tubes를 성공적으로 사용하고 있다. CPT tube는 T-Cell Xtend reagent와 같이 사용할 수 없다.

	EDTA tube는 권장되지 않는다.
2. CPT 채혈관을 사용하는 경우, PBMCs 분리에 대한 제조사의 지시사항을 따른다. Heparin 이나 citrate가 함유된 채혈 vautainer를 사용하는 경우, 공인된 절차를 따라 FIcoll-Paque Plus와 원심분리법을 사용하여 PBMCs를 분리한다. Leucosep tubes와 T-Cell Select reagent kit 또는 T-Cell Xtend reagent를 사용하는 경우, 이 시약들에서 제공하는 다음의 방법을 사용한다.	2. 8ml CPT tube는 1600xg, 28분간, 4ml CPT tube는 1800xg, 30분간, 18°C에서 원심분리한다. 냉장기능이 없는 원심분리기를 사용하는 경우 온도가 25°C를 넘지 않도록 한다. 대체 방법으로, 혈액을 동일 부피의 RPMI 1640 배지로 희석한 후 1 부피의 Ficoll-Paque Plus위에 2부피의 희석한 혈액을 조심스레 적층하고 18~25°C의 온도를 유지하면서 22분간 1000xg에서 원심분리한다. 채혈 후 8~32시간된 검체의 경우, T-Cell Xtend reagent 사용한 후 Ficoll-Paque Plus위에 검체를 적층한다. 채혈 후 54시간내의 보관된 검체의 경우, T-Cell Select reagent kit에서 제공하는 프로토콜을 따른다. 원심분리 속도는 CD에 포함된 속도 계산기가 x g 값을 rpm값으로 변환하는데 도움이 된다. 다른 PBMC 분리 방법을 사용하는 경우, 사용자가 유효성을 검증해야 한다.
3a. 흰색 구름모양의 밴드로 보이는 PBMCs를 피펫으로 수집하여 15ml conical centrifuge tube로 옮기고 세포 배양 배지를 첨가하여 10ml 부피로 만든다. 3b. 다른 방법으로, 세포 세척 원심분리기(예를 들면, Bio-Rad사의 DiaCent-CW)를 사용하여 세포 세척 단계를 용이하게 할 수 있다. 이 시스템을 사용한다면 세척 용액으로 D-PBS를 사용하는 것이 좋다.	3a. 이 단계에서 다양한 배지가 사용될 수 있다. 자사 실험실에서는 AIM-V와 RPMI 1640을 성공적으로 사용하고 있으며 권장한다. 3b. 세포 세척 원심분리기를 사용하는 방법은 Oxford Immunotec에서 제공할 수 있으나 실험자는 자체 실험실에서 이 방법을 검증해야 할 것이다.
4. 600xg에서 7분간 원심분리한다. 상층액을 부어서 버리고 침전물을 1ml 배지에 재현탁한다.	4. 위의 3a 참고
5. 새 배지로 10ml 부피로 만든 후 350xg에서 7분간 원심분리한다.	5. 위의 3a 참고
6. 상층액을 부어서 버리고 침전물을 0.7ml AMI-V 배지에 재현탁한다.	6. 이 단계에서 밤샘 배양을 위한 배지를 침전물 재현탁에 사용해야 한다. 자사 실험실에서는 무혈청배지인 AIM-V를 성공적으로 사용하고 있고 강력히 권장한다.

기관지폐포세척액(BAL), 흉막삼출액(PE) 또는 뇌척수액(CSF)과 같은 다른 체액에서 얻은 T 세포는 결핵 감염 및 질병을 확인하기 위해 T-SPOT.TB 검사와 함께 성공적으로 사용되었다. 비혈액 샘플을 사용하는 경우, 사용자는 충분한 단핵 세포를 수집하기 위한 절차를 검증해야 한다.

참고 1: 비혈액 샘플을 사용한 검사의 양성 판정 컷오프와 유효한 대조군은 광범위하게 평가되지 않았으며 혈액 검사와 다를 수 있다. 사용자는 검사 해석 기준을 정의해야 하고 임상의는 결과를 검토할 때 자신의 판단을 사용해야 한다.

참고 2: 검체 채취부터 검사 시작까지의 시간은 광범위하게 연구되어 있지 않다.

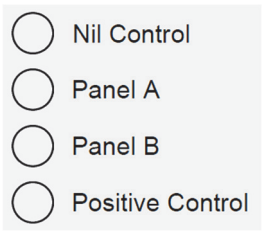
7. 세포 계수 및 희석

T-SPOT.TB 검사에는 well당 2.5 x 10^5개의 살아있는 PBMC가 필요하다. 각 환자 검체에는 총 4개의 well이 필요하다. 각 well에 정확한 수의 세포를 추가해야 한다. 그렇지 않으면 결과가 잘못 해석될 수 있다.

절차	노트
1. 생존 세포수 계수를 실시한다.	1. 세포 계수는 다양한 방법을 사용할 수 있다. Trypan Blue와 혈구계수기를 사용하는 수동 방법 또는 적절한 장비를 사용하는 자동 계수 방법이 있다.
2. 니바우어 혈구계수기를 사용하는 수동 방법의 경우, 10㎕의 세포 현탁액을 40㎕의 0.4%(w/v) Trypan Blue 용액에 첨가한다. 소량을 혈구계수기위에 올리고 격자에 있는 세포를 계수한다. 다른 종류의 혈구계수기와 자동 장비의 경우, 각 제조사의 지시사항을 따른다.	2. 희석을 위해 세포 현탁액 소량을 배내기 직전과 세포계수를 위해 혈구계수기에 소량을 올리기 직전에 완전히 혼합될 수 있게 한다. 세포는 바닥쪽으로 가라앉는 경향이 있어 잘 혼합하지 않으면 진정한 세포수를 얻을 수 없다.
3. 세포 현탁액의 생존 세포 농도를 계산한다.	3. 세포가 부족하거나 과도하면 결과가 잘못 해석될 수 있으므로 사용된 세포 계수 시스템에 맞게 계산이 올바른지 확인하도록 한다. CD에서 제공하는 T-SPOT 세포 희석 계산기를 사용하면 쉽게 계산할 수 있다.
4. 최종적으로 2.5 x 10^5 cells / 100㎕ 농도의 세포 현탁액 500㎕를 준비한다.	4. 2에서와 마찬가지로 세포는 가라앉는 경향이 있으므로 분주 작업을 할 때는 완전히 혼합한 후에 실시하도록 한다.

8. 플레이트 셋업 및 배양

본 검사는 각 환자 검체당 4개의 well이 필요하다. Nil Control과 세포 생존을 의미하는 Positive Control을 각 검체와 함께 실행된다. 검체는 다음과 같이 세로로 배열하길 권장한다.



절차	노트
1. 패키지에서 8-well 스트립을 꺼내서 plate frame에 고정하고 실온까지 온도를 올린다.	1. 스트립은 필요한 수 만큼 꺼내고 나머지는 다시 보관한다. 하단 커버와 뚜껑이 있는 빈 plate frame에 스트립을 고정한다. Frame, 커버, 뚜껑은 보관했다가 재사용할 수 있다.
2. 각 환자 검체는 4개의 well이 필요하다: (i) 50㎕의 AIM-V 배지를 각 Nil Control well에 첨가한다. (ii) 50㎕의 Panel A 용액을 필요한 각 well에 첨가한다. (iii) 50㎕의 Panel B 용액을 필요한 각 well에 첨가한다. (iv) 50㎕의 Positive Control 용액을 각 각 cell functionality control well에 첨가한다.	2. 피펫팁이 well의 바닥의 막(membrane)에 닿지 않도록 한다. 피펫팁에 의한 막의 함몰이 인공 결과물을 초래할 수 있다. 각 well 바닥의 막에 용액이 잘 퍼질 수 있도록 plate를 옆으로 가볍게 두드려야 할 수도 있다. 너무 세게 교반하지 않도록 하여 각 well간의 항원 교차 오염을 피해야 한다.
3. 각 환자 검체에 사용된 4개 well 각각에 최종 세포 현탁액 100㎕(250,000개의 생존 세포수를 포함하고 있다)를 첨가한다.	3. 100㎕를 취하기전에 피펫으로 흡입/배출을 반복하여 완전히 혼합시켜준다. 각 well에 세포 현탁액을 첨가할 때는 매번 새로운 팁을 사용하여 교차오염을 피하도록한다.
4. plate를 37°C, 5% CO_2 가습 배양기에서 16~20시간 동안 배양한다.	4. plate를 배양기에 놓고 나면 외부의 힘이 가해지지 않도록 한다. 온도 분포가 고를지 못할 수도 있으니 Plate를 층으로 쌓지 않도록 한다. 권고된 배양 시간 및 조건을 지키지 못할 경우 결과의 부정확한 해석을 초래할 수 있다. 배양기에 충분한 물이 공급되는 지 확인하여 배양시간 동안 가습을 유지할 수 있도록 한다.

9. 스팟 발색 및 계수

플레이트 세척 및 발색 단계에서는 피펫 팁이나 자동 웰 세척기 팁으로 막을 건드리지 않는다. 피펫 또는 웰 세척기 팁으로 인한 막의 움푹 들어간 부분이 웰의 아티팩트로 발생하여 스팟 계수를 방해할 수 있다.

절차	노트
1. 배양기에서 plate를 꺼낸다.	1. 주말 동안 자원 문제 등으로 처리가 불가피하게 지

	연되는 경우, 배양기에서 플레이트를 꺼내 2~8°C에서 보관할 수 있다. 최대 권장 보관 시간은 72시간이며 보관 중에는 플레이트를 덮어야 한다. 고객은 자체 실험실에서 이 과정을 검증해야 한다.
2. 세포 배양액을 버리고 각 well에 200µℓ의 D-PBS 용액을 첨가한다.	2. 이 때 키트에서 Substrate Solution을 꺼내서 실온과 동일하도록 둔다.
3. D-PBS 용액을 버린다. 이러한 세척 과정을 3회 더 반복한다.	3. 최종 세척 단계에서는 종이타올을 깔고 plate를 꺼꾸로해서 모든 D-PBS가 제거될 수 있게 한다.
4. 농축 Conjugate Reagent를 D-PBS에 200배 희석하여 작업 농도의 용액을 만든다.	4. 높은 백그라운드 계수를 초래하기 때문에 Tween® 이나 기타 계면활성제가 포함된 D-PBS를 사용하지 않는다. 작업농도 Conjugate Reagent는 피펫 이나 용기 손실을 감안하되 필요한 양만 준비한다. Well당 50µℓ이 사용되므로 8-well strip 1개에 대해서 2.5µℓ의 농축 농도와 497.5µℓ의 D-PBS를 혼합하여 500µℓ를 준비한다. CD에 포함된 conjugate 희석 계산기를 계산에 사용할 수 있다.
5. 50µℓ의 작업 농도 Conjugate Reagent 용액을 각 well에 첨가하고 2~8°C에서 1시간 동안 배양한다.	5. 배양 시간을 준수하지 않으면 잘못된 결과 해석을 초래할 수 있다.
6. conjugate를 버리고 위의 단계 2 및 3에 따라 D-PBS 세척을 4회 실시한다.	
7. 50µℓ의 Substrate Solution을 각 well에 첨가하고 실온에서 7분간 배양한다.	7. 배양 시간을 준수하지 않으면 잘못된 결과 해석을 초래할 수 있다.
8. 증제수 또는 탈이온수로 plate를 완전히 세척하여 검출 반응을 정지시킨다.	
9. 통기가 잘되는 곳 또는 37°C 이하의 오븐에서 plate를 세워서 건조시킨다.	9. plate가 건조됨에 따라 스팟은 잘 보이게 된다. 37°C에서 4시간 건조하거나 실온에서 밤샘 건조시킨다.
10. 각 well의 막위에 나타난 뚜렷하고 검푸른 스팟을 계수하고 기록한다. 아래의 “결과 해석 및 검사 기준”을 적용하여 환자 검체가 TB 항원에 대해서 양성인지 음성인지를 결정한다.	10. 스팟 검출은 다양한 방법을 사용할 수 있다: 확대경, 현미경, 디지털 현미경, 또는 전용 ELISPOT 플레이트 이미지장치를 사용할 수 있다. 스팟 계수 훈련 안내서(T-SPOT.Tutor programme)는 Oxford Immuntec 웹사이트에서 얻을 수 있다.

품질관리

전형적인 결과는 Nil Control에서는 스팟이 거의 없거나 전혀 없고 Positive Control에서는 20개 이상의 스팟이

있을 것으로 예상된다.

Nil Control 스팟 수가 10개를 초과하면 '**불확정(intermediate)**'으로 간주해야 한다. 가능한 원인에 대해서는 T-SPOT.TB Training Guide(www.oxfordimmunotec.com 에서 다운로드 가능)를 참조한다. 해당 환자로부터 검체를 다시 채취하여 검사해야 한다.

일반적으로 세포 기능 Positive Control 스팟 수는 20개 이상이거나 포화 상태(셀 수 없을 정도로 많은 스팟)여야 한다. 소수의 환자는 PHA에 제한적인 반응만 보이는 T 세포를 가지고 있을 수 있다. Positive Control 스팟 수가 20개 미만인 경우, 아래의 "결과 해석 및 검사 기준"에 설명된 대로 Panel A 또는 Panel B가 '양성(Positive)'이 아닌 한 '**불확정(Intermediate)**'으로 간주해야 하며, 이 경우 결과는 유효하다.

생물학적 및 체계적 변이 가능성으로 인해, (Panel A – Nil Control)과 (Panel B – Nil Control) 중 더 높은 값의 스팟수가 5, 6 또는 7인 경우, 결과는 **경계선**(**Borderline**, 모호함(equivocal))으로 간주될 수 있다. 경계선 결과는 유효하지만, 스팟 수가 컷오프에서 더 멀리 떨어져 있는 결과보다 신뢰도가 떨어진다. 따라서 새로운 검체를 사용하여 환자를 재검사하는 것이 좋다. 재검사에서도 여전히 경계선 결과가 나오면 다른 진단 검사 및/또는 역학 정보를 사용하여 환자의 결핵 감염 상태를 확인해야 한다.

ESAT-6 및 CFP10 항원은 *M. bovis*의 BCG 균주 및 대부분의 환경성 마이코박테리아에는 없지만, *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum* 또는 *M. gordonae*의 감염으로 인해 T-SPOT.TB 검사 결과 '양성' 판정이 나타날 수 있다. 이러한 감염이 의심되는 경우 다른 검사가 필요하다.

결과해석 및 검사 기준

다음의 기준을 적용하기 전에 "품질 관리" 섹션을 참고하도록 한다.

T-SPOT.TB 검사 결과는 다음 알고리즘에 따라 각 Panel의 스팟 수에서 Nil Control의 스팟 수를 뺀 값으로 해석된다:

- (Panel A – Nil Control) 및/또는 (Panel B – Nil Control) ≥ 6인 경우, 결과는 **양성**
- (Panel A – Nil Control) 및 (Panel B – Nil Control) 둘 다 ≤ 5인 경우(음수도 포함), 결과는 **음성**

'양성' 결과는 검체에 *M. tuberculosis*에 반응하는 effector T 세포가 포함되어 있음을 의미한다.

'음성' 결과는 검체에 *M. tuberculosis*에 반응하는 effector T 세포가 포함되어 있지 않을 가능성을 의미한다.

성능

특이도(Specificity)는 병력 및 개인 정보를 통해 *M. tuberculosis* 감염 위험이 낮다고 판단된 기증자의 93개 검체를 검사하여 평가하였다. T-SPOT.TB 검사의 특이도는 100%(93/93)로 계산되었다(95% 신뢰 한계 95.8% -

100%).

민감도(Sensitivity)는 면역력이 저하된 그룹을 포함하여 *M. tuberculosis* 감염이 확인된 사례에서 배양한 87개의 검체를 검사하여 평가하였다. T-SPOT.TB 검사의 민감도는 98.8%(86/87)(95 % 신뢰 한계 90.8% - 99.9%)로 계산되었다.

재현성(Reproducibility)은 검사 내 변이의 대리 마커로서 동일한 플레이트에서 실행된 중복 혈액 검체를 분석하여 평가하였다. 140명의 개별 기증자로부터 얻은 총 145개의 혈액 샘플을 T-SPOT.TB 검사를 사용하여 중복 검사(Panel A와 Panel B에 각각 두 개의 well)를 하였다. 142/145건(97.9%)의 중복 분석에서 임상적 일치도가 관찰되었다. 2건의 중복 분석에서 경계선 결과가 일치하지 않았으며, 1/145 샘플에서만 일치하지 않는 결과가 나왔다.

사용상 주의사항

1. 일반 주의 사항
   1) 체외 진단용으로만 사용해야 한다.
   2) 전문가가 사용해야 한다.
   3) 사용 전에 사용 설명서를 주의 깊게 읽어야 한다.
   4) 개봉하지 않은 키트는 2-8°C에서 보관하며, 유효기간이 지난 키트는 사용하지 않는다.
   5) lot 번호가 서로 다른 키트의 구성품들을 혼합하여 사용하지 않는다.
   6) 시약, well, 세포현탁액, 세포 배양 배지의 오염을 방지하기 위해 무균 작업 기술을 준수해야 한다.
   7) 명시된 피펫팅 및 세척 기술, 배양 시간 및/또는 온도를 변경하면 실제 결과에 영향을 미칠 수 있으므로 이를 피해야 한다.
   8) 인체 유래 물질을 취급할 때는 주의를 기울여야 한다. 모든 혈액 검체는 감염 가능성이 있는 것으로 간주해야 한다.
   9) 혈액 검체 및 키트 구성품의 취급, 사용, 보관 및 폐기는 해당 국가의 생물학적 위험 안전 지침 또는 규정에 정의된 절차에 따라야 한다.
   10) 화학 물질을 다룰 때는 주의를 기울여야 한다. 모든 화학물질은 잠재적으로 위험한 것으로 간주해야 한다.
   11) 혈액을 채취하여 8시간 이내에 검사를 진행해야 한다. 이 시간 제한은 T-Cell *Select*™ Reagent Kit 또는 T-Cell *Xtend*® Reagent(옥스포드 이뮤노텍에서 별매 제공)을 사용하여 극복할 수 있다. T-Cell *Select* Reagent Kit를 T-SPOT.TB 검사와 함께 사용하면 검체 보관 시간이 54시간으로 늘어나고 세포 분리 과정을 자동화할 수 있다. T-Cell *Xtend* Reagent 또는 기타 과립구 제거 방법을 T-SPOT.TB 검사와 함께 사용하면 검체 보관 시간이 32시간으로 늘어난다.
   12) 일반 혈액 검체와 T-Cell Select 시약 키트와 함께 사용할 혈액 검체는 실온(18-25°C)에서 보관하고 실험실로 운반한다. T-Cell Xtend 시약을 사용할 검체의 경우, 검체를 10-25°C에서 운반 및 보관할 수 있다. 전혈 검체를 냉장 또는 냉동 보관하지 않는다.

2. 제한 사항

1) T-SPOT.TB 검사는 전체 임상 상황의 맥락에서만 사용하고 해석해야 한다.
2) 검사 결과가 음성이라고 해서 *M. tuberculosis*에 노출되거나 감염되었을 가능성을 배제할 수는 없다.
3) ESAT-6 및 CFP10 항원은 BCG 균주 및 대부분의 환경성 마이코박테리아에서 결핍되어 있으나 *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum* 및 *M. gordonae*에는 존재한다. 이러한 감염으로 인해 T-SPOT.TB 검사 결과 '양성' 판정이 나타날 수 있으며 감염이 의심되는 경우 다른 검사가 필요하다.

제개정 정보(Revision)

문서번호: MSD-UM_TB.300

제개정 번호(Rev.)	발행일자	내용
3	2024.04.	
4	2026.11.10.	문서번호 변경: MSD-UM_TB.300_T-SPOT.TB에서 MSD-UM_TB.300으로 변경; 영문판 PI-TB-IVD-UK-v7(revision 7, April 2025) 반영; 구성품에서 CD를 제외하고 한글 제품 설명서의 온라인 다운로드 사이트 제공 명기