



**РЕГИОНАЛЬНЫЙ СЕМИНАР ПО ВОПРОСУ УСКОРЕННОГО ВНЕДРЕНИЯ
РУКОВОДСТВА ВОЗ ПО ПРОФИЛАКТИКЕ И ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА И ЛЕЧЕНИЮ
ТУБЕРКУЛЕЗА С ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ (ЛУ-ТБ)**

**REGIONAL WORKSHOP ON ACCELERATED IMPLEMENTATION OF WHO GUIDELINES
ON TB PREVENTION, DIAGNOSIS, AND DRUG-RESISTANT TB (DR-TB) TREATMENT**

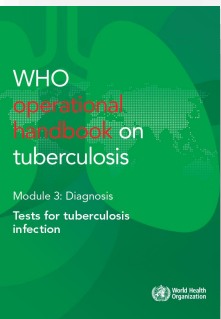


ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр фтизиопульмонологии и
инфекционных заболеваний» Минздрава России

Опыт применения тестов на основе ТБ-антигенов для диагностики туберкулезной инфекции

Тинькова Валентина Вячеславовна,
заместитель главного врача по медицинской части ФГБУ
«Национальный медицинский исследовательский центр
фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний»
Минздрава России, к.м.н.

Современные технологии для раннего выявления туберкулезной инфекции



- **Определение реакции гиперчувствительности замедленного типа** на наличие в организм вирулентного возбудителя *Mycobacterium tuberculosis* (кожный тест *in vivo*) - проба с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (Диаскинтест)

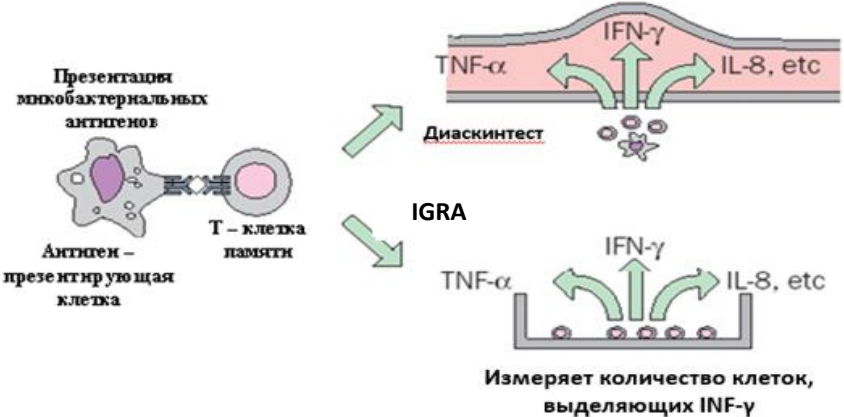
- **IGRA-тесты** (*interferon Gamma – release assays*)
 - ✓ Определение в крови эффекторных Т-клеток, реагирующих на стимуляцию антигеном *Mycobacterium tuberculosis* (ELISPOT) – более точный вариант иммуноферментного анализа (ИФА)
 - ✓ Определение в крови уровня интерферона-гамма, выделенного в ответ на стимуляцию антигеном *Mycobacterium tuberculosis* (классический ИФА) (T-spot-TB, QuantiFERON®-TB Gold, Тигра-Тест-ТБ)

Основа современных иммунологических тестов:

белки ESAT-6 и CFP-10 (продуцируются при активном размножении *M.Tuberculosis*) выделены после полной расшифровки и сравнении геномов *M.Tuberculosis* и *M.bovis* BCG, других микобактерий



Суть тестов:



* Рисунки адаптированы из книги «Кожная проба с препаратом «Диаскинтест» – новые возможности идентификации туберкулезной инфекции». Под ред. М.А. Пальцева, 2011: 73–87

ДИАСКИНТЕСТ - скрининговый тест для диагностики туберкулезной



Аллерген туберкулезный рекомбинантный в стандартном разведении-рекомбинантный белок (ESAT6/CFP10), продуцируемый генетически модифицированной культурой *Escherichia coli* BL21 (DE3)/

- Действие препарата Диаскинтест® основано на выявлении клеточного иммунного ответа на специфические для *Mycobacterium tuberculosis* антигены.
- При внутрикожном введении Диаскинтест® вызывает у лиц с туберкулезной инфекцией (как активной, так и латентной) специфическую кожную реакцию (папула), являющуюся проявлением гиперчувствительности замедленного типа.

Показания

Диагностика туберкулезной инфекции (включая ЛТИ) во всех возрастных группах

Способ введения

Внутрикожно (аналогично туберкулиновому тесту)

Результат

Измерения папулы через 72 часа

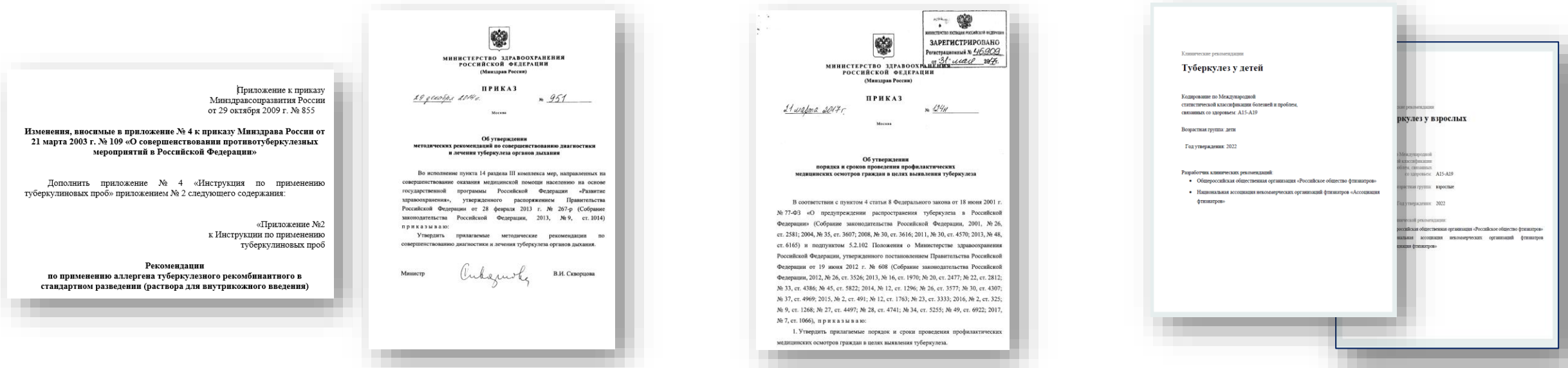
Диагностическая эффективность:

- Чувствительность – 98,3%*
- Специфичность – 98,5%/99,0%**
- Вакцинация БЦЖ не влияет на результат Диаскинтеста



РУ 11.08.2008

Этапы внедрения Диаскинтеста в клиническую практику



2009

Применение Диаскинтеста **в группах повышенного риска по развитию туберкулеза** (учреждения противотуберкулезной службы)

2014

Диаскинтест в качестве скринингового метода детско-подросткового населения на туберкулезную инфекцию с целью формирования групп наиболее высокого риска заболевания туберкулеза и последующего предупреждения новых случаев заболевания (рекомендательный характер)

2017

Диаскинтест в качестве **обязательного скринингового теста детско-подросткового населения** на туберкулезную инфекцию с целью формирования групп наиболее высокого риска заболевания туберкулеза и последующего предупреждения новых случаев заболевания (общая лечебная сеть)

2020

2022

Клинические рекомендации: Диаскинтест в качестве

- обязательного скринингового теста у детей и подростков;**
- в алгоритме диагностики туберкулеза у взрослых**

Результаты поэтапного внедрения Диаскинтеста в клиническую практику

2012-2013 гг.*

- **1 830 432 детей и подростков**
- многоцентровое сплошное ретроспективное исследование применения Диаскинтеста на территориях г. Москвы, Самарской и Рязанской областей

Результаты:

- в 97% случаев подтвержден диагноз «туберкулез»
- **на 25% сократилось число лиц, подлежащих наблюдению у врача-фтизиатра**
- **более, чем на 50% сократились затраты** на проведение превентивной терапии в группах риска
- выделена группу лиц с латентной туберкулезной инфекцией и именно среди них адресно проводится превентивную терапию.

2016 г. **

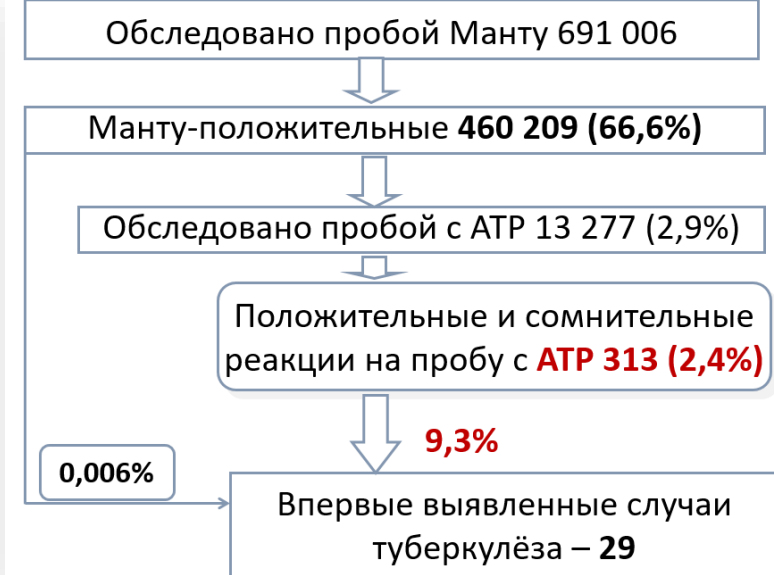
- **109 207 детей и подростков**
- изучение эффективности пробы Манту и Диаскинтеста для скрининга на туберкулезную инфекцию у детей и подростков в условиях общей лечебной сети (ОЛС) в Ставропольском крае.

Результаты:

- у школьников 8–17 лет **в 37 раз выше выявляемость специфической туберкулезной патологии** при использовании Диаскинтеста в ОЛС, чем по пробе Манту
- целенаправленно и гораздо **точнее выделяются группы высокого риска заболевания туберкулезом**

2020 гг.***

- оценка эффективности **массового скрининга** для выявления туберкулезной инфекции у детей в возрасте от **1 до 7 лет**



*Аксенова В.А., Барышникова Л.А., Клевко Н.И. Современные подходы к скринингу туберкулезной инфекции у детей и подростков в России. Медицинский Совет. 2015 (4): 30-35

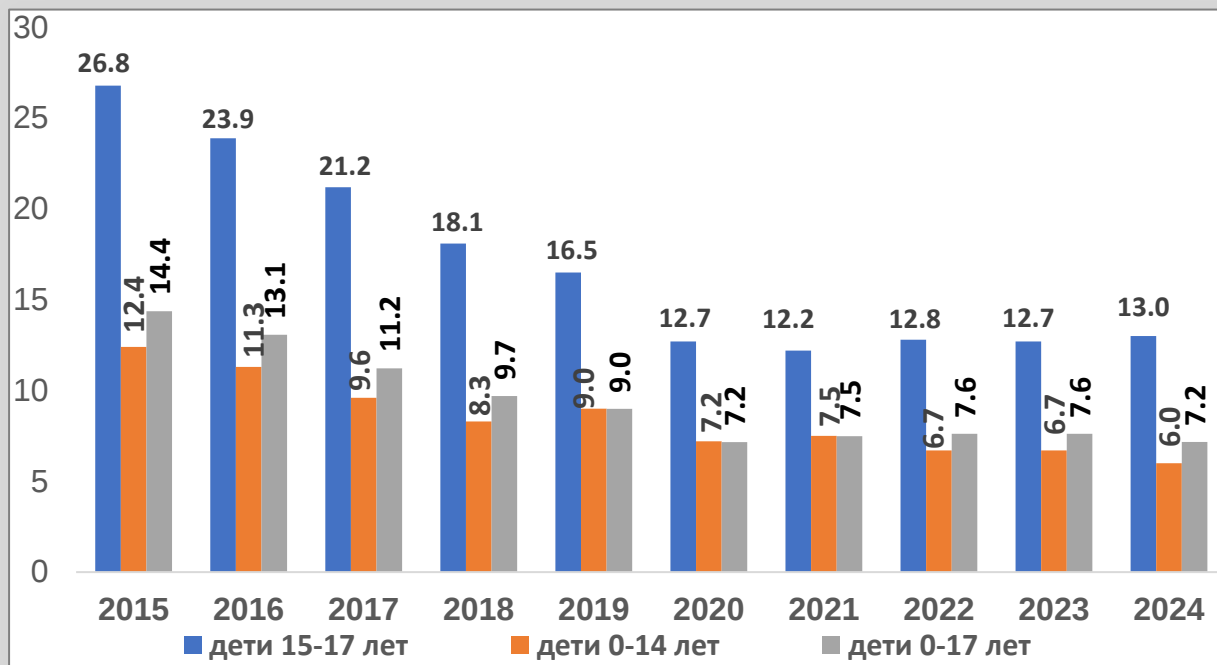
**Аксенова В.А., Моисеева Н.Н., Клевко Н.И., Одинец В.С., Баронова О.Д. Эффективность различных скрининговых методов раннего выявления туберкулеза у детей и подростков. Вопросы практической педиатрии, 2016. 11(4):9-17 DOI:10.20953/1817-7646-2016-4-9-17

***Слогодская Л. В., Богородская Е. М., Шамуратова Л. Ф., Севостьянова Т. А. Оценка эффективности массового скрининга для выявления туберкулезной инфекции у детей в возрасте от 1 до 7 лет в Москве. Туберкулез и болезни лёгких. 2021. 99(12): 14-21. <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2021-99-12-14-21>

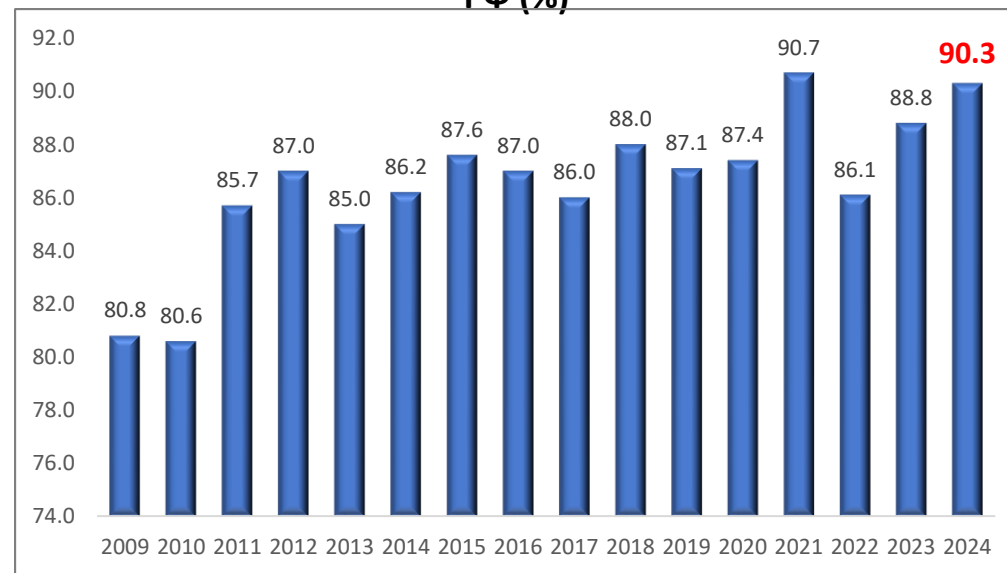
Некоторые эпидемические показатели по туберкулезу у детей 0-17 лет на фоне применения Диаскинтеста, РФ

21.03.2017
приказ Минздрава России
№ 124н - массовый скрининг
у детей с 8-ми лет на всей территории РФ
с применением Диаскинтеста

Заболеваемость туберкулезом детей в РФ
на 100 тысяч населения соответствующего возраста



Доля активно выявленных
больных туберкулезом детей 0-17 лет,
РФ (%)

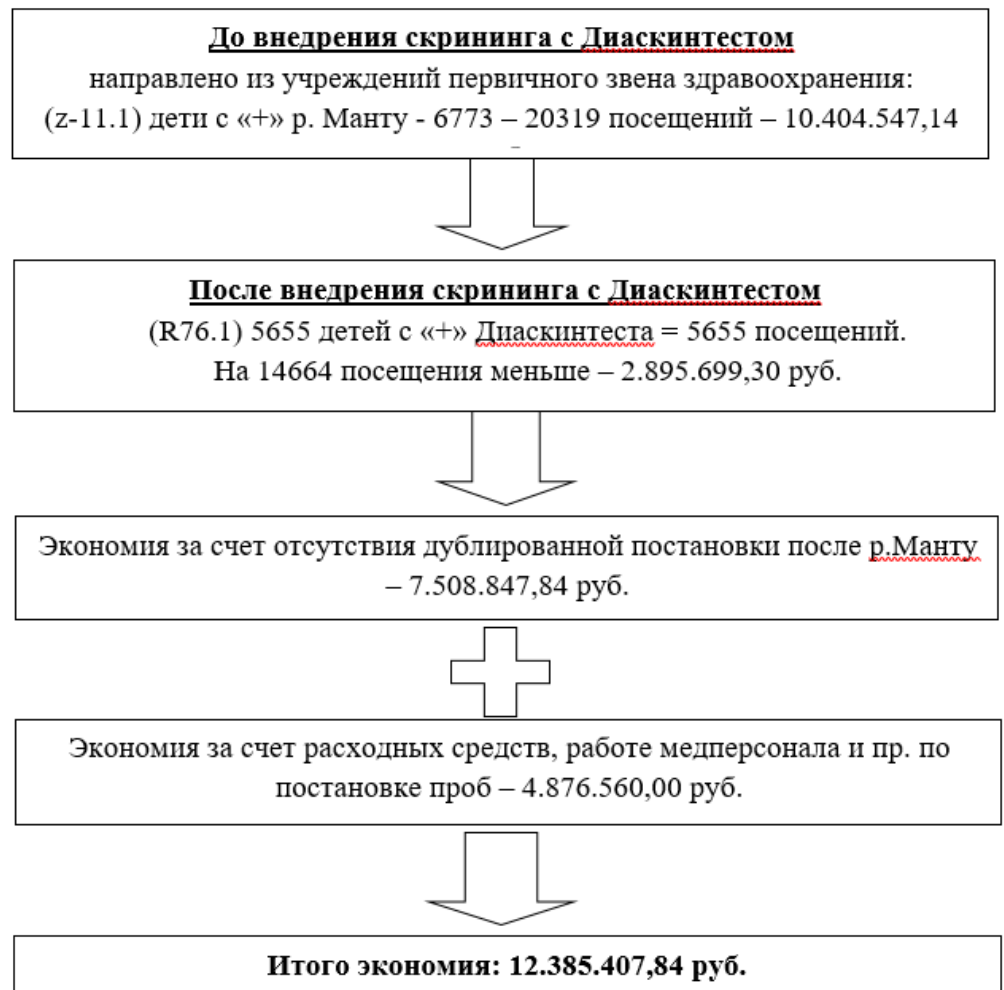


в 3, 4 раза снизилась заболеваемость лиц молодого
возраста (18-24 года)

Отмечено значительное уменьшение случаев смерти от
туберкулеза в детском возрасте, а также доли больных
туберкулезом ЦНС среди впервые выявленных случаев
туберкулеза среди детей

Фармакоэкономическое преимущество применения Диаскинтеста

Расход финансовых средств на скрининг до (в 2013 г.)
и после (в 2019 г.) введения Диаскинтеста у детей
(Свердловская область)*



Анализ «затраты/эффективность»**

Параметр	Проба Манту	Проба Манту + Диаскинтест	Диаскинтест
Затраты на одного ребенка, руб.	209,0	228,0	182,0
Эффективность диагностики	0,003%	0,006%	0,024%
Затраты/эффективность	69 666	38 000	7 583

Диаскинтест позволяет значительно повысить качество массовых осмотров на туберкулез и является экономически более выгодным в сравнении с традиционной туберкулинодиагностикой.

*угаев Ю.П., Камаева Н.Г., Цветков А.И. и соавт. Инновационные рекомбинантные технологии выявления и диагностики туберкулеза у детей и подростков: достижения и проблемы. Педиатрия им. Г.Н. Сперанского. 2020; 99 (6): 112–118.

**Моисеева Н.Н. Аллерген туберкулезный рекомбинантный как скрининг-метод раннего выявления туберкулеза у детей и подростков при массовых профилактических осмотрах. Автореф. дис. ... канд. Мед. Наук Москва, 2016

The diagnostic performance of novel skin-based in-vivo tests for tuberculosis infection compared with purified protein derivative tuberculin skin tests and blood-based in vitro interferon- γ release assays: a systematic review and meta-analysis



*Maria Knobelová, *Lena Faust, Vladyslav Nikolayevskyy, Yoshiei Hamada, Rishi K Gupta, Daniela Cirillo, Alberto Matelli, Alexei Korobitsyn, Claudia M Denzinger, Molebogeng X Rangaka

Диагностическая эффективность новых кожных тестов на туберкулезную инфекцию in-vivo: систематический обзор и мета-анализ (Lancet, 2021)

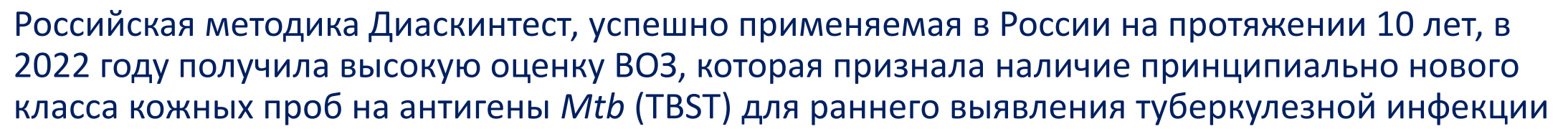
Анализируемые тесты: Диаскинтест (Generium, Moscow, Russia),

C-Tb (Serum Institute of India, Pune, India),

EC-skintest (недавно переименованный в Creative-TST или C-TST, Anhui Zhifei Longcom, Hefei, China)

Тесты сравнения: туберкулиновая проба, IGRA-тесты

Тесты In vivo	Совпадение с результатами IGRA-тестов	Совпадение с результатами туберкулиновой пробы	Чувствительность в сравниваемых исследованиях, %(95% ДИ)			
			Изучаемый тест	Туберкулиновый тест	T-СПОТ.ТБ	QuantiFERON
Диаскинтест	87,16% (79,47-92,24)	55,45% (46,08-64,45)	91,18% (81,72-95,98)	88,24% (78,20-94,01)	90,91% (79, 95-96,16)	89,66 (78,83-95,28)
C-Tb	79,80% (76,10-83,07)	78,92% (74,65-82,63)	74-52% (70,39-78,25)	78,18% (67,75-85,94)	71,67% (63,44-78,68)	
EC-skintest			86,06% (82,39-89,07)			



WHO
operational
handbook on
tuberculosis

Module 3: Diagnosis

Tests for tuberculosis infection

Mycobacterium tuberculosis antigen-based skin tests (TBSTs) may be used to test for TB infection.

Conditional recommendation for the intervention, very low certainty of the evidence

The TBST class is defined as in vivo skin tests for the detection of TB infection that use *Mtb*-specific antigens (ESAT-6 and CFP-10).

The following technologies were included in the evaluation:

- Cy-Tb (Serum Institute of India, India);
- **Diaskintest (Generium, Russian Federation);**
- C-TST (formerly known as ESAT6-CFP10 test, Anhui Zhifei Longcom, China).

Преимущества методики Диаскинтест:

- Высокая чувствительность и специфичность
- Высокая согласованность результатов TBST и IGRA-тестов у лиц, не болеющих туберкулезом (89%), и у лиц с туберкулезом – (86%)
- Высокая точность TBST и безопасность по сравнению с туберкулиновой пробой
- Фармако-экономическая выгода



Diaskintest (Generium, Russian Federation) is a recombinant protein produced by genetically modified culture of *Escherichia coli* BL21 (DE3)/pCFF-ESAT, diluted with sterile isotonic phosphate buffer solution, with a preservative (phenol). One dose (0.1 mL) of the product contains 0.2 µg of CFP-10-ESAT-6 recombinant protein, and excipients - disodium phosphate dihydrate, sodium chloride, potassium dihydrogen phosphate, polysorbate 80, phenol and water for injection (40).

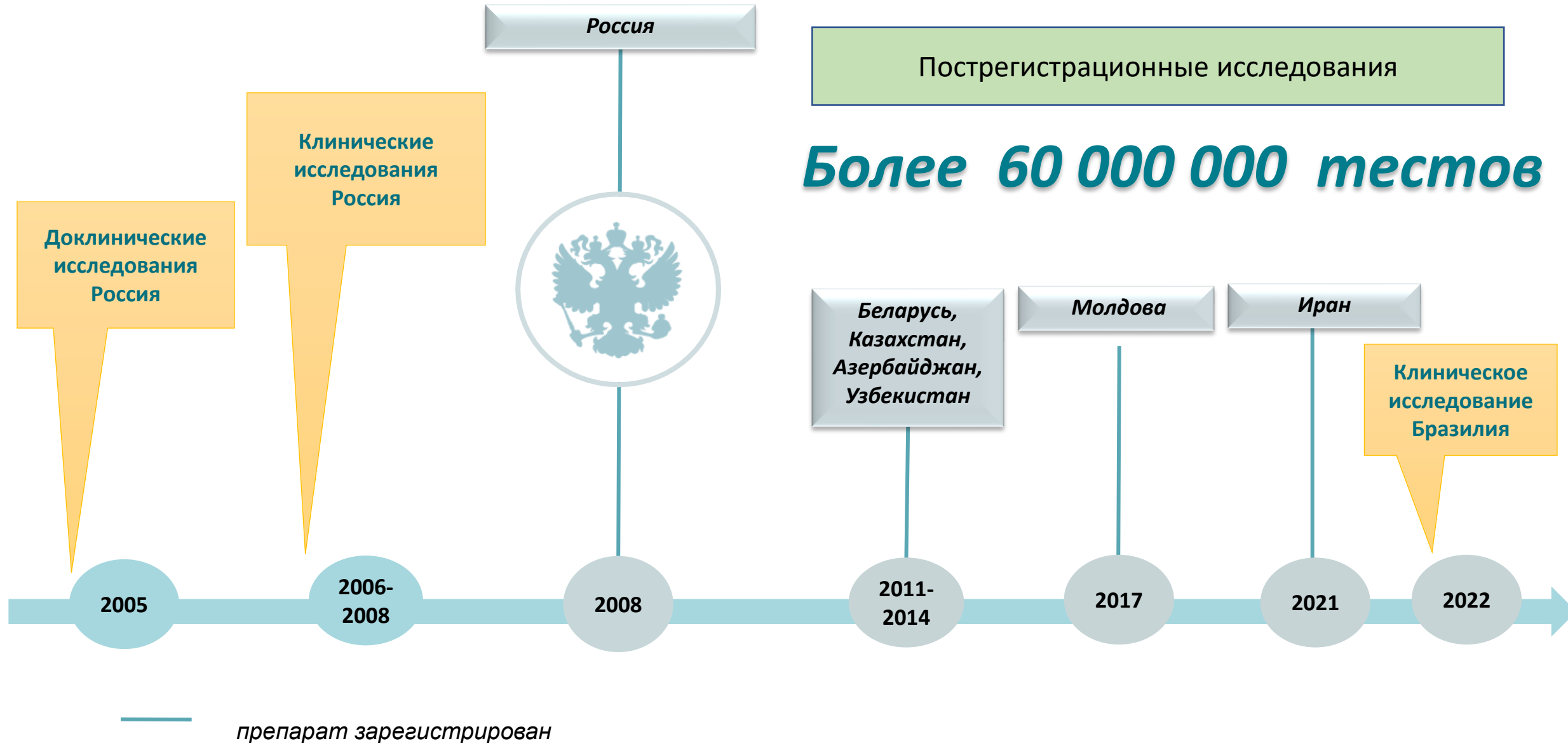
Fig. 3.2. Diaskintest package and vial



Source: Reproduced with permission of Generium, ©2021. All rights reserved.

The manufacturer recommends administration intradermally and reading of the reaction at the injection site 48–72 hours after injection. The presence of redness and induration should be noted, although the presence and size of induration is critical to interpretation. The presence of blistering, necrosis (skin breakdown) or lymphadenitis is rarely recorded and if seen is interpreted as a “hyperergic” reaction.

Регистрация Диаскинтеста за пределами России



Алгоритм использования Диаскинтеста для диагностики латентной туберкулезной инфекции и дифференциальной диагностики

Диагностика латентной туберкулезной инфекции

- Скрининг и мониторинг туберкулезной инфекции у лиц получающих биологическую терапию
- При подготовке к трансплантации солидных органов
- У лиц, получающих иммуносупрессивную терапию

Лица, из контакта с больными туберкулезом

лица из семейного, профессионального, территориального и производственного контакта

Обследование при подозрении на туберкулез

- клинический минимум
- обследования на туберкулёз
- обследование медицинских и социальных групп риска по туберкулёзу при подозрении на туберкулез

Проведение дифференциальной диагностики туберкулеза с другими заболеваниями

-дифференциальная диагностика легочных и внелегочных локализаций туберкулеза



Исключение активного туберкулеза

Определение потребности химиопрофилактике

Рекомендации по лечению

Показания для использования IGRA-тестов

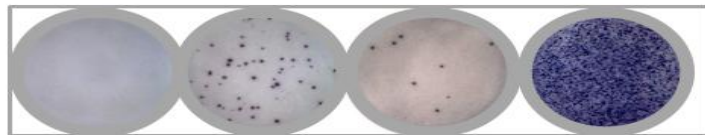
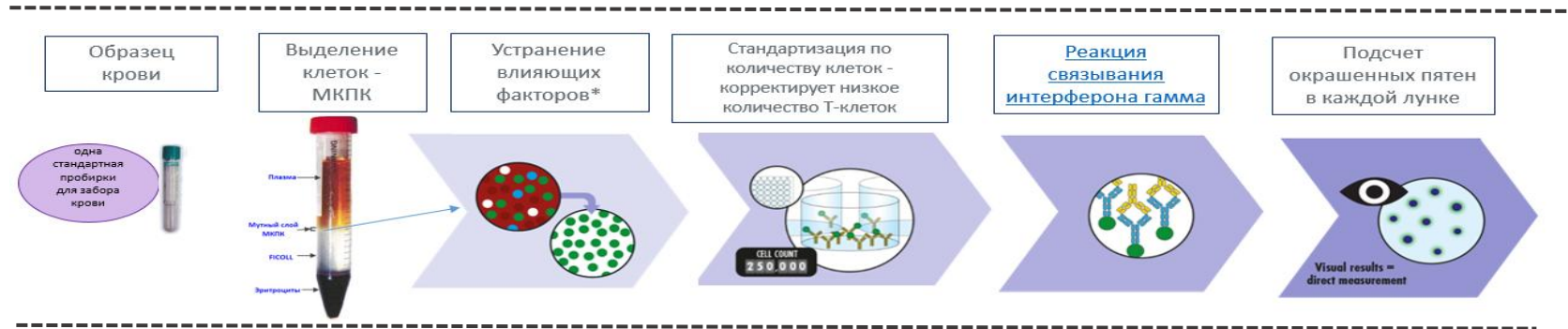
Если нет сомнения в «истинности» результатов кожной пробы выбор за пробой с аллергеном туберкулезном рекомбинантным – «Диаскинтест»

В каких клинических ситуациях необходимо сомневаемся в истинности кожных туберкулиновых проб ?	Клинические ситуации с высокой вероятностью отрицательных кожных туберкулиновых тестов
Ложноотрицательные пробы - Лимфоцитопения - Гипоальбуминемия - Массивная иммуносупрессивная терапия - ИНФЕКЦИОННАЯ АНЕРГИЯ!!!	Проводимая иммуносупрессивная терапия - постоянно принимаемая доза стероидов выше 10 мг в сутки, - проведение пульс-терапии ГКС – сохранение эффекта анергии до 4-х месяцев; - сочетании терапии ГКС с другими иммуносупрессивными препаратами (метотрексат, циклофосфан, микофеноловая кислота)
Ложноположительные пробы -При отягощённом аллергоанамнезе - При псориазе - При активности СКВ и/или наличии кожных проявлений СКВ	Использование блокаторов ФНО: - смена препаратов данной группы в процессе терапии в связи с «ускользанием эффекта терапии», - дозы препаратов в зависимости от основного заболевания; - прием препаратов данной группы в течение 4-5 лет
Показания для использования IGRA -тестов	

Ruan Q, Zhang S, Ai J, Shao L, Zhang W..1007/s10067-014-2817-6. Epub 2014 Nov 7. PMID: 25376466 ; Anton C, Machado FD, Ramirez JMA, Bernardi RM, Palominos PE, Brenol CV, Mello FCQ, Silva DR. J Bras Pneumol. 2019 Apr 25;45(2):e20190023. doi: 10.1590/1806-3713/e20190023. PMID: 31038654; PMCID: PMC6733747; Thomas K, Hadziyannis E, Hatzara C, et al. Conversion and Reversion Rates of Tuberculosis Screening Assays in Patients With Rheumatic Diseases and Negative Baseline Screening Under Long-Term Biologic Treatment. Pathog Immun. 2020;5(1):34-51. Published 2020 Feb 26. doi:10.20411/pai.v5i1.349 Heubner RE, Schein MF, Bass JB Jr.. Clin. Infect. Dis. 1993; 17: 968–75. Ponce de León D, Acevedo-Vásquez E, Sánchez-Torres A et al. Ann. Rheum. Dis. 2005; 64: 1360–1. Camlar SA, Makay B, Appak O et al.. Clin. Rheumatol. 2011; 30: 1189–93.

Диагностическая эффективность платформы ELISPOT для диагностики туберкулезной инфекции (ТиграТест.TB, Россия)

ELISPOT - определение количества активированных Т-лимфоцитов, секретирующих интерферона-гамма, в ответ на стимуляцию специфическими антигенами *Mycobacterium tuberculosis* ESAT-6 и CFP-10. Каждый спот (точка) указывает на одну активированную Т-клетку.



Отрицательный контроль Панель антигенов Панель антигенов Положительный контроль



- Специфичность ТиграТест.TB - 97,6% (95%ДИ 95,25-99,95%)
- Аналитическая специфичность - 100%
- Чувствительность ТиграТест.TB - 97,4% (95%ДИ 93,8-100%)
- Аналитическая чувствительность - 100%

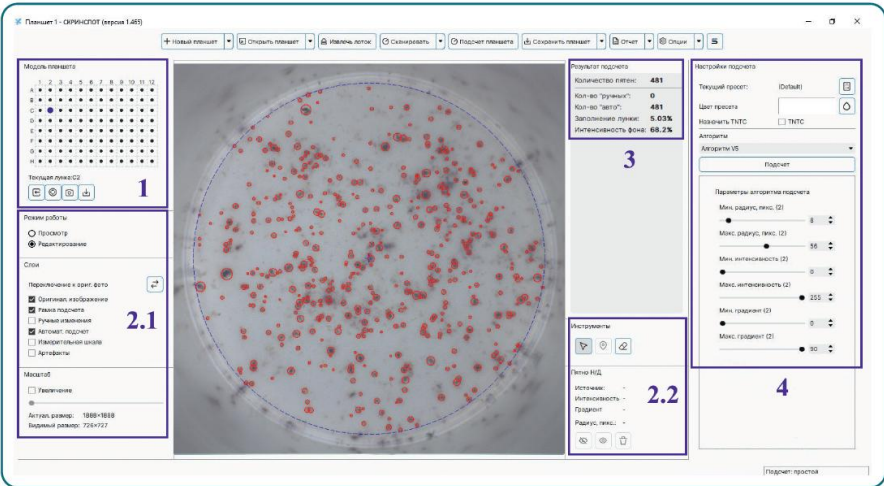
- Результат не зависит от уровня иммуносупрессии¹⁻³
- На результат не влияет наличие вакцинации BCG (*ESAT-6* и *CFP-10* отсутствуют во всех штаммах BCG и большинства нетуберкулезных микобактерий)
- Тест одного визита (результат через 24 часа)

Показания

- для *in vitro* диагностики наличия туберкулезной инфекции, в том числе
- для скрининга среди лиц, относящихся к группам повышенного риска по развитию туберкулезной инфекции;
- дифференциальной диагностики туберкулезной инфекции от поствакцинальной аллергии в результате вакцинации BCG (*Mycobacterium bovis* BCG).



СКРИНСПОТ - анализатор микропланшетов для считывания результатов тестов на основе метода иммуноферментных пятен (ELISPOT)



Максимальное время проведения анализа (96 лунок)	3 мин.
Максимальное время установления рабочего режима	1 мин.
Время непрерывной работы, не более	8 часов
Максимальный объем сохраненных данных результата анализа одного микропланшета на 96 лунок	500 Мб

- Применение анализатора «СКРИНСПОТ» позволяет повысить точность и объективность выдаваемых результатов тестирования в сравнении с подсчетом ручным методом с помощью usb-лупы.
- Прибор позволяет получать цифровые изображения микропланшетов, а затем проводить их детальный анализ.
- Ускоряет процесс обработки данных и снижает вероятность ошибок, связанных с человеческим фактором (одномоментно оценивается

РУ №РЗН 2024/24010 от 21
ноября 2024 года



Нормативная база и алгоритм выявления туберкулезной инфекции в России

Приказ Министерства здравоохранения РФ №951 от 29.12.2014 «Об утверждении методических рекомендаций по совершенствованию диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания», 2014

Клинические рекомендации «Латентная туберкулезная инфекция (ЛТИ) у детей», 2016

Приказ Министерства здравоохранения РФ №124н от 21.03.2017 «Об утверждении Порядка и сроков проведения профилактических осмотров граждан в целях выявления туберкулеза»

Клинические рекомендации «Туберкулез у детей», Москва, 2022

Клинические рекомендации «Туберкулез у взрослых», Москва, 2022



Дети до 7 лет

Скрининг по пробе Манту



измененная чувствительность к туберкулину



проба с Диаскинтестом



определение тактики ведения ребенка



Дети 8 лет и старше

Скрининг по пробе с Диаскинтестом



определение тактики ведения ребенка



Взрослые

Флюорография



подозрение на ТБ



клинический минимум обследования на ТБ* и проба с Диаскинтестом/ IGRA-тест

* Клинический минимум обследования на ТБ— исследование крови, мочи, лучевое обследование органов грудной клетки, исследование мокроты на МБТ ТБ— туберкулез, МБТ - Mycobacterium tuberculosis

THANK YOU!
СПАСИБО!

