



คู่มือการใช้งานระบบ MTB NGS Analysis Platform
สำหรับการแปลผลการดีเอ็นเอและสายพันธุ์ของเชื้อวัณโรค

1. เมื่อเข้าสู่เว็บไซต์ <https://mtb.nbt.or.th/> จะพบกับหน้าเว็บไซต์หลักของ National Biobank of Thailand : TB Web Service ดังรูปด้านล่าง

MTB Analysis Platform

TB Landscape User Manual Contact us Login

วัณโรค TUBERCULOSIS

รู้เร็ว รักษาหาย ไม่แพร่กระจาย

Mycobacterium tuberculosis (MTB) causes a major public health problem. With the high prevalence of MTB in Thailand, the World Health Organization (WHO) has historically identified Thailand as one of the **high tuberculosis (TB) burden countries**, a group characterized by a significant number of cases across TB infection, co-infection with HIV (TB/HIV), and multidrug-resistant TB (MDR-TB). The increasing incidence of drug-resistant TB significantly hampers the success of TB control programs due to higher treatment failure rates. Often, newly diagnosed TB patients are prescribed multiple drugs empirically because standard TB drug sensitivity testing can take up to two months. Such practices can inadvertently promote a higher incidence of TB drug resistance. Consequently, the WHO recommends the use of **TB whole-genome sequencing (WGS)** within standard TB control programs, encompassing diagnosis, prediction of TB drug resistance, and TB spread management. WGS offers advantages in terms of speed and cost-effectiveness, making it increasingly a standard practice in public health. However, TB WGS generates large sequencing data files, requiring complex bioinformatic operations that can be challenging for TB interpretation personnel. Addressing this challenge, we are developing a computational platform to assist in accurate TB drug resistance prediction using **Next-Generation Sequencing (NGS)** analysis. The resulting computational prediction of drug-resistant TB aims to promote the construction of an up-to-date national TB genomic portal, offering a prototype for TB drug programs in Thailand.

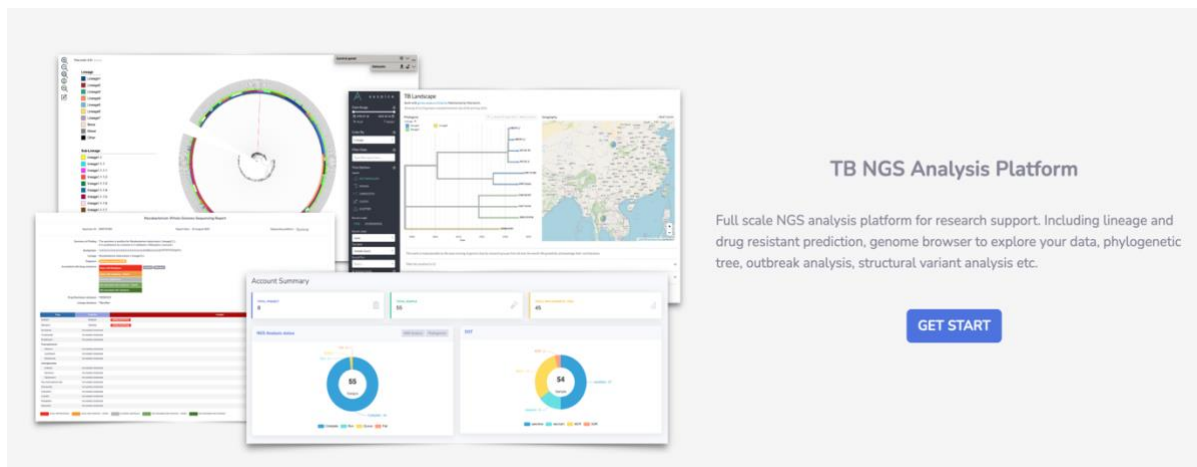
MTB NGS Analysis Platform

Full scale NGS analysis platform for research support. Including lineage and drug resistant prediction, genome browser to explore your data, phylogenetic tree, outbreak analysis, structural variant analysis etc.

GET START

Logos of various Thai institutions and the BIOTEC NSTDA logo.

2. เพื่อเข้าใช้งานระบบ TB NGS Analysis Platform ให้เลื่อนมาที่หัวข้อ TB NGS Analysis Platform และกดปุ่ม GET START

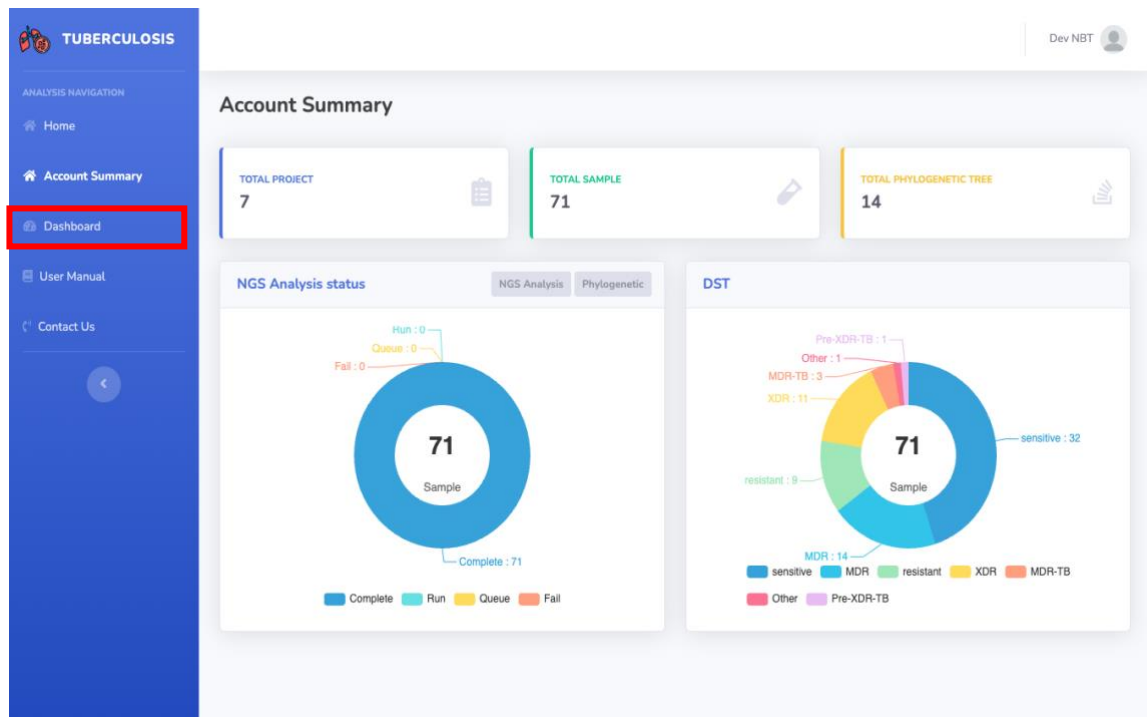


3. หลังจากกดปุ่ม GET START แล้ว ต้องทำการสมัครเข้าใช้งานเพื่อ log in ใช้งานระบบ TB NGS Analysis Platform กรอกข้อมูลตามที่ปรากฏและรออีเมลแจ้งเตือนยืนยันการอนุมัติ account

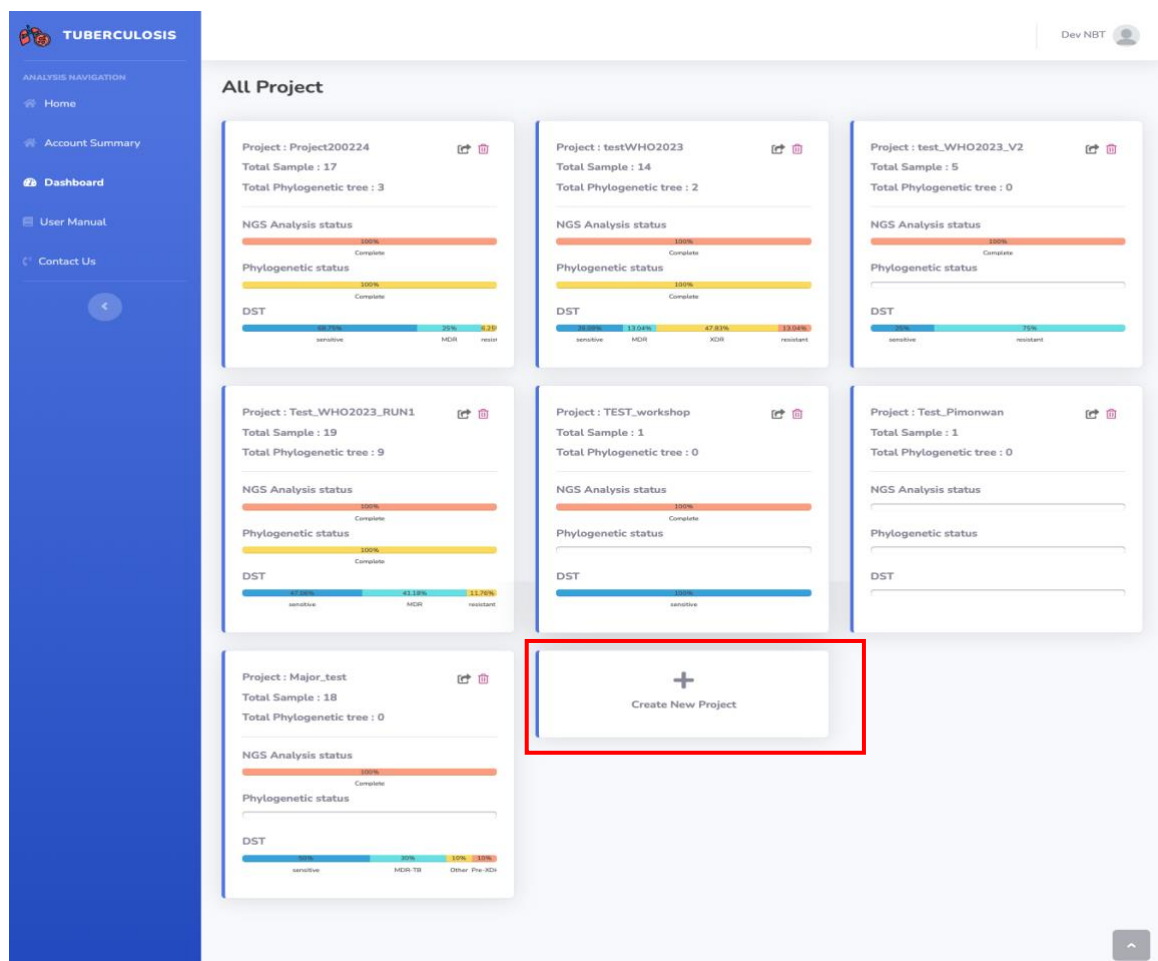
The screenshot shows a 'Sign Up' form with the following fields and elements:

- Form title: Sign Up
- Subtitle: Sign up with your regular account
- Fields: Email, FirstName, LastName, Job Title, Organization, Password, Confirm Password, Purpose of use (text area).
- Buttons: Sign Up (blue), Cancel, Forgot Password?

4. หลังจากได้รับ account แล้วให้กลับมา login ด้วย email และ password ที่ได้กรอกไปจากนั้น ระบบจะนำท่านเข้าสู่หน้า Account Summary เป็นหน้าแรกให้ท่านกดปุ่ม Dashboard เพื่อเริ่มต้นการใช้งาน



5. เมื่อกดปุ่ม Dashboard แล้ว ระบบจะนำท่านเข้าสู่หน้า All project และกด Create New Project



หลังจากตั้งชื่อ Project เสร็จแล้ว กด Create Project

6. เมื่อกด Create Project ระบบจะนำเข้าสู่ Project ที่ท่านสร้าง โดยมีรายละเอียดดังนี้

1.เลือก Upload Data

3.ผู้ใช้กด Choose Files เพื่อเลือกไฟล์ตัวอย่าง โดยไฟล์ตัวอย่างจะต้องตั้งชื่อไฟล์ ตามรูปแบบที่กำหนด ทั้งนี้ขึ้นกับ sequencing platform ที่ได้เลือกไว้ (สามารถเลือกได้หลายตัวอย่าง)

4. กดปุ่ม Submit เพื่ออัปโหลดข้อมูล

Illumina/BGI: เป็นไฟล์แบบคู่ต้องตั้งชื่อลงท้ายด้วย _1.fastq.gz และ _2.fastq.gz หรือ _1.fq.gz และ _2.fq.gz

Nanopore: เป็นไฟล์แบบเดี่ยวต้องตั้งชื่อลงท้ายด้วย .fastq.gz หรือ .fq.gz

- The specific suffix for paired fastq file can be defined in the advance options.

[Advance Options](#)

หากชื่อไฟล์ที่ต้องการวิเคราะห์ไม่ได้ตั้งไว้ตามรูปแบบที่กำหนด ผู้ใช้งานสามารถ Define file suffix

Define file suffix

แบบที่ต้องการเองได้ จากนั้นกดเลือก file และ กด Submit
Use this advance option to define your own specific suffix file. For example you have "sample_r1.fq.gz and sample_r2.fq.gz", your suffix should be "r1.fq.gz and r2.fq.gz" for forward and reverse respectively.

Forward file suffix

Reverse file suffix

คอลัมน์ที่ 6

Analysis Status แสดงสถานะการวิเคราะห์ข้อมูล

คอลัมน์ที่ 4

Province (จังหวัด)

คอลัมน์ที่ 7

สถานะการนำเข้าข้อมูล

คอลัมน์ที่ 8

วันที่ที่เก็บตัวอย่าง

คอลัมน์ที่ 9

วันที่ที่นำเข้าข้อมูล

คอลัมน์ที่ 1

Sample Name

คอลัมน์ที่ 2

Platform ของข้อมูลที่ใช้เลือกไว้

คอลัมน์ที่ 3

District (อำเภอ)

คอลัมน์ที่ 5

Country (ประเทศ)

5. กดปุ่ม Upload Meta Data

เพื่อใส่ข้อมูลเพิ่มเติม ได้แก่ District , Province , Country

Showing 1 to 1 of 1 entries

Previous 1 Next

Upload Data Edited metadata Submit

	Sample Name	Platform	District	Province	Country	Analysis Status	Upload Status	Collected Date	Data Upload Date	Delete
☐	SRR31697453	Nanopore	-	-	-	Not Analysed	Upload Completed	null	09-07-2025	

เมื่อกดปุ่ม Upload Meta Data ระบบจะแสดงหน้าขึ้นขึ้นมา โดยระบุว่ารับข้อมูลเป็น .xlsx และต้องใช้ template ตามที่กำหนด

กดปุ่ม Download เพื่อโหลด template

Upload Meta Data

We accept only ".xlsx" file that follow our template provided here: [Download](#)

**Cautions: The location name must be correctly type. You can check the correctness of spelling from this file: [Download](#)

Choose File

เมื่อเขียน location name ลงใน template เสร็จแล้ว กดปุ่ม save
และกด Choose File เลือก file template เพื่อเพิ่มข้อมูลเพิ่มเติม

เพื่อป้องกันการเขียน location name ผิด (หากเขียนผิดจะ
ไม่สามารถระบุตำแหน่งบนแผนที่ได้) จึงมีไฟล์นี้ไว้ให้โหลด
เพื่อเปรียบเทียบว่าผู้ใช้เขียน location name ถูกต้องหรือไม่

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
sampleName	platform	district	province	country	Collected Date	History of tuberculosis	Previous treatments	Chest X-ray results	Current medications	Workplace
SRR31697453	Nanopore	-	Bangkok	Thailand	2023	-	-	-	-	-

ตัวอย่าง template ที่ใช้ Upload Meta Data

ถ้าหากผู้ใช้งานไม่ทราบข้อมูล ให้ใส่เครื่องหมาย “ - ”

ในกรณีที่ผู้ใช้งานได้อัปโหลดข้อมูลไว้หลาย platform สามารถเลือก
เฉพาะ platform ที่ต้องการเพื่อเลือกตัวอย่างนำไปวิเคราะห์ได้ที่ช่องนี้

สามารถค้นหาชื่อ Sample
ของข้อมูลได้ที่ช่องนี้

6. หลังจากอัปโหลดข้อมูลเสร็จแล้ว

7. เมื่อเลือกข้อมูลที่ต้องการวิเคราะห์เสร็จแล้ว

กดเครื่องหมาย ✓ เพื่อเลือกข้อมูลที่ต้องการวิเคราะห์

7. เมื่อเลือกข้อมูลที่ต้องการวิเคราะห์เสร็จแล้ว

กดปุ่ม Submit เพื่อเริ่มต้นการวิเคราะห์ข้อมูล

เมื่อกด Submit แล้ว ระบบจะนำเข้าสู่หน้าเตรียมการ Submit โดยมีรายละเอียดดังนี้

Analysis setting illumina Back

Sample Select : SRR5266540 SRR34323143 SRR34323142 ERR718193

Drug Resistance mutation database ← ผู้ใช้งานสามารถเลือก Drug Resistance mutation database ได้ว่าจะใช้ประเภทใด โดยจะมีข้อมูล 5 ประเภทให้เลือก ดังนี้

- ☒ TBDB (2024-05-17)
- ☐ TBDB2023
- ☐ WHO2021
- ☐ WHO2023
- ☐ Custom database

Lineage mutation database (Optional) ← ผู้ใช้งานสามารถเลือก Lineage mutation database (Optional) ได้ว่าจะใช้ประเภทใด โดยจะมีข้อมูล 4 ประเภทให้เลือก ดังนี้

- ☒ TBprofiler (2024-03-15)
- ☐ Thai SNP DB
- ☐ Napier Barcode
- ☐ Custom database

Proceed ← 8. เมื่อตั้งค่าเสร็จแล้ว กดปุ่ม Submit

7. เมื่อกด Submit แล้ว ระบบจะนำเข้าสู่หน้า NGS Analysis และรอจนกว่าจะ processing เสร็จ

Data Store **NGS Analysis** **Phylogenetic**

Show 10 entries Search:

Lineage	Sub-Lineage	Drug profile	Drug database	Lineage database
All	All	All	All	All

Sample ID	Status	Lineage	Sub-lineage	DR type	Detail	DR db	Lin db	Date Analysed	Platform
ERR718197	Running	Processing...	Processing...	Processing...	HaplotypeCaller	TBprofiler	Thai SNP DB	29-11-2021	Illumina

Showing 1 to 1 of 1 entries

Previous **1** Next

แสดงสถานะการวิเคราะห์ข้อมูล

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลเสร็จแล้ว ช่องนี้จะเปลี่ยนเป็นปุ่ม Full Report

แสดง platform ของข้อมูล Drug Resistance mutation database และ Lineage mutation database ที่ผู้ใช้งานเลือก

8. เมื่อ processing เสร็จแล้ว ระบบจะแสดงให้เห็นว่าข้อมูลของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์เป็นเชื้อสายพันธุ์อะไรและระบุประเภทของการดื้อยา

Data Store NGS Analysis **Phylogenetic**

Show 10 entries Search:

Lineage Sub-Lineage Drug profile Drug database Lineage database

All All All All All

Sample ID	Status	Lineage	Sub-lineage	DR type	Detail	DR db	Lin db	Date Analysed	Platform	
ERR718197	Complete	lineage1	lineage1.1.1.7	sensitive	Full Report	TBprofiler	Thai SNP DB	29-11-2021	Illumina	

Showing 1 to 1 of 1 entries Previous 1 Next

ระบุว่าตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์
เป็นเชื้อสายพันธุ์อะไรและระบุ
ประเภทของการดื้อยา

9. กดปุ่ม Full Report ในหน้า NGS Analysis ระบบจะนำไปสู่หน้า Result ซึ่งผู้ใช้งานสามารถดูรายงานผลการวิเคราะห์และดาวน์โหลด pdf file ได้จากหน้านี้ โดยมีรายละเอียด ดังนี้

Data Store NGS Analysis **Phylogenetic**

Show 10 entries Search:

Lineage Sub-Lineage Drug profile Drug database Lineage database

All All All All All

Sample ID	Status	Lineage	Sub-lineage	DR type	Detail	DR db	Lin db	Date Analysed	Platform	
ERR718197	Complete	lineage1	lineage1.1.1.7	sensitive	Full Report	TBprofiler	Thai SNP DB	29-11-2021	Illumina	

Showing 1 to 1 of 1 entries Previous 1 Next

1. กดปุ่ม Full Report

3. กดปุ่ม IGV เพื่อดู Genome browser

Result

Fast QC ▾ IGV Report ▾ Download

FastQC 1
FastQC 2

Summary

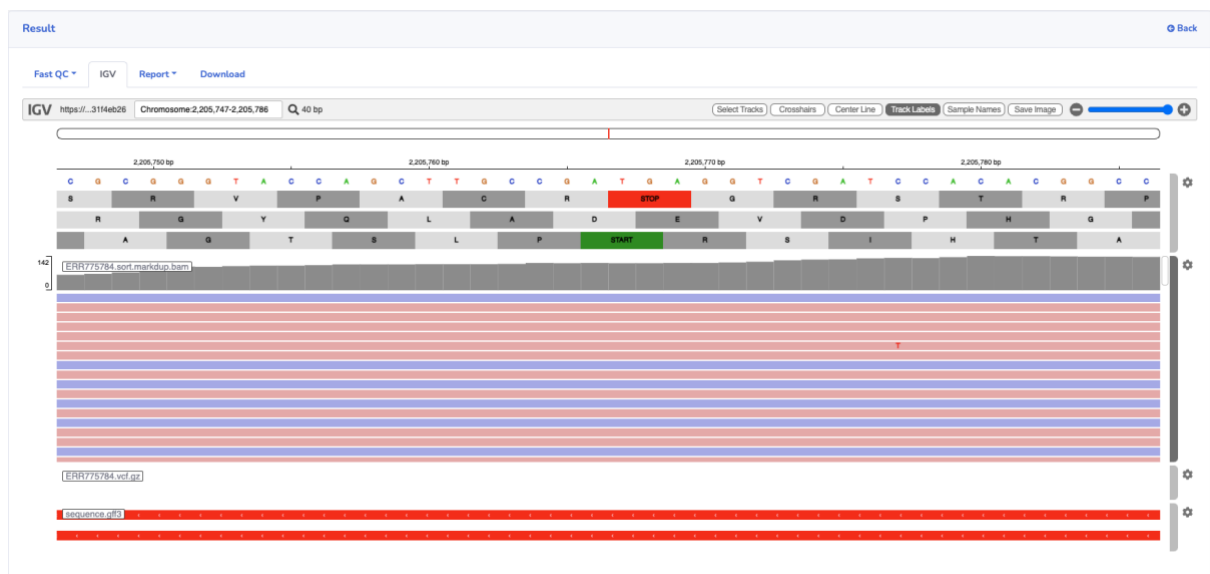
- ✓ Basic Statistics
- ✓ Per base sequence quality
- ✓ Per tile sequence quality
- ✓ Per sequence quality scores
- ✓ Per base sequence content
- ✓ Per sequence GC content
- ✓ Per base N content
- ! Sequence Length Distribution
- ✓ Sequence Duplication Levels
- ✓ Overrepresented sequences
- ✓ Adapter Content

2. สามารถเลือกดูได้

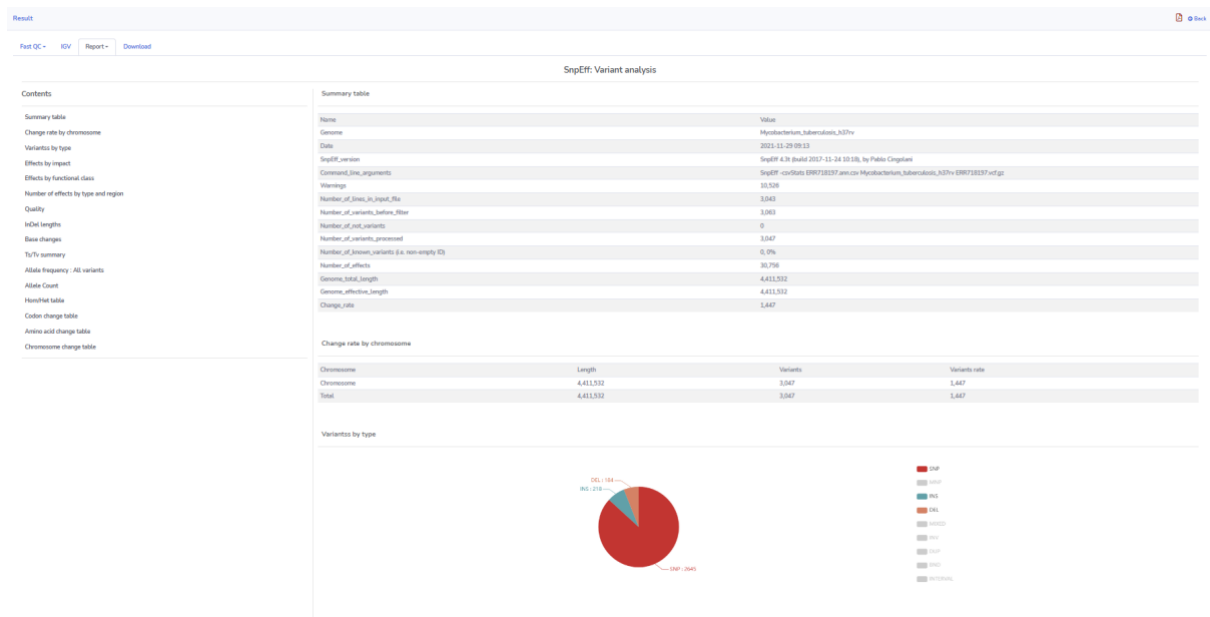
4. ผู้ใช้งานสามารถเลือก Report ได้ว่าจะใช้ประเภทใด โดยจะมีข้อมูล 3 ประเภทให้เลือก ดังนี้

5. สามารถกดดาวน์โหลดไฟล์ .bam และ .vcf ได้จากตรงนี้

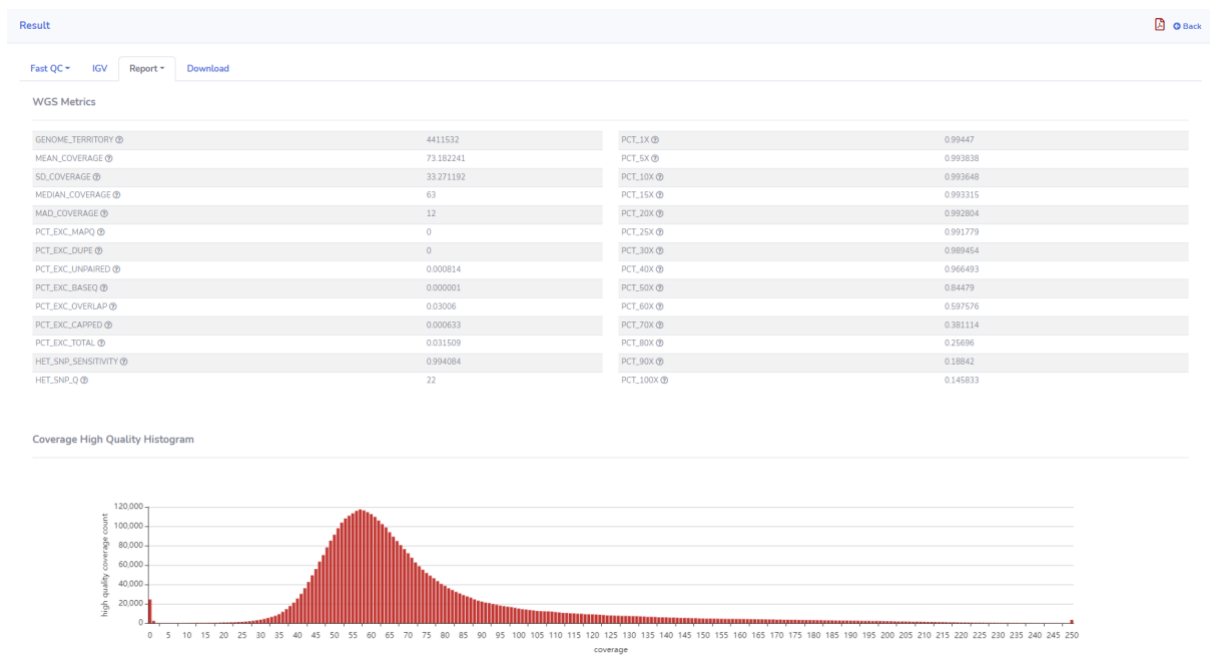
1. Lineage and Drug Resistant Profile
2. Variations Profile เป็นข้อมูลเชิงสรุป
3. WGS Metrics



ตัวอย่างหน้า Genome browser โดยสามารถดูตำแหน่งยีนต่างๆที่ต้องการได้



ตัวอย่างของข้อมูลประเภท Variations Profile โดยจะแสดงข้อมูลเชิงสรุป

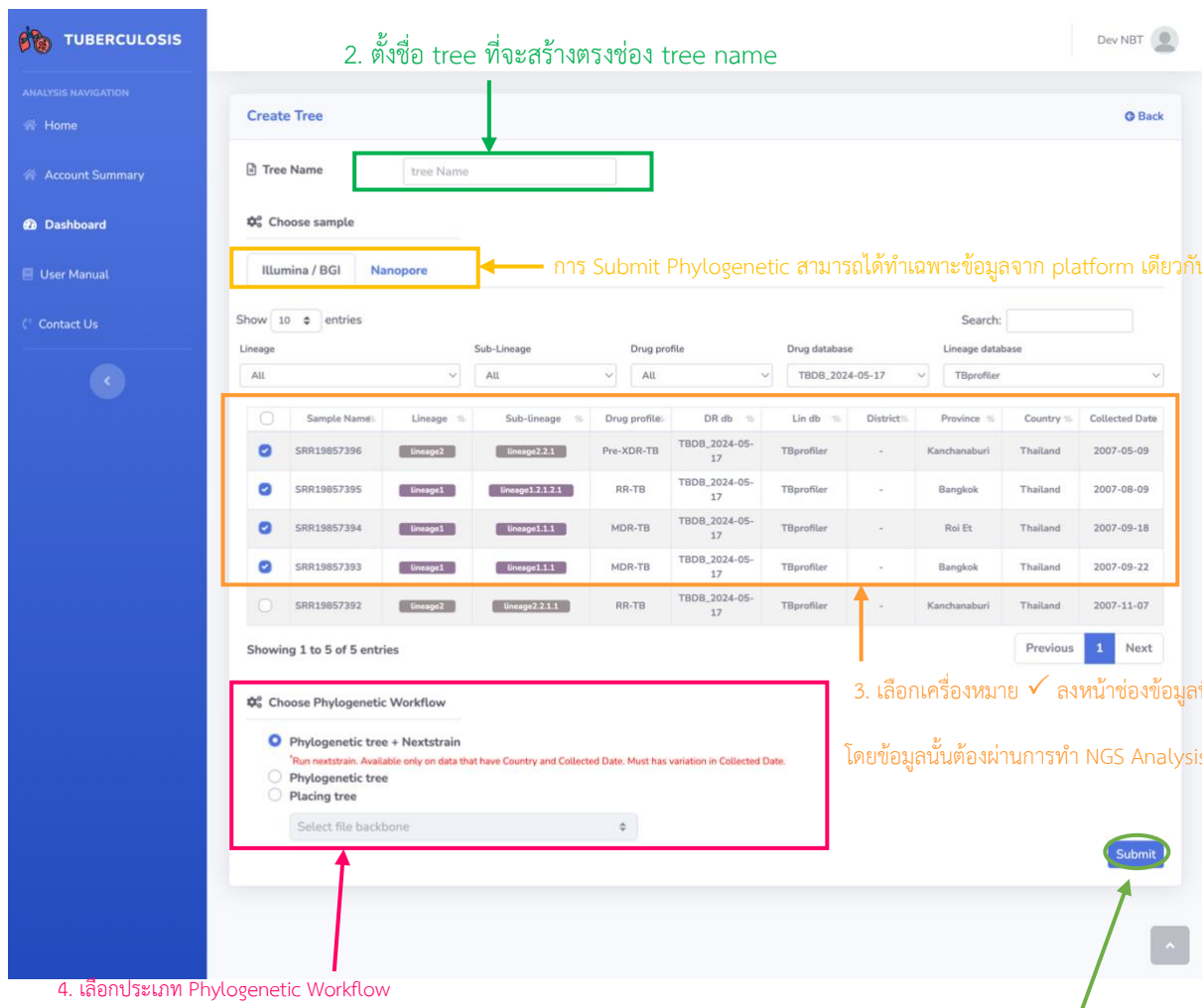


ตัวอย่างของข้อมูลประเภท WGS Metrics โดยจะแสดงข้อมูลเชิงสรุปของการ alignment

10. กดที่แท็บ Phylogenetic เพื่อสร้าง Phylogenetic tree โดยมีรายละเอียด ดังนี้



1. กดปุ่ม Create Tree



4. เลือกประเภท Phylogenetic Workflow

โดยจะมี 3 ประเภทให้เลือก ดังนี้

1. Phylogenetic tree + Nextstrain (สามารถเลือก sample ที่มีข้อมูล Country และ Collected date เท่านั้น)
2. Phylogenetic tree
3. Placing tree (เป็นการสร้าง Phylogenetic tree เพื่อเปรียบเทียบ Sample ของผู้ใช้งานกับ Tree อื่นที่ทำมาก่อนหน้านี้)

5. เมื่อกดเลือกทุกอย่างเสร็จแล้ว

กด Submit เพื่อเริ่มการสร้าง Phylogenetic

หมายเหตุ : การทำ Phylogenetic workflow ที่ 1 และ 2 ควรมีจำนวน Sample ≥ 4 Sample ขึ้นไป เพราะถ้าหากจำนวน Sample น้อยกว่า 4 Sample โปรแกรมจะประมวลผลไม่ได้ ส่วน Placing tree สามารถทำแค่ 1 Sample ได้

11. เมื่อกด Submit แล้ว ระบบจะทำการประมวลผล โดยมีรายละเอียด ดังนี้

The screenshot shows the 'Phylogenetic' tab in the 'Data Store' section. A table displays one entry with the following details:

Tree ID	Status	Progress	Number of Sample	Back Bone Tree	Placing Tree	Date Create
tree 1	Running	50%	4	✓	-	2021-11-30

Annotations on the screenshot:

- ชื่อ tree ที่ผู้ใช้งานตั้ง (Tree ID: tree 1)
- แสดงสถานะการประมวลผล (Status: Running)
- แสดงจำนวน Sample ที่ผู้ใช้งานเลือก (Number of Sample: 4)
- ผู้ใช้เลือกทำ Phylogenetic tree จะมีเครื่องหมาย ✓ ที่ช่องนี้ (Back Bone Tree: ✓)
- ผู้ใช้ไม่ได้เลือกทำ Placing tree จะมีเครื่องหมาย “ - ” ที่ช่องนี้ (Placing Tree: -)
- ระบุ วัน/เดือน/ปี ที่สร้าง tree (Date Create: 2021-11-30)

เมื่อระบบประมวลผลเสร็จแล้ว ตรงช่อง Status จะแสดงสถานะ complete

The screenshot shows the 'Phylogenetic' tab with a list of entries. The 'Status' column for all entries is 'Complete'. The 'Progress' column for each entry shows three buttons: 'View Phylogenetic Tree', 'Nextstrain', and 'Clonal'.

Tree ID	%	Status	Progress	Number of Sample	Back Bone Tree	Placing Tree	Date Create
tree_test7		Complete	View Phylogenetic Tree Nextstrain Clonal	10	✗	-	2023-07-20
placing02		Complete	View Phylogenetic Tree Nextstrain Clonal	1	✗	test_tree8	2023-07-19
test_tree8		Complete	View Phylogenetic Tree Nextstrain Clonal	5	✗	-	2023-07-19
placing		Complete	View Phylogenetic Tree Nextstrain Clonal	1	✗	Thai backbone tree	2023-07-19
tree_test6		Complete	View Phylogenetic Tree Nextstrain Clonal	5	✗	-	2023-07-19
test_tree5		Complete	View Phylogenetic Tree Nextstrain Clonal	6	✗	-	2023-07-19
test_tree3		Complete	View Phylogenetic Tree Nextstrain Clonal	6	✗	-	2023-07-19
test_tree2		Complete	View Phylogenetic Tree Nextstrain Clonal	5	✗	-	2023-07-19
tree_test		Complete	View Phylogenetic Tree Nextstrain Clonal	4	✗	-	2023-07-19

Annotations on the screenshot:

- แสดงสถานะประมวลผลเป็น complete (Status: Complete)
- เมื่อระบบประมวลผลเสร็จแล้ว ตรงช่อง Progress จะมี 3 ปุ่มให้เลือกกดดูรายงานผล ดังนี้ (Progress buttons: View Phylogenetic Tree, Nextstrain, Clonal)

- เมื่อระบบประมวลผลเสร็จแล้ว ตรงช่อง Progress จะมี 3 ปุ่มให้เลือกกดดูรายงานผล ดังนี้
1. View Phylogenetic tree
 2. Nextstrain
 3. Clonal

11.1 เมื่อกดปุ่ม View Phylogenetic tree ระบบจะนำเข้าสู่หน้า Phylogenetic tree

The screenshot shows the ITOL web interface. On the left, a vertical toolbar contains icons for zooming, panning, and other tree manipulation functions. The main area displays a simple phylogenetic tree with four tips labeled ERR846995, ERR718197, ERR775784, and ERR752262. On the right, the 'Control panel' is open, showing tabs for Basic, Advanced, Datasets, and Export. The 'Basic' tab is active, displaying options for Mode (Circular, Rectangular, Unrooted), Branch lengths (Use, Ignore), Invert tree (Yes, No), Slanted (Yes, No), Labels (Display, Hide), Font (Arial), Font style (20pt), Position (Aligned, At tips), Alignment (Left, Right), Rotation (On, Off), Shift (0pt), Line style (1pt), Color gradient (On, Off), Dashed lines (0.3pt), and Tree views (Undo, Reset tree). Below the Control panel, the 'Datasets' section shows a table with columns for Dataset, Type, Color, and Legend. The table lists four datasets: Drugs, Drug-Resistant, Lineage, and Sub-Lineage, all with 'Off' in the Legend column.

ผู้ใช้งานสามารถปรับเปลี่ยนรูปแบบ Phylogenetic tree ได้ตามที่ต้องการ โดยใช้ปุ่มเครื่องมือต่างๆที่มีในระบบได้

ข้อมูลตรงนี้เป็น annotation ให้กับข้อมูลของ Sample โดยผู้ใช้งานสามารถกดเปิดใช้ข้อมูลเหล่านั้นได้

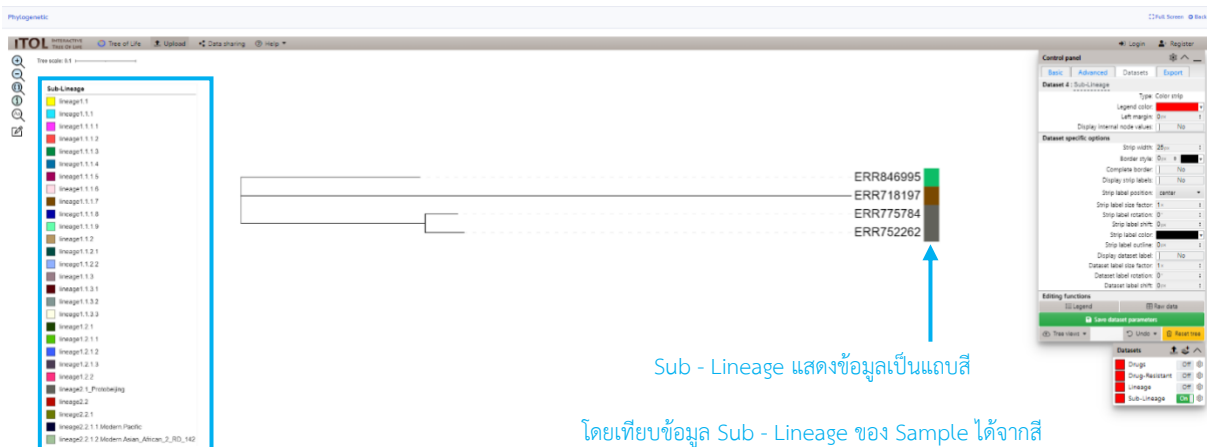
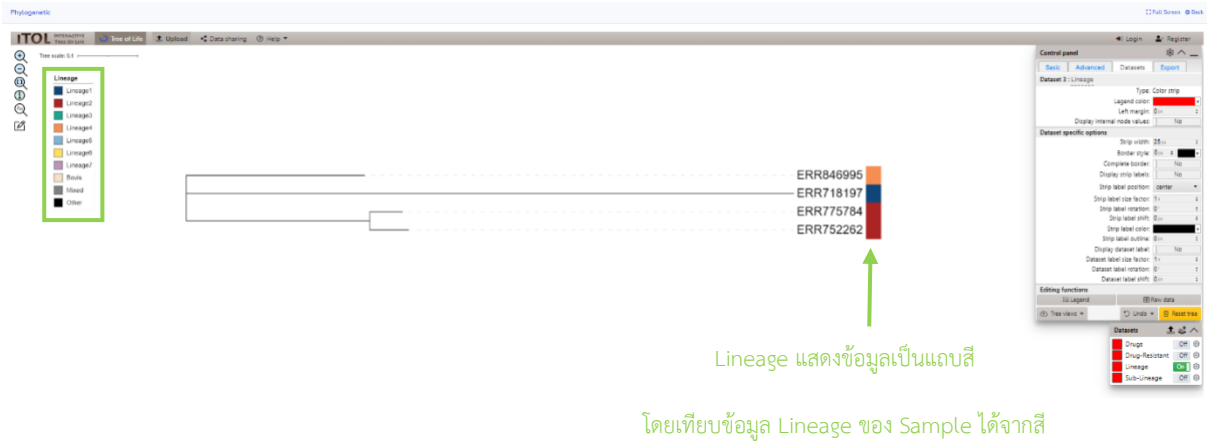
This screenshot shows the ITOL interface with a more complex phylogenetic tree. The tips are labeled with sample IDs and drug resistance status: ERR846995 (Drug-Resistant), ERR718197 (Drug-Resistant), ERR775784 (Drug-Resistant), and ERR752262 (Drug-Resistant). The 'Control panel' is open to the 'Advanced' tab, showing options for Branch lengths, Invert tree, Slanted, Labels, Font, Position, Alignment, Rotation, Shift, Line style, Color gradient, Dashed lines, and Tree views. The 'Datasets' section shows a table with columns for Dataset, Type, Color, and Legend. The table lists four datasets: Drugs, Drug-Resistant, Lineage, and Sub-Lineage, all with 'Off' in the Legend column.

Drugs แสดงข้อมูลการดื้อยา หากเชื้อมีการดื้อยาชนิดใดตรงช่องวงกลมจะเป็นสีดำที่ขยาค้นนั้น

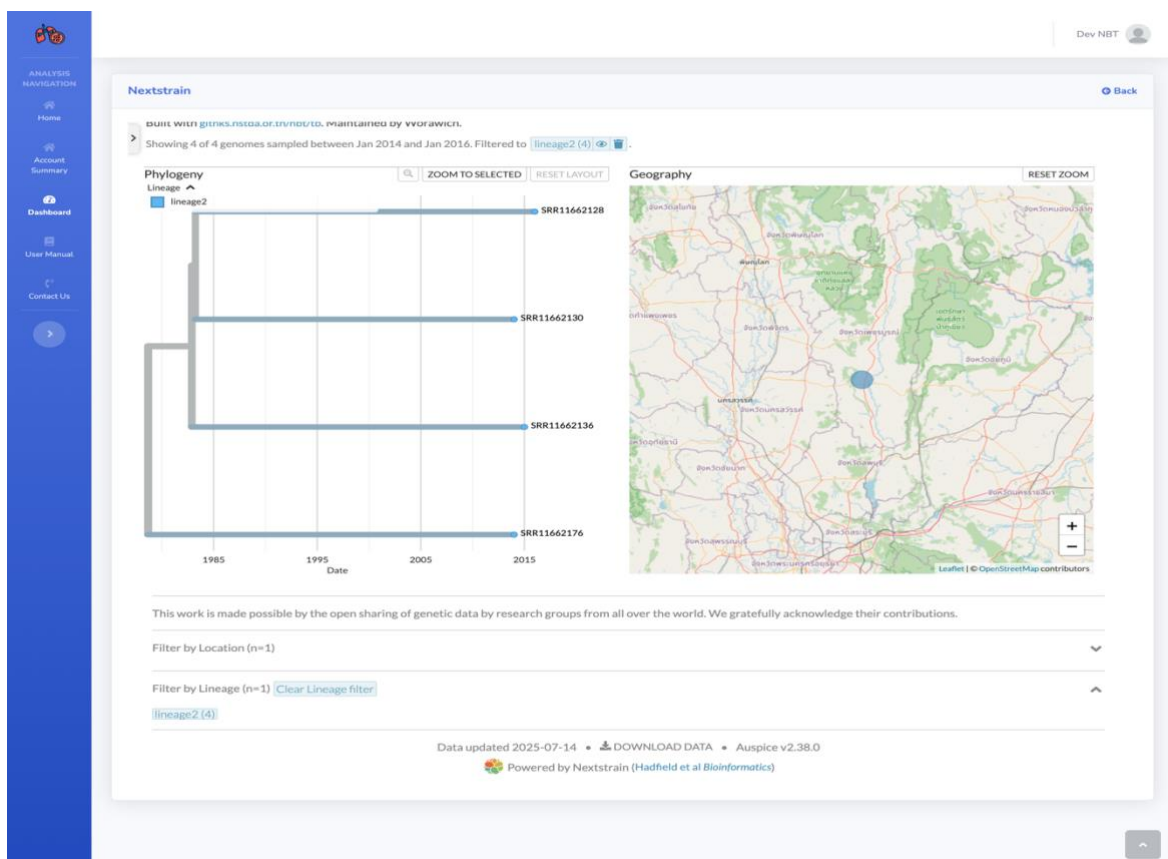
This screenshot shows the ITOL interface with a phylogenetic tree. The tips are labeled with sample IDs and drug resistance status: ERR846995 (Drug-Resistant), ERR718197 (Drug-Resistant), ERR775784 (Drug-Resistant), and ERR752262 (Drug-Resistant). The 'Control panel' is open to the 'Advanced' tab, showing options for Branch lengths, Invert tree, Slanted, Labels, Font, Position, Alignment, Rotation, Shift, Line style, Color gradient, Dashed lines, and Tree views. The 'Datasets' section shows a table with columns for Dataset, Type, Color, and Legend. The table lists four datasets: Drugs, Drug-Resistant, Lineage, and Sub-Lineage, all with 'Off' in the Legend column.

Drugs - Resistant แสดงข้อมูลการดื้อยาเป็นแถบสี

โดยจะแสดงข้อมูลเป็น Sensitive , Drug - resistant , MDR และ XDR



11.2 เมื่อคัป Nextstrain ระบบจะนำเข้าสู่หน้า Phylogeography ของ Nexstrain



11.3 เมื่อกดปุ่ม View Clonal ระบบจะนำเข้าสู่หน้า Clonal โดยจะแสดงภาพ Heatmap



12. กดปุ่ม Back เพื่อย้อนกลับมาหน้า Dashboard

TUBERCULOSIS

ANALYSIS NAVIGATION

- Home
- Account Summary
- Dashboard**
- User Manual
- Contact Us

All Project

Project : Project200224

Total Sample : 17

Total Phylogenetic tree : 3

NGS Analysis status

100% Complete

Phylogenetic status

100% Complete

DST

98.75% sensitive 25% MDR 8.25% resist

Project : testWHO2023

Total Sample : 14

Total Phylogenetic tree : 2

NGS Analysis status

100% Complete

Phylogenetic status

100% Complete

DST

26.09% sensitive 11.04% MDR 47.83% XDR 13.04% resistant

Project : test_WHO2023_V2

Total Sample : 5

Total Phylogenetic tree : 0

NGS Analysis status

100% Complete

Phylogenetic status

100% Complete

DST

100% sensitive 70% resistant

Project : Test_WHO2023_RUN1

Total Sample : 19

Total Phylogenetic tree : 9

NGS Analysis status

100% Complete

Phylogenetic status

100% Complete

DST

87.36% sensitive 41.38% MDR 11.76% resistant

Project : TEST_workshop

Total Sample : 1

Total Phylogenetic tree : 0

NGS Analysis status

100% Complete

Phylogenetic status

100% Complete

DST

100% sensitive

Project : Test_Pimonwan

Total Sample : 11

Total Phylogenetic tree : 7

NGS Analysis status

100% Complete

Phylogenetic status

100% Complete

DST

100% sensitive 14.18% MDR-TB 63.64% MDR-TB

Project : Major_test

Total Sample : 19

Total Phylogenetic tree : 5

NGS Analysis status

100% Complete

Phylogenetic status

100% Complete

DST

97.89% sensitive 26.71% MDR-TB 7.14% Other Pre-XDR-TB 14.29% Other Pre-XDR-TB

Project : BGL_test

Total Sample : 17

Total Phylogenetic tree : 6

NGS Analysis status

100% Complete

Phylogenetic status

100% Complete

DST

26.86% sensitive 36.86% MDR-TB 5.88% Other Pre-XDR-TB 16.67% Other Pre-XDR-TB

Create New Project

ข้อมูล DST อ้างอิงจาก Result ที่สามารถ Run ข้อมูลได้

ใน Project ของผู้ใช้งานได้

หน้า Dashboard สามารถบอกสัดส่วนของข้อมูลต่างๆ

บอกสถานะ Process ของ NGS ที่กำลังวิเคราะห์

13. หน้า Account Summary จะแสดงข้อมูลโดยรวมทั้งหมด

