



VAI TRÒ CỦA KỸ THUẬT MALDI-TOF MS TRONG ĐỊNH DANH VI KHUẨN *NONTUBERCULOUS MYCOBACTERIA* (NTM)

Đào Thị Ngọc Lan¹, Dương Hồng Quân²

Mục tiêu: Đánh giá tổng quan tài liệu về ưu nhược điểm của kỹ thuật MALDI -TOF MS trong định danh loài, dưới loài *Nontuberculous Mycobacteria* (NTM).

Đối tượng và phương pháp: 23 tài liệu nghiên cứu được lựa chọn từ các cơ sở dữ liệu y học trực tuyến bao gồm Pubmed, Google scholar và Scopus trong giai đoạn từ năm 2010 đến năm 2023 cùng với tài liệu kỹ thuật từ nhà sản xuất. Tiêu chí lựa chọn nghiên cứu bao gồm các báo cáo về hiệu quả, độ nhạy, độ đặc hiệu và các hạn chế của kỹ thuật MALDI-TOF MS trong định danh NTM.

Kết quả và kết luận: Tổng cộng 23 nghiên cứu và bài báo quốc tế đã được lựa chọn đưa vào phân tích, bao gồm 3 tài liệu liên quan đến kỹ thuật MALDI-TOF MS và quy trình thực hiện, cùng 20 tài liệu về kết quả định danh NTM bằng kỹ thuật này. Tại Việt Nam hiện chưa có nghiên cứu nào về ứng dụng MALDI-TOF MS trong định danh loài, dưới loài NTM. Kết quả tổng hợp cho thấy, tỷ lệ định danh đạt mức độ tin cậy cao (Score $\geq 1,80$) trung bình là 88,0% (95% CI 80,0 - 93,2), so với các kỹ thuật tham chiếu (LPA và/hoặc giải trình tự gen) có cùng kết quả định danh đạt 97,0% (95% CI 91,5 - 99,4). Kết quả định danh bằng MALDI-TOF MS tương đồng hoàn toàn (100%) với kỹ thuật định danh tham chiếu (LPA và/hoặc giải trình tự gen) ở các loài là *M. chimaera*, *M. intracellulare*, *M. goodii* và *M. fortuitum* group. Tuy nhiên có 3 trường hợp (3%) không định danh được loài, gồm 2 mẫu *M. avium* và 1 mẫu *M. abscessus* complex. Đặc biệt, kỹ thuật MALDI-TOF MS giúp rút ngắn thời gian định danh gấp 7 lần và chi phí thực hiện giảm 3 lần so với các kỹ thuật tham chiếu khác. Tuy nhiên, đối với các mẫu không định danh được hoặc có độ tin cậy thấp phải được khẳng định lại bằng LPA.

Từ khóa: MALDI-TOF MS, *Nontuberculous Mycobacteria* (NTM), Định danh NTM.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi *Mycobacterium* gồm hơn 190 loài được chia thành 3 nhóm: *Mycobacterium tuberculosis* complex, *Mycobacterium leprae* và *Nontuberculous Mycobacteria* (NTM) còn được gọi là *Mycobacteria* không điển hình hay vi khuẩn ngoài lao¹. NTM có ở mọi nơi trong môi trường, nhất là đất và nước. Chúng là tác nhân gây bệnh mycobacteriosis không chỉ ở những người có yếu tố nguy cơ như suy giảm

miễn dịch, ghép tạng,... mà còn ở cả những người khỏe mạnh. Tỷ lệ mắc và tử vong do NTM đã tăng lên trên thế giới có liên quan tới sự chậm trễ trong chẩn đoán và điều trị². Chẩn đoán sớm và chính xác loài NTM là chìa khóa then chốt trong việc quản lý người bệnh và đưa ra phác đồ điều trị phù hợp. Việc điều trị kháng sinh không phù hợp có thể dẫn tới giảm hiệu quả điều trị, ngoài ra còn có một số tác dụng phụ trên nhiều hệ cơ quan. Đặc biệt, ở người bệnh suy gan, suy thận và chúng sẽ tạo ra áp lực chọn lọc giữ lại các chủng vi khuẩn kháng thuốc³. Do đó, việc định danh đến loài, dưới loài NTM là rất quan trọng.

Tiêu chuẩn vàng của định danh loài, dưới loài NTM là giải trình tự gen. Tuy nhiên, kỹ thuật này có chi phí cao, đòi hỏi trình độ chuyên môn kỹ thuật cao và thời gian cho kết quả rất lâu, do đó kỹ thuật giải trình tự gen chủ yếu được triển khai ở các phòng nghiên cứu hoặc các phòng xét nghiệm tham chiếu

⁽¹⁾ Bệnh viện Phổi Trung ương

⁽²⁾ Trường Đại học Y tế công cộng

Ngày nhận bài: 12/3/2025

Ngày phản biện xong: 20/3/2025

Ngày duyệt đăng: 15/6/2025

Người chịu trách nhiệm nội dung khoa học: Dương Hồng Quân, Trường Đại học Y tế công cộng

Điện thoại: 0987145709. Email: hqd@huph.edu.vn

hoặc một số bệnh viện chuyên khoa đặc biệt mà chưa thể áp dụng rộng rãi trong thực hành lâm sàng^{4,5}. Trong các phòng xét nghiệm vi sinh lâm sàng, việc định danh loài, dưới loài NTM thường được thực hiện bằng LPA (Line Probe Assay) là kỹ thuật xác định kiểu gen dựa trên nguyên lý lai DNA với các trình tự dò (probe) nucleotid đã được cố định sẵn trên dải nitrocellulose. Tuy nhiên, kỹ thuật này cũng có những hạn chế tương tự, bao gồm thời gian thực hiện kéo dài, chi phí xét nghiệm cao và yêu cầu nhân lực phải được đào tạo chuyên sâu⁶.

Trong các ứng dụng công nghệ mới, kỹ thuật MALDI-TOF MS hiện đang được ứng dụng rộng rãi trong các phòng vi sinh lâm sàng để định danh vi khuẩn, nấm và có tiềm năng trở thành một công cụ đắc lực để định danh NTM. Kỹ thuật này cho phép định danh vi sinh vật một cách nhanh chóng dựa trên phổ protein đặc trưng của từng loài. Với thời gian cho kết quả ngắn, độ chính xác tương đối cao, quy trình kỹ thuật đơn giản và chi phí thấp, MALDI-TOF MS là một kỹ thuật đầy hứa hẹn và đang phát triển mạnh mẽ trong lĩnh vực vi sinh lâm sàng. Tuy nhiên, không như hầu hết các vi sinh vật khác, vi khuẩn *Mycobacteria* có cấu trúc vách tế bào rất phức tạp và đặc biệt, đòi hỏi phải có bước xử lý mẫu riêng biệt nhằm bất hoạt tế bào để đảm bảo an toàn sinh học và phá vỡ được cấu trúc vách tế bào để thu được phổ protein chính xác. Do vậy, kỹ thuật định danh loài NTM bằng MALDI-TOF MS chưa được triển khai tại các khoa vi sinh lâm sàng ở nước ta. Thêm vào đó, hiện chưa có nghiên cứu tổng quan nào tại Việt Nam đánh giá việc ứng dụng kỹ thuật này trong định danh NTM. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm mục tiêu đánh giá tổng quan tài liệu về ưu điểm và hạn chế của kỹ thuật MALDI-TOF MS trong định danh loài, dưới loài *Nontuberculous Mycobacteria* (NTM).

ĐỐI TƯỢNG PHƯƠNG PHÁP

Đối tượng: Các nghiên cứu, bài báo khoa học liên quan đến kỹ thuật định danh NTM bằng MALDI-TOF MS được công bố trên thế giới và tại Việt Nam.

Tiêu chuẩn lựa chọn: Các nghiên cứu, bài báo đã được công bố từ năm 2010 đến hết tháng 10 năm 2023; Các nghiên cứu, bài báo có nội dung trình bày về kỹ thuật định danh NTM bằng MALDI-

TOF MS; Ngôn ngữ được chấp nhận là tiếng Anh và tiếng Việt.

Tiêu chuẩn loại trừ: Các nghiên cứu, bài báo về kỹ thuật chẩn đoán NTM bằng MALDI-TOF MS không trên người; Các nghiên cứu, bài báo về kỹ thuật định danh vi khuẩn bằng MALDI-TOF MS không phải là NTM; Ngôn ngữ: Khác

Phương pháp nghiên cứu

Cơ sở dữ liệu: Tài liệu được tìm kiếm trên các cơ sở dữ liệu y học trực tuyến như: Pubmed, Google Scholar; Scopus, các tạp chí y học, luận văn, luận án trong nước; Tài liệu, giáo trình giảng dạy; Báo cáo của các hội nghị chuyên ngành được cập nhật đến tháng 10 năm 2023 và tài liệu do hãng sản xuất cung cấp.

Chiến lược tìm kiếm: Các thuật ngữ Tiếng Anh được sử dụng để tìm kiếm tài liệu: NTM AND MALDI-TOF MS OR Identify by MALDI-TOF MS); Use of MALDI-TOF MS for identification of mycobacterium; Rapid identification of *Nontuberculous Mycobacterium* using MALDI-TOF MS; MALDI-TOF MS biotyper *Mycobacteria* library systems; Các thuật ngữ tiếng Việt được sử dụng để tìm kiếm tài liệu: NTM và/hoặc kỹ thuật định danh NTM; Định danh NTM bằng MALDI-TOF MS.

Phương pháp chọn lọc: Các tài liệu thu được từ các cơ sở dữ liệu sẽ được phân loại qua hai vòng sàng lọc, bao gồm: Vòng thứ nhất: tiêu đề và tóm tắt của tài liệu sẽ được rà soát nhằm loại trừ những nghiên cứu không đáp ứng với tiêu chuẩn lựa chọn (theo tiêu chuẩn loại trừ nêu trên); Vòng thứ hai: toàn văn của các tài liệu còn lại sau vòng sàng lọc ban đầu sẽ được thu thập và đánh giá độc lập bởi ba nhà nghiên cứu. Việc đánh giá nhằm xác định mức độ phù hợp của từng tài liệu với mục tiêu nghiên cứu. Trong trường hợp có bất đồng giữa các nghiên cứu viên, quyết định cuối cùng sẽ được đưa ra sau khi tham khảo ý kiến của một nhà nghiên cứu thứ tư.

Chọn lọc, xử lý: Sử dụng phần mềm Zotero 6.0 để quản lý và trích dẫn tài liệu tham khảo trong quá trình thực hiện nghiên cứu. Việc sàng lọc tiêu đề và tóm tắt của tất cả các tài liệu thu được từ kết quả tìm kiếm được thực hiện một cách độc lập bởi hai nhà nghiên cứu nhằm xác định sự phù hợp theo tiêu chuẩn lựa chọn và tiêu chuẩn loại trừ. Những tài liệu không bị loại trừ sau bước sàng lọc ban đầu sẽ được

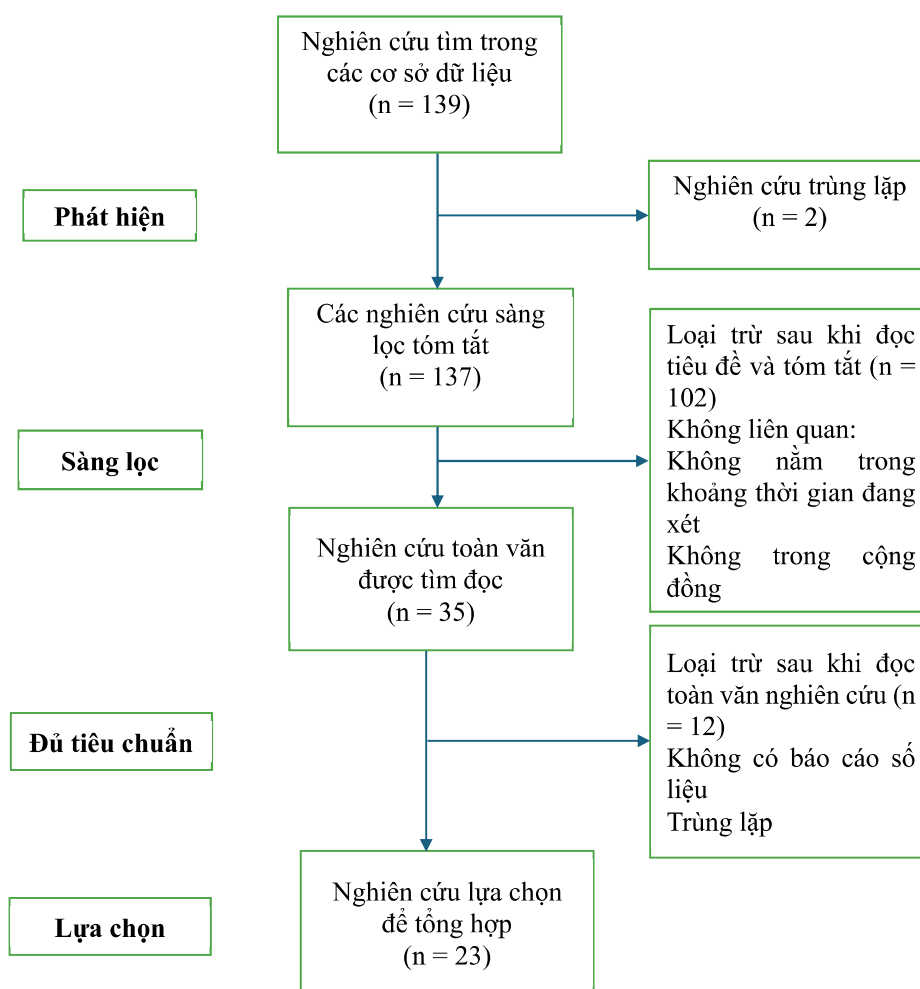
thu thập toàn văn để tiến hành đánh giá cuối cùng. Dữ liệu nghiên cứu được lưu trữ và quản lý bằng phần mềm Excel. Các kết quả thu được sẽ được

trình bày dưới dạng bảng biểu hoặc biểu đồ nhằm mô tả đặc điểm và phân bố của số liệu.

KẾT QUẢ

Đặc điểm các tài liệu nghiên cứu

Theo Sơ đồ 1, đã có 23 tài liệu được lựa chọn để đưa ra các kết quả nghiên cứu theo mục tiêu. Trong đó có 3 tài liệu về kỹ thuật MALDI-TOF MS, quy trình thực hiện cũng như thư viện về NTM của kỹ thuật, 20 tài liệu về kết quả định danh NTM bằng kỹ thuật MALDI-TOF MS trên thế giới. 18/20 (90%) bài báo cho thấy kết quả định danh loài, dưới loài NTM bằng kỹ thuật MALDI-TOF MS có độ tin cậy cao (Score $\geq 1,80$). Có 2 bài (10%) chỉ ra rằng kỹ thuật này chưa phân biệt được các dưới loài thuộc phức hợp *M. abscessus complex* và không định danh được *M. avium*. 12/20 (60%) bài báo sử dụng LPA là kỹ thuật tham chiếu cho MALDI-TOF MS và kết quả là hai kỹ thuật có cùng kết quả định danh đạt trên 90%. Tại Việt Nam, chưa có nghiên cứu về việc áp dụng MALDI-TOF MS trong định danh loài, dưới loài NTM.



Sơ đồ 1. Kết quả tìm kiếm và sàng lọc tài liệu nghiên cứu

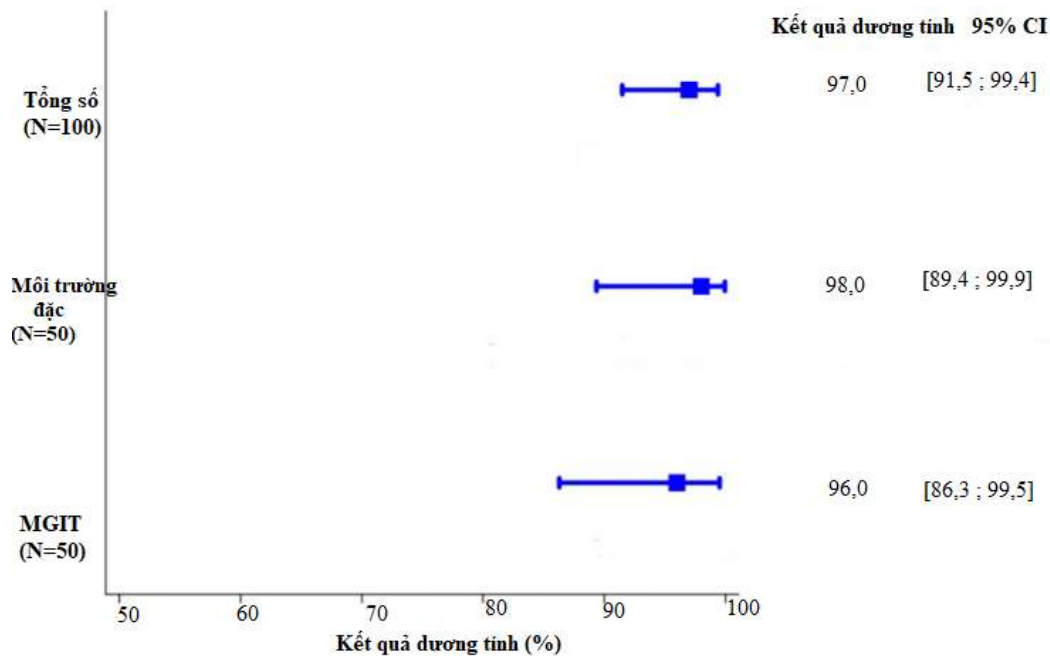
Kết quả định danh loài NTM bằng kỹ thuật MALDI-TOF MS

Bảng 1. Độ tin cậy (Score) của kết quả định danh từ MGIT và môi trường đặc của *Mycobacteria* phát triển nhanh và chậm

		MGIT			Khuẩn lạc (môi trường đặc)		
		Score $\geq 1,8$	$1,6 \leq \text{Score} < 1,8$	Score $< 1,6$	Score $\geq 1,8$	$1,6 \leq \text{Score} < 1,8$	Score $< 1,6$
Loại	N	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
MBT Mycobacteria kit	50	47 (94,0)	2 (4,0)	1 (2,0)	41 (82,0)	7 (14,0)	2 (4,0)
RGM	17	15 (88,2)	1 (5,9)	1 (5,9)	15 (88,2)	2 (11,8)	0 (0,0)
SGM	33	32 (97,0)	1 (3,0)	0 (0,0)	26 (78,8)	5 (15,2)	2 (6,1)

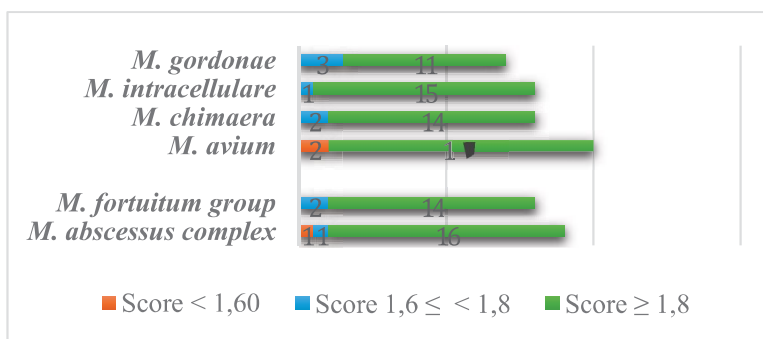
MGIT: BBL TM MGIT broth; RGM: Rapid growing Mycobacteria (vi khuẩn *Mycobacteria* phát triển nhanh); SGM Slow growing Mycobacteria (vi khuẩn *Mycobacteria* phát triển chậm).

Tỷ lệ kết quả định danh có độ tin cậy cao (Score $\geq 1,80$) với tỷ lệ trung bình là 88,0% (95% CI 80,0 - 93,2). Mẫu định danh được lấy từ môi trường MGIT và môi trường đặc có tỷ lệ kết quả định danh với độ tin cậy cao lần lượt là 82,0% và 94,0% (95% CI 83,2 - 98,6) (Bảng 1).



Hình 1. Kết quả định danh bằng kỹ thuật MALDI- TOF MS so với kỹ thuật tham chiếu theo loại mẫu

Kết quả dương tính khi so sánh với kỹ thuật tham chiếu (LPA và/hoặc giải trình tự gen) nghĩa là cả 2 kỹ thuật có cùng kết quả định danh đạt 97,0% (95% CI 91,5 - 99,4). Khi xét cho từng loại mẫu đầu vào thì khuẩn lạc trên môi trường đặc có tỷ lệ dương tính là 98,0% (95% CI 89,4 - 99,9), MGIT là 96,0% (95% CI 86,3 - 99,5) (Hình 1).



Hình 2. Kết quả định danh NTM bằng MALDI-TOF MS theo loài

Kết quả định danh bằng MALDI-TOF MS tương đồng hoàn toàn (100%) với kỹ thuật định danh tham chiếu ở các loài là *M. chimaera*, *M. intracellulare*, *M. gordonae* và *M. fortuitum group* (Hình 2). Có 3 trường hợp (3%) không định danh được loài, gồm 2 mẫu *M. avium* và 1 mẫu *M. abscessus complex*.

Hiệu quả kinh tế

Chi phí ước tính cho một lần định danh một mẫu NTM

Bảng 2. Mức độ tiêu hao hóa chất và thời gian giữa MALDI-TOF MS với LPA

	LPA			MALDI-TOF MS	
	Tách DNA	Khuếch đại bằng PCR	Tiến hành lai	Chuẩn bị mẫu cho target	Thu và phân tích khối phổ
Thời gian	2 giờ	1 giờ 30 phút	2 giờ	35 - 40 phút	1 phút

Kỹ thuật MALDI-TOF MS tốn khoảng 40 phút. Kỹ thuật LPA cần hơn 5 giờ (Bảng 2). Hơn thế nữa, chi phí của một lần định danh NTM bằng LPA là 800.000 VNĐ và MALDI-TOF MS là 250.000 - 300.000 VNĐ (Bảng 3).

Bảng 3. Ước tính chi phí cho một mẫu định danh NTM-.

	LPA	MALDI-TOF MS
Giá tiền	800.000 VNĐ	250.000 - 300.000 VNĐ

BÀN LUẬN

Qua việc so sánh kết quả định danh của MALDI-TOF MS với các kỹ thuật tham chiếu (LPA, giải trình tự gen) (Hình 1) với độ tương đồng trung bình là 97%. Kết quả này cho thấy việc triển khai MALDI-TOF MS trong việc định danh loài NTM đã được cải thiện rõ rệt với độ chính xác cao, tương đồng cao với các kỹ thuật tham chiếu như LPA và/hoặc giải trình tự gen. Kết quả này cũng tương đồng với kết quả của nghiên cứu đa trung tâm tại 9 quốc gia ở châu Âu năm 2022 với kết quả định danh có điểm $\geq 1,60$ là 100% ở 5 phòng thí nghiệm và từ 68,2% đến 98,6% ở 10 phòng thí nghiệm còn lại; Kết quả định danh dương tính khi so sánh với các kỹ thuật tham chiếu khác

đều trên 97% (12 phòng thí nghiệm có tỉ lệ dương tính là 100%, 3 phòng thí nghiệm có tỉ lệ dương tính trong khoảng 97,4% đến 99,0%)⁷. Hơn nữa, việc sử dụng mẫu đầu vào là MGIT hay là khuẩn lạc trên môi trường đặc thì sử dụng khuẩn lạc đều có mức độ tin cậy cao với tỷ lệ dương tính cao. Tuy nhiên, việc sử dụng khuẩn lạc từ môi trường đặc có vẻ có ưu thế hơn vì ống MGIT có thể bội nhiễm một số vi khuẩn, nấm do quá trình khử nhiễm mẫu ban đầu nên độ thuần chủng kém hơn. Do đó, để đảm bảo cho kết quả định danh được chính xác và có độ tin cậy cao cần phải thao tác đúng quy chuẩn, khử nhiễm mẫu bệnh phẩm ban đầu tốt trước khi tiến hành cấy vào môi trường lòng MGIT.

Vì kỹ thuật MALDI-TOF MS phân tích dựa trên khối phổ protein và khi thực hiện thì chùm tia laser sẽ tập trung bắn vào một vùng nhỏ với tần suất bắn cao (40 lần/giây) với mức năng lượng lớn, chế độ bắn tự động thường ưu tiên bắn từ vùng trung tâm của vị trí rồi mới bắn ra vùng ngoại vi nên việc phết mẫu lên mỗi vị trí (spot) của đĩa MALDI target sẽ phụ thuộc vào kỹ thuật thao tác của người thực hiện- đây cũng là nhược điểm của kỹ thuật này. Do đó, để khắc phục nhược điểm này cần lưu ý một số điểm sau gồm 1) Đĩa target phải được vệ sinh sạch sẽ, loại bỏ hoàn toàn hợp chất hữu cơ (với loại đĩa dùng nhiều lần) trước khi sử dụng; 2) Lượng mẫu khi phết vào phải vừa đủ, không quá ít hoặc không quá nhiều, ưu tiên phết đều ở vùng trung tâm nên khi nhỏ 1 μL mẫu sau xử lý cần phải nhỏ 3 lần vào giữa vòn tròn nhỏ mẫu (spot) và phải để khô tự nhiên giữa các lần nhỏ; 3) Trước khi thêm bất kỳ hóa chất nào lên đĩa target cần phải để chất đã nhỏ trước đó khô tự nhiên một cách hoàn toàn; 4) Mẫu đầu vào càng tinh khiết (thuần) càng tốt, nên nếu ống MGIT bị bội nhiễm thì phải cấy chuyển ra môi trường đặc để thu được khuẩn lạc thuần trước khi tiến hành định danh.

Về kết quả định danh đến loài, định danh bằng MALDI-TOF MS tương đồng hoàn toàn (100%) với kỹ thuật định danh tham chiếu ở các loài là *M. chimaera*, *M. intracellulare*, *M. gordonae* và *M. fortuitum* group (Hình 2). Có 3 trường hợp (3%) không định danh được loài, gồm 2 mẫu *M. avium* và 1 mẫu *M. abscessus* complex. Điều này có thể lý giải bởi mặc dù thư viện vi khuẩn *Mycobacteria* của MALDI-TOF MS rất lớn, với hơn 180 loài khác nhau trong thư viện MBT *Mycobacteria* (Bruker Daltonics), một trong những thư viện mới và nhiều loài nhất của MALDI-TOF MS. Tuy nhiên, việc xác định loài, dưới loài NTM vẫn còn là thách thức và chưa phải là tiêu chuẩn vàng⁸. Những khó khăn này là do thành phần tế bào của *Mycobacteria* và xu hướng tạo thành phức hợp của một số loài NTM như *M. abscessus* complex, nên các kỹ thuật thu thập khối phổ protein hiện nay của MALDI-TOF MS chưa thể phân biệt được⁹. Để thu được quang phổ chất lượng cao, phân biệt để khắc phục nhược điểm hiện nay,

các nhà nghiên cứu đang nghiên cứu, phát triển và xây dựng quy trình chuẩn bị mẫu MALDI-TOF MS khác nhau dựa trên các kỹ thuật xử lý bằng nhiệt, hóa học và vật lý¹⁰⁻¹⁴. Tuy nhiên, kỹ thuật MALDI-TOF MS lại có một số ưu điểm về mặt thời gian, chi phí. Kỹ thuật MALDI-TOF MS tốn ít hóa chất và thời gian hơn (khoảng 40 phút) trong khi kỹ thuật LPA cần nhiều bước (tách DNA, khuếch đại đoạn gen đích bằng PCR, lai phân tử) với nhiều hóa chất, máy móc hơn và cần hơn 5 giờ (gấp hơn 7 lần) để có kết quả định danh loài NTM (Bảng 2). Không những thế ước tính chi phí cho một mẫu định danh bằng MALDI-TOF MS rẻ hơn khoảng 3 lần so với LPA (Bảng 3).

Như vậy, kỹ thuật MALDI-TOF MS đơn giản, dễ thực hiện hơn khi chỉ cần chuẩn bị mẫu cho MALDI Target, trong khi kỹ thuật LPA cần phải thực hiện 3 giai đoạn phức tạp gồm tách DNA, khuếch đại đoạn gen và lai phân tử; khả năng ngoại nhiễm trong quá trình thao tác của MALDI-TOF là rất thấp, còn LPA phải tuân thủ nghiêm ngặt để tránh nhiễm chéo hoặc ngoại nhiễm từ môi trường. So sánh về mức tiêu hao hóa chất thì kỹ thuật MALDI-TOF MS tiêu hao ít hóa chất hơn nên giá thành rẻ hơn. Kỹ thuật MALDI-TOF chỉ cần một bước chuẩn bị mẫu cho target nên nó giúp rút ngắn thời gian xuống hơn 7 lần (khoảng 5 giờ xuống 40 phút) so với LPA. Ngoài ra, công suất của MALDI-TOF MS cũng cao hơn LPA khi một target có 48 vị trí hay có thể định danh 48 mẫu một lần, trong khi máy lai LPA chỉ có 5 mẫu trong một lần chạy. Kỹ thuật MALDI-TOF so sánh khối phổ của mẫu với thư viện và đưa ra kết quả nên ít bị ảnh hưởng bởi con người, trong khi kết quả lại LPA dựa trên các vạch màu xuất hiện trên thanh lai nên phụ thuộc vào chủ quan của người đọc. Hơn nữa, tại Việt Nam chỉ có Bệnh viện phổi Trung ương triển khai kỹ thuật LPA để định danh NTM, nên các mẫu NTM tại các bệnh viện khác sẽ phải gửi đến Bệnh viện Phổi Trung ương để tiến hành định loài, do đó sẽ rất tốn kém thời gian, chi phí và làm chậm quá trình điều trị cho người bệnh. Trong khi đó có khá nhiều bệnh viện đã được trang bị hệ thống MALDI-TOF MS như Bệnh viện Bạch Mai, Bệnh viện Nhi Trung ương, Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới Trung ương,... nên việc



triển khai định danh NTM bằng MALDI-TOF MS hoàn toàn khả thi và mang lại nhiều lợi ích cho người bệnh.

Qua quá trình so sánh giữa MALDI-TOF MS và LPA rút ra được những ưu điểm và nhược điểm của kỹ thuật MALDI-TOF MS. Trong đó, ưu điểm của kỹ thuật MALDI-TOF MS gồm thời gian có kết quả định danh rất ngắn; đơn giản, dễ thực hiện; chi phí thấp và có thể triển khai tại các khoa vi sinh lâm sàng. Nhược điểm của kỹ thuật MALDI-TOF MS gồm: chưa định danh được tất cả các loài NTM, nhất là các loài trong một phức hợp như *M. abscessus complex*; chi phí mua máy móc, bảo trì khá tốn kém; yêu cầu kỹ thuật phết mẫu chuẩn chỉ để lượng mẫu ở mỗi vị trí (spot) vừa đủ; dung dịch HCCA matrix chỉ có thể

sử dụng trong vòng 14 ngày kể từ khi pha nên không phù hợp với những nơi có lượng mẫu ít; và yêu cầu vận hành hành máy nghiêm ngặt để tránh làm hỏng bơm áp suất trong máy.

KẾT LUẬN

Kỹ thuật MALDI-TOF MS có ưu thế hơn và có thể áp dụng rộng rãi ở các khoa vi sinh lâm sàng vì kỹ thuật đơn giản, thời gian xét nghiệm ngắn với độ chính xác khá cao. Tuy nhiên, MALDI-TOF MS chưa thể thay thế được LPA. Đặc biệt, ở những bệnh viện đầu ngành như Bệnh viện Phổi Trung ương bởi vì những hạn chế về thư viện của nó. Do đó, với các trường hợp không định danh được bằng kỹ thuật MALDI-TOF MS hoặc độ tin cậy không cao phải được khẳng định lại bằng kỹ thuật LPA.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tortoli E. Microbiological features and clinical relevance of new species of the genus *Mycobacterium*. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(4):727-752.
2. Riello FN, Brígido RTS, Araújo S, et al. Diagnosis of Mycobacterial infections based on acid-fast bacilli test and bacterial growth time and implications on treatment and disease outcome. *BMC Infect Dis*. 2016;16:142.
3. Pennington KM, Vu A, Challener D, et al. Approach to the diagnosis and treatment of non-tuberculous Mycobacterial disease. *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis*. 2021;24:100244.
4. Yin X, Zheng L, Wu L, et al. Comparative evaluation of two rapid methods for differentiating *Mycobacteria*. *Tuberculosis (Edinb)*. 2013;93(2):227-231.
5. Lee RS and Behr MA. The implications of whole-genome sequencing in the control of tuberculosis. *Ther Adv Infect Dis*. 2016;3(2):47-62.
6. Kakhki RK, Aryan E, Meshkat Z, et al. Development of a cost-effective line probe assay for rapid detection and differentiation of Mycobacterium Species: A Pilot Study. *Rep Biochem Mol Biol*. 2020;8(4):383-393.
7. Rodriguez-Temporal D, Alcaide F, Mareković I, et al. Multicentre study on the reproducibility of MALDI-TOF MS for nontuberculous Mycobacteria identification. *Sci Rep*. 2022;12(1):1237.
8. Mediavilla-Gradolph MC, De Toro-Peinado I, Bermudez-Ruiz MP, et al. Use of MALDI-TOF MS for Identification of Nontuberculous Mycobacterium Species Isolated from Clinical Specimens. *Biomed Res Int*. 2015;2015:854078.
9. Saleeb PG, Drake SK, Murray PR. Identification of Mycobacteria in Solid-Culture Media by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry | Journal of Clinical Microbiology. *J Clin Microbiol*. 2011;49(6):1790-1794.
10. Alcaide F, Amlerová J, Bou G, et al. How to: identify non-tuberculous *Mycobacterium* species using MALDI-TOF mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect*. 2018;24(6):599-603.
11. El Keschine A, Couderc C, Flaudrops C, et al. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry Identification of *Mycobacteria* in Routine Clinical Practice. *PLoS One*. 2011;6(9):e24720.

12. Oliva E, Arosio M, Mazzola E, et al. Rapid identification of non-tuberculous *Mycobacteria* with MALDI-TOF mass spectrometry. *Infez Med.*2021;29(1):79-84.
13. Bagnarino J, Barbarini D, Russello G, et al. Mycobacterium chimaera Identification Using MALDI-TOF MS Technology: A Practical Approach for the Clinical Microbiology Laboratories. *Microorganisms.* 2022;10(6):1184.
14. Saleeb PG, Drake SK, Murray PR, Zelazny AM. Identification of Mycobacteria in Solid-Culture Media by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol.* 2020 Dec 21;49(5):1790-4.

ROLE OF MALDI-TOF MS TECHNIQUE IN IDENTIFICATION OF *NONTUBERCULOUS MYCOBACTERIA* (NTM)

Objectives: To evaluate the advantages and limitations of MALDI-TOF MS technique in the identification of species and subspecies of *Nontuberculous Mycobacteria* (NTM).

Subjects and methods: 23 Relevant studies were searched from 2010 to October 2023 through online medical databases including PubMed, Google Scholar, Scopus, and manufacturer documents. The inclusion criteria focused on studies reporting on the effectiveness, sensitivity, specificity, and limitations of the MALDI-TOF MS method for NTM identification.

Results and conclusions: A total of 23 international studies and articles were included in the analysis, consisting of 3 documents related to the MALDI-TOF MS technique and procedural protocols, and 20 documents reporting on NTM identification outcomes using this method. In Vietnam, no studies have been conducted on the application of MALDI-TOF MS for species or subspecies identification of NTM. Aggregated results indicated that the average rate of high-confidence identification (Score ≥ 1.80) was 88.0% (95% CI: 80.0 - 93.2), whereas reference methods (LPA and/or gene sequencing) achieved concordant identification in 97.0% of cases (95% CI: 91.5 - 99.4). Identification results by MALDI-TOF MS showed complete concordance (100%) with reference methods for *M. chimaera*, *M. intracellulare*, *M. goodii*, and the *M. fortuitum* group. However, there were 3 cases (3%) in which the species could not be identified, including two *M. avium* isolates and one *M. abscessus* complex isolate. Notably, the MALDI-TOF MS technique reduced the identification time by a factor of seven and the cost by threefold compared to other methods. Nevertheless, isolates that are unidentifiable or yield low-confidence scores should be confirmed by LPA.

Key words: MALDI-TOF MS, *Nontuberculous Mycobacteria* (NTM), NTM identification.