



## ภาคผนวก ก น้ำยาและเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

### 1 น้ำยา

- 1.1 น้ำยาตรวจหาปริมาณเอ็นไซม์ ALT โดยเครื่อง Dimension model RxL
- 1.2 น้ำยาตรวจหาปริมาณ AFP โดยเครื่อง AxSYM
- 1.3 น้ำยาตรวจหา HBeAg โดยเครื่อง AxSYM
- 1.4 น้ำยาตรวจหา Anti-HBe โดยเครื่อง AxSYM
- 1.5 ชุดน้ำยาสกัดดีเอ็นเอของไวรัส ชื่อ QIAamp Uitrasens, QIAGEN
- 1.6 Primer ที่ถูกออกแบบสำหรับยีนของไวรัสตับอักเสบบี ส่วน precore และ core ยีน
- 1.7 Taq DNA polymerase (Gold Taq)
- 1.8 Tris-HCl
- 1.9 Ethidium bromide
- 1.10 agarose
- 1.11 น้ำยาสกัด DNA ไวรัสให้บริสุทธิ์ NucleoSpin® Extract II kit ,Macherey-Nagel

### 2 เครื่องมือตรวจวิเคราะห์

- 2.1 เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิก ชื่อเครื่อง Dimension รุ่น RxL
- 2.2 เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติทางภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก ชื่อเครื่อง AxSYM
- 2.3 เครื่องตรวจวิเคราะห์อณูชีววิทยาโดยใช้หลักการ PCR ชื่อเครื่อง PERKIN ELEMER:GeneAmp PCR system 2400
- 2.4 Auto pipette
- 2.5 Micro centrifuge tube
- 2.6 เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วรอบสูง
- 2.7 เครื่อง gel electrophoresis
- 2.8 เครื่องอ่านผลและบันทึกภาพ gel doc

ภาคผนวก ข รายละเอียดและผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

รายละเอียดและผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีแบบเรื้อรัง  
โรงพยาบาลเลิดสิน 114 คน

| ลำดับ | เพศ  | อายุ<br>(ปี) | HBeAg    | Anti-HBe | ALT<br>(U/L) | AFP<br>(ng/mL) | HBV DNA<br>(log) | การ<br>กลายพันธุ์    |
|-------|------|--------------|----------|----------|--------------|----------------|------------------|----------------------|
| 1     | ชาย  | 30           | Negative | Positive | 50           | 2.18           | ไม่มีข้อมูล      | ไม่มีข้อมูล          |
| 2     | ชาย  | 22           | Negative | Positive | 36           | 2.84           | ไม่มีข้อมูล      | ไม่มีข้อมูล          |
| 3     | ชาย  | 44           | Negative | Positive | 210          | 10.21          | ไม่มีข้อมูล      | ไม่มีข้อมูล          |
| 4     | หญิง | 27           | Negative | Positive | 51           | 1.53           | ไม่มีข้อมูล      | กลายพันธุ์<br>BCP    |
| 5     | หญิง | 34           | Negative | Positive | 43           | 1.84           | 4.49             | กลายพันธุ์<br>BCP+PC |
| 6     | หญิง | 51           | Negative | Positive | 41           | 2.95           | 3.02             | กลายพันธุ์<br>BCP+PC |
| 7     | หญิง | 45           | Negative | Positive | 27           | 2.99           | <1.74            | กลายพันธุ์<br>BCP    |
| 8     | หญิง | 49           | Negative | Positive | 31           | 3.14           | 2.50             | กลายพันธุ์<br>BCP+PC |
| 9     | หญิง | 39           | Negative | Positive | 52           | 2.29           | ไม่มีข้อมูล      | ไม่มีข้อมูล          |
| 10    | หญิง | 58           | Negative | Positive | 54           | 2.72           | ไม่มีข้อมูล      | กลายพันธุ์ PC        |
| 11    | ชาย  | 45           | Negative | Positive | 81           | 5.63           | ไม่มีข้อมูล      | ไม่มีข้อมูล          |
| 12    | หญิง | 34           | Negative | Positive | 34           | 3.01           | <1.74            | ไม่มีข้อมูล          |
| 13    | ชาย  | 29           | Positive | Negative | 60           | 2.20           | >8.04            | ไม่มีข้อมูล          |
| 14    | ชาย  | 61           | Negative | Positive | 38           | 4.12           | ไม่มีข้อมูล      | ไม่มีข้อมูล          |
| 15    | ชาย  | 46           | Negative | Positive | 44           | 12.63          | <1.74            | ไม่มีข้อมูล          |

| ลำดับ | เพศ  | อายุ (ปี) | HBeAg    | Anti-HBe | ALT (U/L) | AFP (ng/mL) | HBV DNA (log) | การกลายพันธุ์        |
|-------|------|-----------|----------|----------|-----------|-------------|---------------|----------------------|
| 16    | ชาย  | 54        | Positive | Negative | 128       | 8.29        | 4.96          | ไม่มีข้อมูล          |
| 17    | หญิง | 73        | Negative | Positive | 43        | 7.99        | <1.74         | ไม่มีข้อมูล          |
| 18    | ชาย  | 35        | Positive | Positive | 39        | 6.05        | 4.32          | ไม่มีข้อมูล          |
| 19    | ชาย  | 31        | Negative | Positive | 270       | 2.59        | <1.74         | ไม่<br>กลายพันธุ์    |
| 20    | ชาย  | 46        | Negative | Positive | 40        | 13.03       | <1.74         | ไม่มีข้อมูล          |
| 21    | ชาย  | 52        | Negative | Positive | 35        | 2.34        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล          |
| 22    | ชาย  | 53        | Negative | Positive | 33        | 10.1        | ไม่มีข้อมูล   | กลายพันธุ์<br>BCP    |
| 23    | ชาย  | 27        | Positive | Negative | 136       | 2.03        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล          |
| 24    | ชาย  | 35        | Positive | Positive | 68        | 7.32        | <1.74         | ไม่มีข้อมูล          |
| 25    | ชาย  | 24        | Positive | Negative | 61        | 3.40        | 7.15          | ไม่มีข้อมูล          |
| 26    | หญิง | 56        | Negative | Positive | 56        | 1.81        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล          |
| 27    | หญิง | 40        | Negative | Positive | 30        | 1.23        | 2.58          | กลายพันธุ์<br>BCP+PC |
| 28    | หญิง | 82        | Positive | Negative | 39        | 6.47        | <1.74         | ไม่มีข้อมูล          |
| 29    | ชาย  | 37        | Positive | Negative | 114       | 7.83        | 6.42          | ไม่มีข้อมูล          |
| 30    | ชาย  | 49        | Positive | Negative | 77        | 1.74        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล          |
| 31    | หญิง | 36        | Negative | Positive | 41        | 5.05        | ไม่มีข้อมูล   | กลายพันธุ์<br>BCP    |
| 32    | ชาย  | 49        | Negative | Positive | 38        | 3.23        | 2.33          | ไม่มีข้อมูล          |
| 33    | ชาย  | 58        | Negative | Positive | 38        | 2.96        | ไม่มีข้อมูล   | กลายพันธุ์ PC        |
| 34    | หญิง | 33        | Positive | Negative | 53        | 1.45        | 3.04          | ไม่มีข้อมูล          |
| 35    | ชาย  | 43        | Positive | Positive | 52        | 3.72        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล          |
| 36    | ชาย  | 33        | Positive | Negative | 45        | 2.75        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล          |
| 37    | ชาย  | 38        | Negative | Positive | 50        | 1.78        | <1.74         | ไม่มีข้อมูล          |
| 38    | ชาย  | 45        | Negative | Positive | 49        | 2.71        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล          |
| 39    | หญิง | 20        | Negative | Positive | 47        | 0.75        | ไม่มีข้อมูล   | กลายพันธุ์<br>BCP+PC |
| 40    | หญิง | 54        | Positive | Negative | 42        | 6.32        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล          |
| 41    | หญิง | 35        | Positive | Negative | 82        | 15.07       | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล          |

| ลำดับ | เพศ  | อายุ (ปี) | HBeAg    | Anti-HBe | ALT (U/L) | AFP (ng/mL) | HBV DNA (log) | การกลายพันธุ์       |
|-------|------|-----------|----------|----------|-----------|-------------|---------------|---------------------|
| 42    | หญิง | 59        | Negative | Positive | 43        | 0.94        | 2.89          | กลายพันธุ์ BCP      |
| 43    | ชาย  | 43        | Positive | Negative | 112       | 8.86        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล         |
| 44    | ชาย  | 37        | Negative | Positive | 33        | 3.13        | ไม่มีข้อมูล   | กลายพันธุ์ BCP + PC |
| 45    | ชาย  | 53        | Negative | Positive | 38        | 1.07        | <1.74         | ไม่มีข้อมูล         |
| 46    | หญิง | 59        | Negative | Positive | 40        | 2.53        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล         |
| 47    | หญิง | 34        | Positive | Negative | 56        | 1.39        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล         |
| 48    | ชาย  | 48        | Negative | Positive | 75        | 4.50        | 2.53          | กลายพันธุ์ BCP      |
| 49    | หญิง | 39        | Positive | Negative | 41        | 3.59        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล         |
| 50    | หญิง | 47        | Negative | Positive | 58        | 2.76        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล         |
| 51    | หญิง | 53        | Negative | Positive | 21        | 3.65        | 2.59          | กลายพันธุ์ BCP      |
| 52    | ชาย  | 51        | Positive | Positive | 53        | 470.42      | <1.74         | ไม่มีข้อมูล         |
| 53    | หญิง | 38        | Negative | Positive | 101       | 2.71        | 1.98          | ไม่มีข้อมูล         |
| 54    | หญิง | 57        | Negative | Positive | 30        | 3.19        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล         |
| 55    | หญิง | 25        | Positive | Negative | 50        | 1.53        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล         |
| 56    | ชาย  | 30        | Positive | Negative | 654       | 1188.1      | 5.05          | ไม่มีข้อมูล         |
| 57    | หญิง | 54        | Negative | Positive | 37        | 1.70        | <1.74         | กลายพันธุ์ PC       |
| 58    | ชาย  | 49        | Negative | Positive | 39        | 7.82        | <1.74         | ไม่มีข้อมูล         |
| 59    | ชาย  | 32        | Positive | Positive | 39        | 9.96        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล         |
| 60    | ชาย  | 49        | Negative | Positive | 46        | 8.03        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล         |
| 61    | หญิง | 46        | Negative | Positive | 42        | 1.86        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล         |
| 62    | หญิง | 34        | Negative | Positive | 32        | 1.08        | ไม่มีข้อมูล   | กลายพันธุ์ BCP      |
| 63    | ชาย  | 31        | Negative | Positive | 106       | 1.09        | 3.06          | กลายพันธุ์ BCP+PC   |
| 64    | หญิง | 31        | Negative | Positive | 36        | 1.91        | 3.38          | กลายพันธุ์ PC       |
| 65    | ชาย  | 37        | Positive | Negative | 65        | 4.38        | <1.74         | ไม่มีข้อมูล         |
| 66    | หญิง | 21        | Negative | Positive | 56        | 2.12        | 2.30          | กลายพันธุ์ PC       |
| 67    | หญิง | 60        | Negative | Positive | 32        | 3.24        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล         |
| 68    | ชาย  | 51        | Negative | Positive | 64        | 3.29        | ไม่มีข้อมูล   | กลายพันธุ์ BCP+PC   |
| 69    | ชาย  | 40        | Negative | Positive | 44        | 1.01        | ไม่มีข้อมูล   | กลายพันธุ์ PC       |

| ลำดับ | เพศ  | อายุ (ปี) | HBeAg    | Anti-HBe | ALT (U/L) | AFP (ng/mL) | HBV DNA (log) | การกลายพันธุ์     |
|-------|------|-----------|----------|----------|-----------|-------------|---------------|-------------------|
| 70    | ชาย  | 48        | Negative | Positive | 40        | 2.27        | <1.74         | ไม่มีข้อมูล       |
| 71    | หญิง | 28        | Positive | Negative | 43        | 5.04        | <1.74         | ไม่มีข้อมูล       |
| 72    | ชาย  | 45        | Negative | Positive | 59        | 3.87        | <1.74         | ไม่มีข้อมูล       |
| 73    | หญิง | 50        | Negative | Positive | 34        | 1.25        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล       |
| 74    | หญิง | 50        | Negative | Positive | 52        | 3.71        | ไม่มีข้อมูล   | กลายพันธุ์ BCP+PC |
| 75    | ชาย  | 33        | Positive | Positive | 47        | 2.96        | <1.74         | ไม่มีข้อมูล       |
| 76    | ชาย  | 59        | Negative | Positive | 89        | 5.12        | 2.01          | กลายพันธุ์ BCP+PC |
| 77    | ชาย  | 24        | Positive | Negative | 32        | 2.44        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล       |
| 78    | ชาย  | 41        | Negative | Positive | 66        | 2.60        | 2.41          | ไม่มีข้อมูล       |
| 79    | หญิง | 48        | Negative | Positive | 38        | 2.35        | <1.46         | ไม่มีข้อมูล       |
| 80    | ชาย  | 35        | Positive | Negative | 48        | 2.13        | <1.46         | ไม่มีข้อมูล       |
| 81    | หญิง | 25        | Positive | Negative | 74        | 0.98        | >8.04         | ไม่มีข้อมูล       |
| 82    | ชาย  | 36        | Negative | Positive | 74        | 2.61        | ไม่มีข้อมูล   | กลายพันธุ์ BCP+PC |
| 83    | หญิง | 72        | Negative | Positive | 30        | 1.24        | <1.46         | ไม่มีข้อมูล       |
| 84    | ชาย  | 66        | Negative | Positive | 61        | 1.78        | ไม่มีข้อมูล   | กลายพันธุ์ BCP+PC |
| 85    | ชาย  | 54        | Negative | Positive | 82        | 11.70       | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล       |
| 86    | ชาย  | 54        | Negative | Positive | 36        | 0.97        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล       |
| 87    | ชาย  | 48        | Negative | Positive | 56        | 3.11        | ไม่มีข้อมูล   | กลายพันธุ์ PC     |
| 88    | ชาย  | 35        | Negative | Positive | 40        | 2.46        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล       |
| 89    | ชาย  | 45        | Positive | Negative | 50        | 3.19        | <1.46         | ไม่มีข้อมูล       |
| 90    | หญิง | 30        | Positive | Positive | 113       | 2.46        | 6.92          | ไม่มีข้อมูล       |
| 91    | ชาย  | 57        | Negative | Positive | 43        | 3.26        | 2.06          | กลายพันธุ์ BCP+PC |
| 92    | หญิง | 27        | Positive | Negative | 36        | 2.33        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล       |
| 93    | หญิง | 58        | Negative | Positive | 46        | 2.26        | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล       |
| 94    | ชาย  | 49        | Positive | Negative | 44        | 3.83        | >8.04         | ไม่มีข้อมูล       |
| 95    | หญิง | 67        | Positive | Positive | 67        | 37.39       | ไม่มีข้อมูล   | ไม่มีข้อมูล       |

| ลำดับ | เพศ  | อายุ<br>(ปี) | HBeAg    | Anti-HBe | ALT<br>(U/L) | AFP<br>(ng/mL) | HBV DNA<br>(log) | การ<br>กลายพันธุ์    |
|-------|------|--------------|----------|----------|--------------|----------------|------------------|----------------------|
| 96    | หญิง | 25           | Positive | Positive | 41           | 2.14           | 2.78             | ไม่มีข้อมูล          |
| 97    | หญิง | 29           | Negative | Positive | 45           | 3.03           | <1.46            | ไม่มีข้อมูล          |
| 98    | ชาย  | 59           | Negative | Positive | 50           | 2.57           | <1.46            | ไม่<br>กลายพันธุ์    |
| 99    | ชาย  | 52           | Negative | Positive | 42           | 2.28           | <1.46            | ไม่มีข้อมูล          |
| 100   | หญิง | 56           | Positive | Negative | 44           | 3.16           | ไม่มีข้อมูล      | ไม่มีข้อมูล          |
| 101   | ชาย  | 24           | Positive | Negative | 58           | 2.03           | ไม่มีข้อมูล      | ไม่มีข้อมูล          |
| 102   | หญิง | 57           | Negative | Positive | 55           | 2.38           | 4.34             | ไม่มีข้อมูล          |
| 103   | ชาย  | 33           | Negative | Positive | 46           | 2.57           | ไม่มีข้อมูล      | กลายพันธุ์<br>BCP    |
| 104   | หญิง | 35           | Negative | Positive | 40           | 2.06           | 3.47             | ไม่กลายพันธุ์        |
| 105   | ชาย  | 55           | Negative | Positive | 37           | 4.10           | <1.46            | ไม่มีข้อมูล          |
| 107   | ชาย  | 41           | Negative | Positive | 132          | 6.96           | <1.46            | ไม่มีข้อมูล          |
| 108   | ชาย  | 40           | Negative | Positive | 37           | 2.00           | ไม่มีข้อมูล      | ไม่มีข้อมูล          |
| 109   | ชาย  | 44           | Negative | Positive | 43           | 1.38           | ไม่มีข้อมูล      | ไม่มีข้อมูล          |
| 110   | ชาย  | 43           | Negative | Positive | 32           | 3.52           | ไม่มีข้อมูล      | ไม่มีข้อมูล          |
| 111   | หญิง | 35           | Positive | Negative | 54           | 1.90           | ไม่มีข้อมูล      | ไม่มีข้อมูล          |
| 112   | ชาย  | 48           | Negative | Positive | 42           | 3.15           | <1.46            | ไม่มีข้อมูล          |
| 113   | ชาย  | 26           | Positive | Negative | 49           | 8.40           | ไม่มีข้อมูล      | ไม่มีข้อมูล          |
| 114   | หญิง | 33           | Negative | Positive | 46           | 5.17           | 3.99             | กลายพันธุ์<br>BCP+PC |

ภาคผนวก ค ผลการศึกษาหาการกลายพันธุ์แบบ BCP (A1792T และ G1764A) และ PC(G1896A) ของไวรัสตับอักเสบบี ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีแบบเรื้อรัง กลุ่ม HBeAg เป็นลบ จำนวน 33 คน

Aligment

|     |                                             |                                             |      |      |  |
|-----|---------------------------------------------|---------------------------------------------|------|------|--|
|     |                                             | 1762                                        | 1764 | 1896 |  |
|     |                                             | *                                           | *    | *    |  |
|     | HBV wild type                               | GGAGGAGATTAGGTTAAAGGTCTTT.....GCTTTGGGGCATG |      |      |  |
| S1  | GGAGGAGACTATGTTAATGATCTTT.....GCTTTGGGGCATG | BCP mutant (4)                              |      |      |  |
| S2  | -----T-A-----A-----                         | precore mutant,<br>BCPmutant(5)             |      |      |  |
| S3  | -----T-A-----A-----                         | precore mutant,<br>BCPmutant(6)             |      |      |  |
| S4  | -----T-A-----A-----                         | precore mutant,<br>BCPmutant(8)             |      |      |  |
| S5  | -----A-G-----A-----                         | precore mutant(10)                          |      |      |  |
| S6  | -----A-G-----G-----                         | (wild type) (19)                            |      |      |  |
| S7  | -----T-A-----G-----                         | BCPmutant(22)                               |      |      |  |
| S8  | -----T-A-----A-----                         | precore mutant,<br>BCPmutant(27)            |      |      |  |
| S9  | -----T-A-----A-----                         | precore mutant,<br>BCPmutant(39)            |      |      |  |
| S10 | -----T-A-----G-----                         | BCPmutant(42)                               |      |      |  |
| S11 | -----T-A-----A-----                         | precore mutant,<br>BCPmutant(44)            |      |      |  |
| S12 | -----T-A-----G-----                         | BCPmutant(48)                               |      |      |  |
| S13 | -----T-A-----G-----                         | BCPmutant(51)                               |      |      |  |
| S14 | -----T-A-----G-----                         | BCPmutant(62)                               |      |      |  |
| S15 | -----T-A-----A-----                         | precore mutant(63)<br>BCPmutant             |      |      |  |
| S16 | -----A-G-----A-----                         | precore mutant (64)                         |      |      |  |
| S17 | -----A-G-----A-----                         | precore mutant(66)                          |      |      |  |
| S18 | -----T-A-----A-----                         | precore mutant,                             |      |      |  |

|     |                     |                    |                |
|-----|---------------------|--------------------|----------------|
|     |                     |                    | BCPmutant(68)  |
| S19 | -----A-G-----A----- | precore mutant(69) |                |
| S20 | -----T-A-----A----- | precore mutant,    |                |
|     |                     |                    | BCPmutant(74)  |
| S21 | -----T-A-----A----- | precore mutant,    |                |
|     |                     |                    | BCPmutant (76) |
| S22 | -----T-A-----A----- | precore mutant,    |                |
|     |                     |                    | BCPmutant(84)  |
| S23 | -----T-A-----A----- | precore mutant,    |                |
|     |                     |                    | BCPmutant(91)  |
| S24 | -----T-A-----G----- | BCPmutant( 103)    |                |
| S25 | -----A-G-----G----- | (wild type)104     |                |
| S26 | -----T-A-----A----- | precore mutant,    |                |
|     |                     |                    | BCPmutant(114) |
| S27 | -----T-A-----G----- | BCPmutant(7)       |                |
| S28 | -----T-A-----G----- | BCPmutant(31)      |                |
| S29 | -----A-G-----A----- | precore mutant(33) |                |
| S30 | -----T-A-----A----- | precore mutant,    |                |
|     |                     |                    | BCPmutant(82)  |
| S31 | -----A-G-----A----- | precore mutant(87) |                |
| S32 | -----A-G-----G----- | (wild type)98      |                |
| S33 | -----A-G-----A----- | precore mutant 106 |                |