

การตรวจหาเชื้อ Mycobacterium tuberculosis (TB)

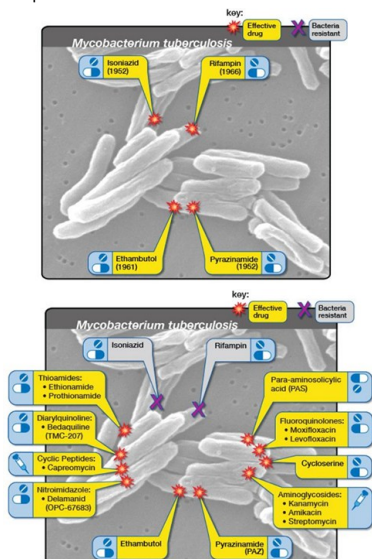
ข้อมูลโดย ปิยะภา หิรัญพัทรวงศ์

บทนำ

การตรวจหาเชื้อ Mycobacterium tuberculosis (MTB), Non-tuberculous Mycobacteria (NTM) และการดื้อยาถือเป็นขั้นตอนที่มีบทบาทสำคัญต่อการวินิจฉัยและการจัดการโรคติดเชื้ออย่างมีประสิทธิภาพ ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีระดับโมเลกุล เช่น nucleic acid amplification tests และระบบ Xpert MTB/RIF ช่วยเพิ่มความเร็วและแม่นยำในการตรวจ พร้อมความสามารถในการตรวจการดื้อยา Rifampicin ได้ภายในขั้นตอนเดียว

เพื่อตอบโจทยความต้องการด้านความไวและความจำเพาะที่สูงยิ่งขึ้น เทคโนโลยีรุ่นใหม่อย่าง Next-generation sequencing (NGS) และ MassARRAY ได้เข้ามามีบทบาทสำคัญ โดยเฉพาะระบบ MassARRAY ที่โดดเด่นด้วยความไวในการตรวจวินิจฉัยสูงถึง 96.9% และความสามารถในการวิเคราะห์การกลายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาได้อย่างแม่นยำและหลากหลายในการวิเคราะห์เพียงครั้งเดียว

ซึ่งปัญหาการติดเชื้อ NTM จะแสดงอาการคล้ายคลึงกับวัณโรค แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญด้านการรักษา ยิ่งเน้นย้ำถึงความจำเป็นของการวินิจฉัยที่แม่นยำและรวดเร็ว ด้วยเทคโนโลยีดังกล่าวมีศักยภาพในการสนับสนุนการค้นพบสารต้านเชื้อ NTM ซึ่งเป็นก้าวสำคัญในการพัฒนายาใหม่ อย่างไรก็ตามการรักษา NTM ยังคงเป็นความท้าทายที่ต้องอาศัยการวิจัยอย่างต่อเนื่องเนื่องจากเชื้อกลุ่มนี้มีแนวโน้มดื้อต่อยาที่มีการใช้งานอยู่ในปัจจุบัน

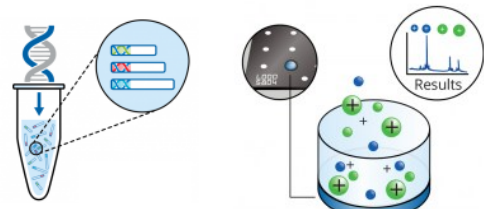


ภาพ 1 แสดง First-Line Treatment and Multidrug-Resistant Tuberculosis (MDR TB) and Second-Line Treatments

หลักการทำงานของ MassARRAY

MassARRAY เป็นเทคนิคที่ใช้สำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรมทั้ง ดีเอ็นเอ (DNA) และ อาร์เอ็นเอ (RNA) โดยใช้วิธี Multiplex PCR ร่วมกับ MALDI-TOF Mass Spectrometry โดยอาศัยหลักการของการวัดน้ำหนักมวลโมเลกุลของสารพันธุกรรม ซึ่งโดยธรรมชาติแล้ว สารพันธุกรรมจะประกอบด้วยเบสพื้นฐาน 4 ตัว คือ Adenine, Cytosine, Guanine และ Thymine (A, C, G, T) ซึ่งแต่ละเบสจะมีน้ำหนักมวลโมเลกุลที่แตกต่างกัน อันเป็นเอกลักษณ์เฉพาะของแต่ละเบส ดังนั้นสารพันธุกรรมที่เรานำมาตรวจวิเคราะห์จะมีน้ำหนักมวลโมเลกุลที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของเบสในตำแหน่งเป้าหมาย เช่น SNP site หรือ Variant site รวมถึงลำดับและจำนวนเบสในสายโพลีนิวคลีโอไทด์ที่ต้องการวิเคราะห์

ด้วยคุณสมบัติพิเศษของ MassARRAY ที่มีความไวและความเฉพาะเจาะจงสูง ทำให้สามารถใช้ปริมาณตัวอย่างเพียงเล็กน้อย และกระบวนการวิเคราะห์รวมถึงการแปลผลสามารถทำได้ในเวลาอันสั้น อีกทั้งยังใช้งานง่ายและไม่ซับซ้อน



จุดเด่นของการตรวจ TB ด้วย MassARRAY

- มีความไวในการตรวจหายีนที่ดื้อยาสูงถึง 85.88%
- สามารถตรวจหาเชื้อและยีนที่ดื้อยาได้อย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับวิธีการตรวจแบบดั้งเดิม
- เป็นวิธีที่มีต้นทุนต่ำเมื่อเทียบกับวิธีการตรวจอื่นๆ
- สามารถตรวจหายีนที่ดื้อยาได้หลายชนิดในครั้งเดียว



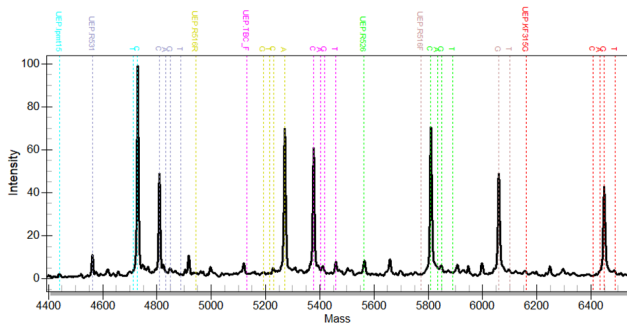
✓ Identified strains



✓ Drug Resistance gene

ตัวอย่างผลการทดสอบ

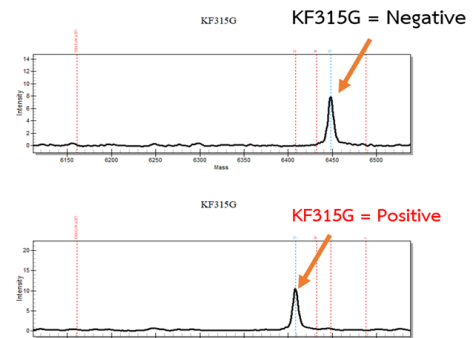
MassARRAY มาพร้อมซอฟต์แวร์ที่ใช้งานง่ายและเอื้อต่อการแปลผล โดยผลการทดสอบจะ นำเสนอ ในรูปแบบกราฟและ Spectrum Plot ข้อมูลที่ได้จากเครื่องจะถูกถ่ายทอดเป็น Mass Spectrometry Spectra หรือกราฟที่ แสดงรายละเอียดของมวลโมเลกุล ของผลิตภัณฑ์ PCR ซึ่งระบบจะประมวลผลและเปรียบเทียบค่ามวลกับฐานข้อมูลเพื่อตีความลำดับเบสที่ตรวจพบในการนี้ของการกลายพันธุ์ (Mutation) หรือ Single Nucleotide Polymorphism (SNP) ผลการทดสอบจะ ปรากฏในรูปแบบของกราฟพีค (Peak Spectrum) ซึ่งระบุตำแหน่งมวลของผลิตภัณฑ์ PCR อย่างชัดเจน เพื่อสนับสนุนการวิเคราะห์และแปลผลอย่างแม่นยำและเข้าใจง่าย



ภาพ 2 แสดงผลการทดสอบโดยมีตำแหน่งการวิเคราะห์เชื้อ

Mycobacterium Tuberculosis และยีนดื้อยา Isoniazid จากยีน
Ipmt และ katG ส่วนการดื้อยา Rifampin จากยีน rpoB

ภาพ 3
ตัวอย่าง



แสดง

การตรวจการดื้อยา
Isoniazid ของยีน KatG

คุณสมบัติพิเศษของเทคโนโลยี MassARRAY

ที่ทำให้ได้รับความนิยมในวงการวิจัยและการแพทย์ทั่วโลกในการตรวจวิเคราะห์
สารพันธุกรรมคือ

ความไวสูง: สามารถตรวจจับสารพันธุกรรมได้แม้ในปริมาณที่น้อยมากเหมาะสม
กับการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีปริมาณจำกัด

ความเฉพาะเจาะจงสูง: สามารถแยกแยะความแตกต่างทางพันธุกรรมได้อย่าง
แม่นยำ ช่วยให้การตรวจสอบเชื้อโรคและยีนดื้อยาเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

ใช้ตัวอย่างน้อย: เทคโนโลยี MassARRAY เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างที่
มีปริมาณจำกัด เช่น เลือดหรือเนื้อเยื่อเพียงเล็กน้อย

วิเคราะห์และแปลผลได้รวดเร็ว: ช่วยลดระยะเวลาในการตรวจจนได้ผลลัพธ์ ทำ
ให้การวินิจฉัยและการรักษาเป็นไปได้อย่างทันท่วงที

ใช้งานง่าย: ขั้นตอนการทำงานไม่ซับซ้อน เหมาะสำหรับการใช้ทั้งในงานวิจัยและ
การแพทย์ ช่วยให้สามารถใช้งานได้โดยไม่ต้องมีความชำนาญสูง



คุณสมบัติเหล่านี้ทำให้ MassARRAY
กลายเป็นเครื่องมือที่มีความสำคัญใน
การพัฒนาเทคโนโลยีทางการแพทย์และ
การวิจัยทางพันธุกรรมที่แม่นยำและมี
ประสิทธิภาพสูง

ตัวอย่างงานวิจัย

งานวิจัยที่ศึกษาการใช้เทคโนโลยี MassARRAY ในการตรวจหา Mycobacterium tuberculosis (MTB) และการดื้อยา

1. A rapid, accurate, and low-cost method for detecting Mycobacterium tuberculosis and drug resistance screening using MassARRAY technology" เพื่อประเมินความไวและความจำเพาะของ MassARRAY ในการระบุ MTB และการตรวจหาการกลายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยา ผลการศึกษาพบว่า MassARRAY มีความไวในการระบุ MTB สูงถึง 96.9% ซึ่งสูงกว่า qPCR ที่มีความไว 87.5% นอกจากนี้ยังสามารถตรวจพบการกลายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาด้วยความไวและความจำเพาะ 100% สำหรับยีนดื้อยาต่างๆ(Yang et al., 2023b)
2. A comparative study of MassARRAY and GeneXpert assay in detecting Mycobacterium tuberculosis and rifampicin resistance" ทำการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ MassARRAY กับ Xpert MTB/RIF ในการตรวจหา MTB และการดื้อยา rifampicin ผลการวิจัยระบุว่า MassARRAY มีความไวสูงกว่า Xpert MTB/RIF ในการวินิจฉัยวัณโรค และมีความสอดคล้องสูงในการตรวจหาการดื้อยาระหว่างสองวิธีนี้(Liang et al., 2024)
3. Prediction of Mycobacterium tuberculosis drug resistance by nucleotide MALDI-TOF mass spectrometry" เพื่อประเมินประสิทธิภาพของ nucleotide MALDI-TOF-MS ในการทำนายการดื้อยาของ MTB โดยพบว่ามีความไวและความจำเพาะสูงในการตรวจหาการดื้อยาต่อ rifampicin และ isoniazid ซึ่งเป็นยาต้านวัณโรคหลัก(Wu et al., 2022)

ชุดตรวจ MassARRAY

การตรวจวัณโรค (TB) ด้วยเทคนิค MassARRAY ใช้เทคโนโลยี MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization – Time of Flight Mass Spectrometry) ซึ่งมีความแม่นยำสูงในการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมจากเชื้อวัณโรคและไมโคแบคทีเรียชนิดไม่ก่อวัณโรค (NTM) รวมถึงสายพันธุ์อื่น ๆ ทั้งที่เป็นเชื้อก่อโรคหลักและเชื้อฉวยโอกาส ซึ่งมีความสำคัญทางคลินิกในการวินิจฉัยและกำหนดแนวทางการรักษาอย่างเหมาะสม และสามารถดูยีนดื้อยา ดังนี้

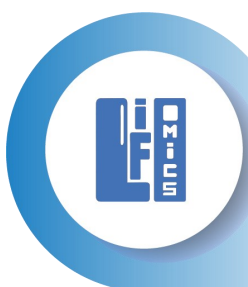
Identification strains		Multidrug-resistant	
Mycobacterium tuberculosis complex		First-line drug	
Mycobacterium avium complex		Drug Name	Resistance gene
M. Abcessus	M. mucogenicum	Isoniazid	katG, inhA
M. intracellulare	M. Terraе	Rifampicin	rpoB
M. asiaticum	M. peregrinum	Streptomycin	rpsL, rrs
M. fortuituminfection	M. chimaera	Ethambutol	embB
M. haemophilum	M. gordonae	Pyrazinamide	pncA
M. kansasii	M. genavense	Second-line drug	
M. stutzeri	M. Triviale	Drug Name	Resistance gene
M. Ulcerans	M. lentiflavum	Fluoroquinolone	gyrA, gyrB
M. Malmoense	M. marinum	Ethionamide Prothionamide	inhA
M. Scrofulaceum	M. simiae	Para-amino salicylic	thyA
M. smegmatis	M. gastri	Clofazimine	Rv0678 (mmpR)
M. szulgai	M. phlei	Amikacin kanamycin	rrs, eis
M. xenopi	M. septicum	Capreomycin	rrs
M. celatum	M. massiliense	Cycloserine	alr
M. chelonae		Linezolid	rplC, rrl
		Rifapentine rifabutin	rpoB

ตัวอย่างรายงาน

Sample ID	Location	QC Status	QC Message	MTB Status	Drug Resistant Status
TB 724	20230325*F21 20	Pass		Positive	Rifampicin
TB 725	20230325*B20 20	Fail	Not all Control Ass	Weak Positive	Undetermined
TB 726	20230325*D20 20	Pass		Negative	Undetermined
TB 727	20230325*A23 20	Pass		Positive	Rifampicin/Rifabutin Isoniazid
TB 728	20230325*B19 20	Pass		Positive	Streptomycin

เอกสารอ้างอิง

- Iyer, A., Ndlovu, Z., Sharma, J., Mansoor, H., Bharati, M., Kolan, S., Morales, M., Das, M., Issakidis, P., Ferlazzo, G., Hirani, N., Joshi, A., Tipre, P., Sutar, N., & England, K. (2023). Operationalising targeted next-generation sequencing for routine diagnosis of drug-resistant TB. *Public Health Action*, 13(2), 43–49. <https://doi.org/10.5588/pha.22.0041>
- Liang, R., Li, J., Zhao, Y., Qi, H., Bao, S., Wang, F., Duan, H., & Huang, H. (2024). A comparative study of MassARRAY and GeneXpert assay in detecting rifampicin resistance in tuberculosis patients' clinical specimens. *Frontiers in Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1287806>
- Low, J. L., Wu, M. L., Aziz, D. B., Laleu, B., & Dick, T. (2017). Screening of TB actives for activity against nontuberculous mycobacteria delivers high hit rates. *Frontiers in Microbiology*, 8(AUG). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01539>
- Mansoor, H., Hirani, N., Chavan, V., Das, M., Sharma, J., Bharati, M., Oswal, V., Iyer, A., Morales, M., Joshi, A., Ferlazzo, G., Isaakidis, P., Ndlovu, Z., & England, K. (2023). Clinical utility of target-based next-generation sequencing for drug-resistant TB. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 27(1), 41–48. <https://doi.org/10.5588/ijtld.22.0138>
- Martinson, N. A., Hoffmann, C. J., & Chaisson, R. E. (2011). Epidemiology of tuberculosis and HIV: Recent advances in understanding and responses. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 8(3), 288–293. <https://doi.org/10.1513/pats.201010-064WR>
- Pai, M., Nicol, M. P., & Boehme, C. C. (2016). *Tuberculosis Diagnostics: State of the Art and Future Directions*. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec>
- S., S. (2012). Diagnostic Methods for Mycobacterium tuberculosis and Challenges in Its Detection in India. In *Understanding Tuberculosis - Global Experiences and Innovative Approaches to the Diagnosis*. InTech. <https://doi.org/10.5772/31714>
- Wu, X., Tan, G., Yang, J., Guo, Y., Huang, C., Sha, W., & Yu, F. (2022). Prediction of Mycobacterium tuberculosis drug resistance by nucleotide MALDI-TOF-MS. *International Journal of Infectious Diseases*, 121, 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2022.04.061>
- Yang, H., Li, A., Dang, L., Kang, T., Ren, F., Ma, J., Zhou, Y., Yang, Y., Lei, J., & Zhang, T. (2023a). A rapid, accurate, and low-cost method for detecting Mycobacterium tuberculosis and its drug-resistant genes in pulmonary tuberculosis: Applications of MassARRAY DNA mass spectrometry. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1093745>
- Yang, H., Li, A., Dang, L., Kang, T., Ren, F., Ma, J., Zhou, Y., Yang, Y., Lei, J., & Zhang, T. (2023b). A rapid, accurate, and low-cost method for detecting Mycobacterium tuberculosis and its drug-resistant genes in pulmonary tuberculosis: Applications of MassARRAY DNA mass spectrometry. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1093745>



บริษัท ไลโฟมิกส์ จำกัด
10 ซอยกาญจนาภิเษก 0010 แขวงสอง
เขตบางแค กทม. 10160
โทร 02 454 8533

Agena
BIOSCIENCE



lifomicsth



@lifomics



www.lifomics.com