

# Production of a Plasma Derived Universal Antivenom Against All Elapid Neurotoxic Snake Venoms

**Kavi Ratanabanangkoon**

Department of Microbiology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand

Siriraj Medical Bulletin 2021;14(4): 56-61

---

## Abstract

Snakebite envenoming has killed about 138,000 people and maimed 400,000 victims annually. WHO has designated this medical problem as one of the most neglected tropical diseases for which effective, affordable antivenoms (AVs) are urgently needed. Production of potent AV against neurotoxic venoms was difficult and was thought to be due to the low immunogenicity of the postsynaptic neurotoxins (PSNT) which cause death in the victims. However, it was showed that the use of ineffective adjuvant in the immunization of horse was the root cause. The highly effective Freund adjuvant (FA) causes severe local reactions and could not be used. A novel immunization protocol termed 'low dose low volume multi-site' was tested and shown to obliterate the local side effect and allow for the safe use of FA in horse. The immunization protocol led to the production of 7 highly potent monovalent AVs, and 2 potent polyvalent AVs, one against 4 neurotoxic venoms and another against 3 hematotoxic venoms. These AVs allow the treatment of snakebite victims without the need to identify the culprit snakes. Furthermore, we have tested a novel immunization strategy using 'diverse toxin repertoire' of 12 Asian elapid toxin fractions. The resulting antiserum effectively neutralized at least 36 elapid venoms of 28 species encompassing 10 genera and from 20 countries on 4 continents, and most likely all the elapid neurotoxic snake venoms. These results indicate that effective universal antivenom against all elapid neurotoxic venoms of the world can be produced and save numerous lives.

**Keywords:** snake envenomation; neurotoxic venoms; elapid snakes; plasma-derived antivenom; universal antivenom

---

Correspondence to: Kavi Ratanabanangkoon

Email: kavi.rtn@mahidol.ac.th

Received: 5 May 2021

Revised: 2 August 2021

Accepted: 10 August 2021

<http://dx.doi.org/10.33192/smb.v14i4.250616>

# การผลิตเซรุ่มแก้พิษงู ชนิดครอบจักรวาลต่อสู้พิษประสาท

กวี รัตนบรรณางกูร

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร

## บทคัดย่อ

ประชากรโลกถูกงูพิษกัดตายปีละ 1.38 แสนคนและทุพลภาพ 4 แสนคน องค์การอนามัยโลกได้กำหนดให้ปัญหานี้เป็นโรคเขตร้อนที่ถูกละเลยที่จำเป็นต้องมีการผลิตเซรุ่มแก้พิษงูที่มีประสิทธิภาพสูง แต่การผลิตเซรุ่มแก้พิษงูยังให้ผลต่ำ โดยเชื่อว่าเป็นเพราะสารพิษของงูพิษประสาทมีโมเลกุลเล็ก แต่การวิจัยพบว่าปัจจัยสำคัญคือใช้สารแอดจูแวนต์ (adjuvant) ที่ไร้ประสิทธิภาพในการฉีดกระตุ้น ส่วนสาร Freund adjuvant (FA) ที่มีประสิทธิภาพสูงกลับมีผลทำให้ม้าเป็นแผลและฝีจึงไม่แนะนำให้ใช้ นักวิจัยจึงนำวิธีการฉีดกระตุ้นแบบ low dose, low volume multi-site ที่ใช้ FA แต่ใช้ปริมาณพิษงูต่ำ ในปริมาตรของสารที่ฉีดต่ำ จำนวน 20 จุดรอบคอ ปรากฏว่าม้าไม่เป็นแผลและผลิตเซรุ่มแก้พิษงูเดี่ยวที่มีประสิทธิภาพสูงต่อ งูต่าง ๆ ได้ 7 ชนิด และผลิตเซรุ่มแก้พิษงูรวมได้ 2 ชนิด ชนิดแรก ต่อสู้พิษประสาท 4 ตัว ชนิดที่สองต่อสู้พิษโลหิต 3 ตัว ทำให้แพทย์รักษาผู้ป่วยได้โดยไม่ต้องรู้ชนิดของงูที่กัด นอกจากนี้ยังได้ทดสอบวิธีการฉีดกระตุ้นม้าด้วยสารพิษหลากหลาย (diverse toxin repertoire) ที่ได้จากงูพิษประสาทต่าง ๆ 12 ชนิดของเอเชีย เซรุ่มม้าที่ได้สามารถแก้พิษงูได้อย่างน้อย 36 ชนิดจาก 28 สปีชีส์ใน 10 ยีนส์ ที่พบใน 20 ประเทศของ 4 ทวีป นับเป็นเซรุ่มแก้พิษงูที่มีฤทธิ์ข้ามกลุ่ม (cross-reaction) สูงสุดเท่าที่เคยมีรายงาน วิธีการนี้จึงนำมาผลิตเซรุ่มแก้พิษงูครอบจักรวาลที่แก้พิษประสาทของงูทั่วโลกได้และจะรักษาชีวิตคนได้เป็นจำนวนมาก

**คำสำคัญ:** งูพิษกัด; งูพิษประสาท; เซรุ่มแก้พิษงู; เซรุ่มแก้พิษครอบจักรวาล

## บทนำ

การถูกงูพิษกัดยังเป็นปัญหาทางการแพทย์ที่สำคัญในประเทศต่าง ๆ ทั่วโลก โดยพบว่ามีคนถูกงูพิษกัดเสียชีวิตประมาณ 1.38 แสนคน และทำให้ทุพลภาพประมาณ 4 แสนคนต่อปี<sup>1</sup> องค์การอนามัยโลกได้กำหนดให้ปัญหาการถูกงูพิษกัด (snake envenomation) เป็นโรคเขตร้อนที่ถูกละเลย (neglected tropical disease) และมีเป้าหมายให้ลดการสูญเสียนี้ลงครึ่งหนึ่งภายในปี 2030<sup>2,3</sup> ในประเทศไทย มีคนถูกงูพิษกัดปีละประมาณเกือบหมื่นราย ในอดีต เคยมีคนไทยตายจากพิษงูกัดปีละหลายสิบคน แต่ปัจจุบันในบางปีเกือบไม่มีคนตายจากพิษงูกัด<sup>4</sup> โดยมีปัจจัยที่ช่วยลดอัตราการเสียชีวิต เช่น การหลีกเลี่ยงและป้องกันไม่ให้ถูกงูกัดและการบำบัดรักษาที่ดีและมีประสิทธิภาพโดยแพทย์ที่มีความรู้ความชำนาญมากขึ้น<sup>5</sup>

แต่ปัจจัยที่สำคัญยิ่งคือไทยมีการผลิตเซรุ่มแก้พิษงู (antivenom, AV) ที่มีประสิทธิภาพ และในปริมาณที่พอเพียง ไม่เพียงแต่การใช้

ในประเทศ แต่ยังมีส่งออกไปยังต่างประเทศอีกด้วย

เซรุ่มแก้พิษงูเป็นยาที่ได้รับการพิสูจน์มานานแล้วว่า มีประโยชน์ในการรักษาคนที่ถูกงูพิษกัด โดยที่เซรุ่มแก้พิษงูสามารถลดอาการป่วยและเสียชีวิตจากพิษงูได้ หากใช้เซรุ่มถูกชนิดและในปริมาณที่เหมาะสม เช่น ลดอาการเลือดไม่แข็งตัวและเลือดออกมากจากพิษงูต่อระบบโลหิต ลดอาการหายใจอ่อนแรงและสามารถลดระยะเวลาในการฟื้นตัวจากการใช้เครื่องช่วยหายใจในกรณีถูกงูพิษประสาทกัด เช่น งูเห่า เป็นต้น<sup>5</sup> แต่สาเหตุที่ทั่วโลก มีผู้คนเสียชีวิตกันมากจากการถูกงูพิษกัด เป็นเพราะในหลายประเทศยังไม่มีเซรุ่มแก้พิษงู (antivenom, AV) ที่มีประสิทธิภาพสูงและราคาถูกลง ส่วนที่มีผลิตได้ก็มีประสิทธิภาพต่ำ มีผลข้างเคียงสูง และราคาแพงมากสำหรับประชากรที่ยากจน<sup>6</sup> ปัญหาที่สำคัญอีกประการหนึ่ง คือ เซรุ่มแก้พิษงูแต่ละชนิดมีความจำเพาะสูง (specificity) คือใช้รักษาพิษงูได้เฉพาะพิษงูที่ใช้ฉีดกระตุ้นสัตว์เท่านั้น เซรุ่มแก้พิษงูมักจะไม่มีปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม (cross neutralization) ต่อพิษ

ชนิดอื่น ๆ ประเทศไทยมีพิษที่เป็นปัญหาในการแพทย์อยู่ 7 ชนิด สถานเสาวภาจำเป็นต้องผลิตเซรุ่มแก้พิษงูเดี่ยว (monovalent AV) 7 ชนิดเช่นกัน เพราะแต่ละชนิดยังไม่สามารถใช้รักษาพิษชนิดอื่นได้ ทำให้ขบวนการผลิตต้องใช้ม้า 7 กลุ่ม และการทำแอนติบอดีให้บริสุทธิ์ การควบคุมคุณภาพ ฯลฯ ต้องแยกทำกันในการผลิตเซรุ่มแก้พิษงูแต่ละชนิด จึงผลิตในปริมาณน้อยและพอเพียงสำหรับใช้ในประเทศ เป็นเหตุให้เซรุ่มแก้พิษงูมีต้นทุนการผลิตสูงและราคาสูง<sup>7</sup> โดยเฉลี่ยแล้วการรักษาผู้ป่วยถูกงูพิษกัดแต่ละรายใช้เงินประมาณ 30,000 บาท (ข้อมูลจาก ผศ นพ สุชัย สุเทพารักษ์, กุมภาพันธ์ 2564)

ด้วยปัญหาต่าง ๆ ของเซรุ่มแก้พิษงูที่มีใช้อยู่ในปัจจุบัน จึงมีความพยายามปรับปรุงคุณภาพของเซรุ่มแก้พิษงูให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น มีผลข้างเคียงน้อยลง ราคาถูกลง และที่สำคัญยิ่ง คือ ให้เซรุ่มแก้พิษงูแต่ละชนิดใช้รักษาพิษงูได้หลายชนิด (polyvalent AV) และอาจจะเป็นชนิดที่ครอบคลุมการกัดคือใช้รักษาพิษงูได้ทุกชนิดทั่วโลก (universal AV)

บทความนี้มีเนื้อหาเกี่ยวกับการวิจัยที่นำมาซึ่งการผลิตเซรุ่มแก้พิษงูชนิดครอบจักรวาลต่อพิษงูที่มีพิษต่อระบบประสาทของผู้ถูกกัด

## พิษงูที่สำคัญทางการแพทย์ของไทย

พิษงูสามารถแบ่งออกเป็นสองประเภท ตามผลทางเภสัชวิทยา ดังนี้

1. พิษต่อระบบประสาท (neurotoxic venoms) เป็นพิษจากงูในวงศ์ Elapidae ในประเทศไทยมีงูประเภทนี้อยู่ 4 ชนิดที่มีความสำคัญทางการแพทย์ คือ งูเห่าไทย (*Naja kaouthia*) งูจงอาง (*Ophiophagus hannah*) งูสามเหลี่ยม (*Bungarus fasciatus*) และงูทับสมิงคลา (*Bungarus candidus*) สารพิษที่สำคัญของพิษงูเหล่านี้คือ postsynaptic neurotoxin (PSNT) ซึ่งสามารถจับตัวกับ nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) ที่ปลายเส้นประสาทที่เลี้ยงกล้ามเนื้อลายบริเวณ neuromuscular junction ทำให้ขัดขวางการจับตัวของ acetylcholine ที่เป็น neurotransmitter ยังผลให้กล้ามเนื้อเป็นอัมพาต และผู้ถูกกัดหยุดหายใจและตายได้<sup>8</sup>

2. พิษต่อระบบโลหิต (hematotoxic venoms) เป็นพิษที่ผลิตจากงูในวงศ์ Viperidae ในประเทศไทยมีงูประเภทนี้อยู่ 3 ชนิดที่มีความสำคัญทางการแพทย์ คือ งูแมวเซา (*Daboia siamensis*) งูกะปะ (*Calloselasma rhodostoma*) และงูเขียวหางไหม้ทองเหลือง (*Cryptelytrops albolabris*) สารพิษในพิษงูเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์จำพวก protease, phospholipase และ esterase ที่ย่อยสลายสารต่าง ๆ ในระบบโลหิต ยังผลให้เกิดการเลือดออก (hemorrhage) ความบกพร่องในระบบเลือดแข็งตัว (coagulopathy) และเม็ดเลือดแดงแตก พิษงูเหล่านี้ทำให้ผู้ป่วยมีอาการเลือดออกมากและทำให้เสียชีวิตได้<sup>9</sup>

## เซรุ่มแก้พิษงู

เซรุ่มแก้พิษงูส่วนใหญ่ผลิตในสัตว์ใหญ่ เช่น ม้า โดยการฉีดกระตุ้นสัตว์ด้วยพิษงู เมื่อตรวจพบว่าระดับของแอนติบอดีต่อพิษงูมีระดับสูงพอในการแก้พิษ ก็ทำการเจาะเลือดม้าและแยกเอาพลาสมามาใช้ ส่วนเม็ดเลือดแดงจะนำกลับคืนให้ม้าพลาสมาจะถูกนำมาแยกเอาแอนติบอดี

ออกด้วยวิธีการต่าง ๆ และอาจจะอยู่ในรูป IgG หรือชิ้นส่วน F(ab')<sub>2</sub>

## เซรุ่มแก้พิษงู อาจจะแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ

1. เซรุ่มแก้พิษงูเดี่ยวที่รักษาพิษชนิดเดียว (monovalent AV) เซรุ่มประเภทนี้ผลิตโดยการฉีดกระตุ้นม้าด้วยพิษงูเพียงชนิดเดียว และเซรุ่มนี้จะใช้รักษาผู้ป่วยที่ถูกงูพิษชนิดที่ฉีดนี้ แต่ใช้รักษาผู้ป่วยที่ถูกงูพิษชนิดอื่นกัดไม่ได้ หรือถ้าได้ก็ไม่ได้ เพราะปฏิกิริยาข้ามกลุ่มของแอนติบอดีในเซรุ่มแก้พิษงูมีจำกัด

2. เซรุ่มแก้พิษงูรวมที่รักษาพิษงูได้หลายชนิด (polyvalent AV) ผลิตโดยการฉีดกระตุ้นม้าด้วยพิษงูหลายชนิดผสมกัน เซรุ่มนี้สามารถใช้รักษาพิษงูหลายชนิดที่ใช้ฉีดกระตุ้น

## ปัญหาในการผลิตเซรุ่มแก้พิษงูในประเทศไทย

สถานเสาวภา สภากาชาดไทย เริ่มผลิตเซรุ่มแก้พิษงูในปี พ.ศ. 2459 เพียง 22 ปีหลังจากเซรุ่มแก้พิษงูถูกผลิตครั้งแรกในโลกโดย Albert Calmette ในปี พ.ศ. 2437 เซรุ่มแก้พิษงูที่ผลิตได้ในประเทศไทยในช่วงก่อนปี พ.ศ. 2520 เป็นประเภท monovalent AV และมีประสิทธิภาพในการรักษาต่ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซรุ่มแก้พิษงูประเภทพิษประสาท เช่น พิษงูเห่า ต้องใช้ปริมาณเซรุ่มมากในการรักษา ปัญหานี้เกิดขึ้นกับผู้ผลิตเซรุ่มแก้พิษงูทั่วโลก

สาเหตุที่ทำให้การผลิตเซรุ่มแก้พิษสำหรับพิษประสาทไม่ค่อยได้ผลดีเป็นเพราะว่าสารพิษ PSNT ในงูเหล่านี้มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำประมาณ 6-8 kDa อีกทั้งมีความเป็นพิษที่สูง<sup>10</sup> นักวิจัยทั่วไปเชื่อว่าสารพิษขนาดเล็กมีความสามารถในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน (immunogenicity) ต่ำ จึงพยายามเชื่อมโมเลกุลของ PSNT กับโปรตีนอื่นที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ<sup>11</sup> นอกจากนี้ ยังเชื่อว่า PSNT มีความเป็นพิษสูง จึงไม่สามารถฉีดกระตุ้นม้าในปริมาณสูงได้ เพราะเข้าใจว่าการฉีดปริมาณพิษสูง ๆ จะช่วยการกระตุ้นให้ม้าสร้างแอนติบอดีได้สูงด้วย จึงพยายามทำลายพิษของ PSNT ด้วยวิธีการทางเคมีหรือใช้รังสีต่าง ๆ<sup>12</sup> แต่การกระทำเหล่านี้ทำให้โครงสร้างทางโมเลกุลของ PSNT เปลี่ยนแปลงไป และแอนติบอดีที่ผลิตได้ก็ไม่สามารถแก้พิษ (neutralize) ของ PSNT ในพิษงูได้

## การศึกษาวิจัยที่เกี่ยวกับประสิทธิภาพในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน (immunogenicity) ต่อ PSNT และอิทธิพลของสารช่วยแอดจูแวนต์ (immunological adjuvant)

เพื่อให้เข้าใจถึงสาเหตุของปัญหาเรื่อง immunogenicity ของ PSNT นักวิจัยได้ สังเคราะห์อนุพันธ์ต่าง ๆ จากสาร PSNT เช่น PSNT ที่มีการเชื่อมต่อกับโปรตีนอื่นเช่น tetanus toxoid, albumin หรือทำการเชื่อมต่อกันโดย glutaraldehyde, carbodiimide ฯลฯ รวมทั้งหมด 8 อนุพันธ์ เพื่อใช้เป็นสารกระตุ้นในหนูขาว ปรากฏว่าอนุพันธ์ของสาร PSNT ทุกชนิดกระตุ้นให้หนูผลิตแอนติบอดีต่อ PSNT ได้ดี<sup>13</sup> ฉะนั้น สาเหตุที่เซรุ่มแก้พิษสำหรับพิษประสาทมีประสิทธิภาพต่ำจึงไม่ได้เป็นเพราะน้ำหนักโมเลกุลของ PSNT ต่ำหรือมีความเป็นพิษสูง แต่ต้องมาจากสาเหตุอื่น ในการผลิตเซรุ่มแก้พิษงูในม้า นักวิจัยต้องผสมพิษงูกับสารช่วย (adju-

vant) เพื่อเพิ่มการกระตุ้นสัตว์ให้ผลิตแอนติบอดี สาร adjuvant ที่มีประสิทธิภาพสูงมากและมีราคาถูก คือ Freund's adjuvant (FA) ซึ่งมีส่วนผสมของ mineral oil และ Mycobacterium tuberculosis ผสมอยู่ แต่ FA ทำให้มันเป็นแผลและเป็นฝีรุนแรง และอาจทำให้ม้าตายได้ ฉะนั้น จึงไม่แนะนำให้ใช้ FA ในม้า และผู้ผลิต เช่น สถานเสาวภาได้ใช้ bentonite เป็น adjuvant ซึ่งมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นต่ำ

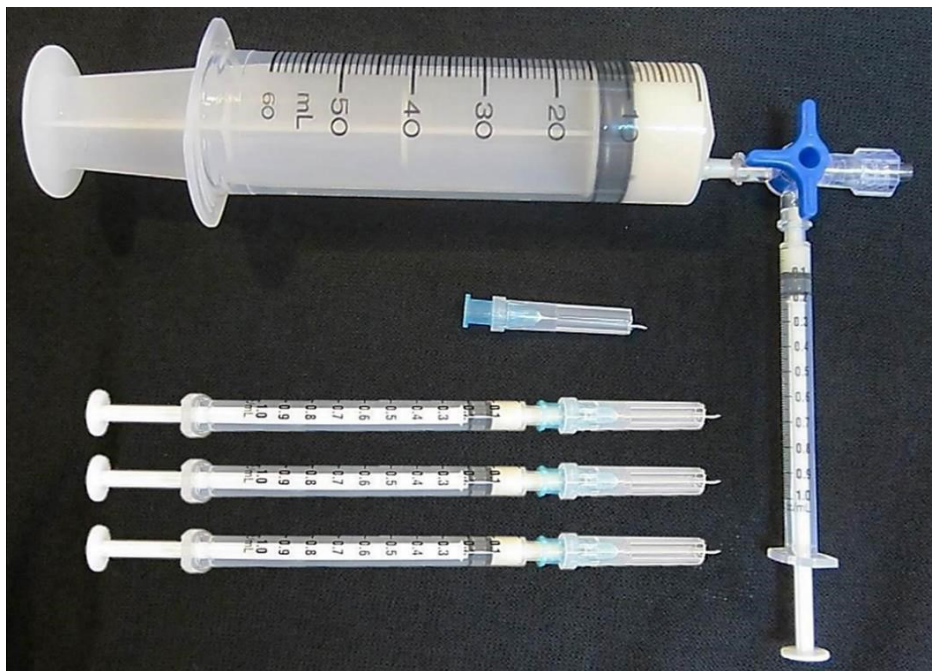
จากการศึกษาสารพิษ PSNT ในหนูขาวที่กล่าวไว้ข้างต้นที่พบว่าได้ผลในการสร้างแอนติบอดีในระดับสูงนั้นเป็นการทดลองโดยใช้ Freund's adjuvant แต่ถ้าหากใช้ bentonite จะให้ผลระดับแอนติบอดีที่ต่ำมาก<sup>14</sup> ฉะนั้น สาร PSNT จากพิษงู Elapid จึงมี immunogenicity ที่ดี แต่เนื่องจากการใช้ adjuvant ที่ไม่เหมาะสม ผลที่ได้จึงได้เสริมแก่พิษงูที่ไม่มีประสิทธิภาพ เพื่อให้สามารถใช้ FA เป็น adjuvant ในม้าได้โดยไม่ทำให้มีผลข้างเคียง นักวิจัยจึงใช้วิธีการฉีดใหม่ที่เรียกว่า 'low dose, low volume multi-site immunization protocol' โดยใช้พิษงูผสมกับ FA และฉีดในปริมาณพิษงูที่ต่ำมาก ๆ (1-2 มก ต่อม้า) และในปริมาตรที่น้อย (0.1 มล ต่อจุด) ที่หลาย ๆ ตำแหน่ง รวม 20 จุดที่บริเวณรอบคอของม้า เนื่องจากการใช้ปริมาตรที่น้อยในแต่ละจุดที่ฉีด รวมถึงการใช้สภาวะปลอดเชื้อ จึงไม่มีการเกิดแผลและฝีและจึงสามารถใช้ FA ได้อย่างปลอดภัยในม้า<sup>15</sup> วิธีการฉีดดังกล่าวสามารถทำได้ง่ายและรวดเร็วโดยใช้เข็มฉีดยา tuberculin syringe ที่ดัดแปลงดังภาพที่ 1 ทำให้สามารถฉีดกระตุ้นม้า 20 จุดสำเร็จได้ภายใน 2-3 นาที และองค์การอนามัยโลก (WHO) ได้นำวิธีการดังกล่าว ไปแนะนำให้ผู้ผลิตเสริมแก่พิษงูใช้ทั่วโลก<sup>16</sup>

จากการฉีดกระตุ้นม้าด้วยวิธี low dose, low volume multi-site โดยใช้ FA ดังกล่าวที่ฉีดลึก 2-3 มิลลิเมตรจากผิวหนังม้า เป็นตำแหน่งที่อยู่ของ dendritic cell ซึ่งเป็น antigen presenting cell ที่

มีประสิทธิภาพสูงสุด และการใช้ FA ซึ่งตัว mycobacterium ทำหน้าที่เป็น danger signal สามารถช่วยกระตุ้นให้ม้าสร้างแอนติบอดีเพิ่มขึ้น การแบ่งสารกระตุ้น 2 มล. ออกเป็น 20 ส่วน ๆ ละ 0.1 มล. ที่ใช้ฉีดแต่ละจุด ทำให้เพิ่มพื้นที่ผิวของสารกระตุ้นขึ้น 2.4 เท่า ซึ่งเพิ่มปฏิสัมพันธ์ของพิษงูกับเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกัน ทั้งหมดนี้ช่วยเพิ่มการสร้างแอนติบอดีต่อสารพิษ โดยผลที่ได้เพิ่มประสิทธิภาพของเสริมม้าให้สูงขึ้นถึง 4 เท่าตัว ทำให้การสร้างแอนติบอดีของม้ารวดเร็วขึ้นจากปกติซึ่งใช้เวลาประมาณ 8 เดือน ให้เหลือเพียง 6-8 สัปดาห์ และใช้พิษงูในการฉีดกระตุ้นเพียงร้อยละ 10 ของปริมาณที่สถานเสาวภาเคยใช้ ทำให้สามารถประหยัดเงินค่าพิษงูได้จำนวนมากต่อปี นอกจากนี้ม้าที่ใช้ยังตอบสนองต่อการฉีดกระตุ้นทุกตัว (100%) จากที่เคยมีประมาณร้อยละ 16 สำหรับกลุ่มที่ฉีดกระตุ้นด้วยพิษประสาท<sup>17</sup> การใช้ปริมาณพิษงูต่ำ ๆ (1-2 มิลลิกรัม/ม้า 400 กก.) ทำให้ม้าผลิตแอนติบอดีที่มี affinity สูงสามารถจับกับสารพิษได้เหนียวแน่น<sup>18,19</sup> ผลการวิจัยนี้ทำให้สถานเสาวภาสามารถผลิตเสริมแก่พิษงูประเภท monovalent ต่อพิษงูของไทยได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเพียงพอกับความต้องการใช้ในประเทศไทย อีกทั้งยังสามารถส่งไปขายในต่างประเทศได้ และเป็นปัจจัยหนึ่งที่ช่วยให้อัตราผู้ป่วยตาย ลดน้อยลงจากหลายสิบคนต่อปีจนบางปีไม่มีผู้เสียชีวิตจากพิษงู<sup>4</sup> ซึ่งแง่คิดและวิธีการนี้พบปรากฏในเอกสารขององค์การอนามัยโลก<sup>16</sup>

### การผลิตเสริมแก่พิษงูประเภทแก่พิษงูรวม (polyvalent AV) โดยใช้หลักการของกลุ่มอาการ (syndromic approach)

ปัญหาที่พบในการใช้เสริมแก่พิษงูเดี่ยว (monovalent AV) ก็คือแพทย์ต้องทราบชนิดของงูที่กัดผู้ป่วยเพื่อให้สามารถเลือกเสริมแก่พิษงูได้ถูกต้อง เพราะเสริมแก่พิษงูประเภทนี้มีความจำเพาะต่อพิษงูที่ใช้



ภาพที่ 1 อุปกรณ์สำหรับฉีดพิษงูผสมกับ Freund adjuvant ในปริมาณ 0.1 มล. เข้าใต้ผิวหนังม้าที่ความลึก 2 มิลลิเมตร ที่มา: World Health Organization. Guidelines for the production, control and regulation of snake antivenom immunoglobulins<sup>16</sup>



ฉีดกระตุ้นเท่านั้น แต่ในกรณีส่วนใหญ่แล้ว แพทย์มักไม่ทราบชนิดของงูที่กัด<sup>4</sup> เมื่อสามารถใช้วิธีการฉีดกระตุ้นด้วย FA จึงทำให้ผลิตเซรุ่มแก้พิษงูรวม (polyvalent AV) ขึ้นได้ 2 ชนิดโดยใช้หลักการของกลุ่มอาการ (syndromic approach) คือ ชนิดแรกใช้แก้พิษงูพิษประสาท (neurotoxic polyvalent AV) ที่ใช้แก้พิษงู 3 ชนิด คือ งูเห่าไทย, งูจงอาง, งูสามเหลี่ยม<sup>20</sup> และสถานเสาวภาได้เพิ่มพิษงูทับสมิงคลาในภายหลัง ชนิดที่สองเป็นเซรุ่มแก้พิษงูต่อระบบโลหิต (hematotoxic polyvalent AV) ต่อพิษงูแมวเซา, งูเขียวหางไหม้ท้องเหลือง และงูกะปะ<sup>21</sup> การผลิตเซรุ่มแก้พิษงูรวมโดยใช้หลัก syndromic approach นับเป็นการผลิตแนวนี้เป็นครั้งแรก<sup>7</sup> โดยในอดีตผู้ผลิตเซรุ่มแก้พิษงูทั้งหมด หรือเกือบทั้งหมดทั่วโลกมักจะผลิตเซรุ่มรวมเพียงตัวเดียวที่มีฤทธิ์ทั้งต่อพิษประสาทและพิษโลหิตในหลอดเดียวกัน แต่มีผลเสีย คือ

1. การฉีดกระตุ้นม้าด้วยพิษต่อระบบประสาท ผสมกับพิษต่อระบบโลหิตให้ผลไม่ดี เพราะม้าจะสร้างภูมิคุ้มกันต่อพิษโลหิตสูงกว่าระดับภูมิคุ้มกันต่อพิษประสาท เพราะพิษต่อระบบโลหิตส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์ที่เป็นโมเลกุลใหญ่ ทำให้กระตุ้นแอนติบอดีได้สูงกว่าต่อสารพิษประสาทซึ่งเป็นโมเลกุลเล็ก จึงยากต่อการปรับระดับภูมิคุ้มกัน (potency) ของเซรุ่มรวมต่อพิษงูทั้ง 2 ระบบให้เหมาะสม

2. เนื่องจากอาการจากพิษประสาทและพิษโลหิตที่ปรากฏในคนป่วยสามารถแยกแยะออกจากกันอย่างชัดเจน การใช้เซรุ่มแก้พิษงูรวมประเภทแก้พิษทั้ง 2 ระบบในหลอดเดียวจึงเป็นการสิ้นเปลืองภูมิคุ้มกันต่อพิษงูอีกระบบหนึ่งที่มีอยู่ในเซรุ่มแก้พิษงูรวม และอาจทำให้เกิดผลข้างเคียงเพิ่มขึ้นจากปริมาณโปรตีนที่เพิ่มขึ้น อีกทั้งราคาสูงขึ้น ฉะนั้นผู้ผลิตเซรุ่มแก้พิษงูรวมอื่น ๆ จึงเริ่มเปลี่ยนมาใช้แนวทาง syndromic approach ในการผลิตเซรุ่มแก้พิษงูรวม

## การผลิตเซรุ่มแก้พิษงู ครอบจักรวาลต่อพิษงูต่อระบบประสาท

ถึงแม้ว่าสถานเสาวภาและผู้ผลิตเซรุ่มแก้พิษงูทั่วโลกจะผลิตเซรุ่มแก้พิษงูรวม (polyvalent AV) ออกมาใช้ซึ่งมีผลดีในแง่การรักษาผู้ป่วยที่ไม่ต้องทราบชนิดของงูที่กัด แต่การฉีดกระตุ้นม้าด้วยพิษงูต่าง ๆ มากเกิน 4-5 ชนิดมักให้ผลไม่ดี เพราะม้าได้รับการกระตุ้นจากแอนติเจนมากมายหลายร้อยชนิดในพิษงูแต่ละชนิด ด้วยเหตุนี้ นักวิจัยจึงได้นำแนวคิดและทดลองวิธีการใหม่ที่ย่างในการผลิตเซรุ่มแก้พิษงูชนิดครอบจักรวาล (universal AV) โดยใช้วิธีการกระตุ้นม้าด้วยสารพิษรวมจากพิษประสาทมากมายหลายชนิด (diverse toxin repertoire) หลักการเหตุผล สมมติฐานและรายละเอียดของการฉีดกระตุ้นม้านี้ได้มีปรากฏในวารสาร<sup>22</sup> ซึ่งสรุปว่า จากข้อมูลพื้นฐานต่าง ๆ แสดงว่า ระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์เช่นม้า มีความสามารถสร้างแอนติบอดีมากมายหลายพันล้านชนิดในแต่ละวันที่เพียงพอที่จะจับตัวและทำลายพิษของสารพิษ PSNT ทุกโมเลกุลที่ผลิตจากพิษประสาททุกชนิดที่มีในโลก ฉะนั้น จึงทำการทดลองฉีดกระตุ้นม้าด้วย สารพิษรวมจากพิษประสาทมากมายหลายชนิด (diverse toxin repertoire) ผลปรากฏว่าม้าสร้างแอนติบอดีชนิดต่าง ๆ ที่สามารถแก้พิษงูต่อระบบประสาทได้อย่างน้อย 36 ชนิด จาก 28 species ใน 10 genus ที่พบในกว่า 20 ประเทศของ 4 ทวีปทั่ว

โลก ได้แก่ เอเชีย แอฟริกา อเมริกาใต้ และออสเตรเลีย รวมทั้งงูพิษทะเล 2 ชนิดด้วย เซรุ่มที่ได้นี้ให้ปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม (cross reactivity) สูงสุดเท่าที่เคยมีรายงานมา<sup>23, 24</sup> และเป็นไปได้สูงที่จะแก้พิษประสาทของงู elapid ทั่วโลกและเป็นเซรุ่มแก้พิษงูชนิดครอบจักรวาล (universal AV) ต่อพิษประสาท

เซรุ่มแก้พิษสำหรับพิษประสาทชนิดครอบจักรวาลนี้จะมีประโยชน์มากต่อประชากรในโลกที่มีข้อจำกัดในการผลิตเซรุ่มแก้พิษงู ฉะนั้นผู้ผลิตที่ดำเนินการอยู่แล้วก็สามารถผลิตได้โดยง่าย เพราะวิธีการที่ใช้เป็นวิธีที่ง่ายและไม่ต้องอาศัยเครื่องมือหรือวัสดุ รวมทั้งความรู้ความชำนาญมากมายในการผลิต

เซรุ่มแก้พิษงูครอบจักรวาลนี้จะเหมือนกับเซรุ่มแก้พิษสุนัขบ้า และแก้พิษบาดทะยักซึ่งผลิตจากม้าและใช้กันทั่วโลกโดยไม่จำเป็นต้องรู้ชนิดของงูที่กัด เพียงคนป่วยที่ถูกงูกัดแสดงอาการต่อระบบประสาท ฉะนั้น จึงสามารถผลิตออกครั้งละมาก ๆ เพื่อใช้ได้หลายประเทศ ทำให้ลดต้นทุนและราคาเซรุ่มแก้พิษงูมีราคาถูก ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อประชากรในประเทศกำลังพัฒนาซึ่งเป็นส่วนใหญ่ของผู้ถูกงูกัด และลดอัตราการตายและทุพพลภาพจากการถูกงูพิษต่อระบบประสาทกัดได้

## ประโยชน์ของการนำไปใช้

วิธีการผลิตเซรุ่มแก้พิษงูชนิดครอบจักรวาลต่อพิษประสาทเป็นวิธีใหม่ที่จะทำให้ได้เซรุ่มที่ใช้ได้ทั่วโลกคล้ายเซรุ่มแก้พิษสุนัขบ้าที่ไม่จำเป็นต้องรู้ชนิดของงูที่กัด จึงสามารถผลิตในปริมาณมาก ทำให้ราคาถูกสำหรับประเทศกำลังพัฒนา และช่วยชีวิตคนถูกงูกัดได้มาก

## สรุป

บทความนี้ได้รวบรวมความเป็นมาของการผลิตเซรุ่มแก้พิษงู โดยเริ่มจากปัญหาด้านประสิทธิภาพในการรักษาที่ต่ำและวิธีการแก้ไข ซึ่งยังผลให้สามารถผลิตเซรุ่มแก้พิษงูต่าง ๆ ที่มีประสิทธิภาพสูง มีปริมาณและคุณภาพดี มีเพียงพอสำหรับการใช้ในประเทศ รวมถึงการผลิตเซรุ่มแก้พิษงูชนิดครอบจักรวาลต่อพิษประสาท ที่จะเป็นประโยชน์ต่อคนถูกงูพิษประสาทกัดในหลายประเทศทั่วโลก

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยของผู้วิจัยได้รับทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยมหิดล คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ สวทช. USAID และ สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ศ.ดร. พรชัย มาตังคสมบัติ ศ.ดร. สติธย์ สิริสิงห ศ. นพ. ศักดิ์ชัย ลิ้มทองกุลและ ผศ. นพ. สุชัย สุเทพารักษ์ สำหรับคำแนะนำที่มีประโยชน์ยิ่ง และขอขอบพระคุณ ศ. นพ. ดร. วิศิษฐ์ ลิขิตบริษา ผู้อำนวยการสถานเสาวภา และ พลตรี นันทพล จัรัสโรมรัน เจ้ากรมสัตว์ทหารบก ที่ได้อนุมัติและให้คำแนะนำในการร่วมวิจัยในม้า ผู้วิจัยขอขอบคุณนักศึกษาและนักวิจัยที่ร่วมทำงานวิจัยตลอดหลายสิบปีที่ผ่านมาจนงานได้สำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดี

## เอกสารอ้างอิง

1. Harrison RA, Casewell NR, Ainsworth SA, Lalloo DG. The time is now:

- a call for action to translate recent momentum on tackling tropical snakebite into sustained benefit for victims. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2019; 113(12): 835-838.
2. WHO. World Health Organization. Snakebite Envenoming: A Strategy for Prevention and Control: Executive Summary. 2019; Geneva, World Health Organization.
  3. Williams DJ, Faiz MA, Abela-Ridder B, Ainsworth S, Bulfone TC, Nickerson AD, et al. Strategy for a globally coordinated response to a priority neglected tropical disease: Snakebite envenoming. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019;13(2):e0007059.
  4. สราวุธ เอกอำพัน “งูพิษกัด (Snake bite envenoming)” บรรณาธิการ น.สพ.ประวิทย์ ชุมเกษียร หนังสือ สรุป รายงาน การเฝ้าระวังโรค ประจำปี 2561 สำนักกระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข พ. ศ. 2561 หน้า 214-216
  5. Suda Sibunruang, Suchai Suteparuk and Visith Sitprijja, Editors. Manual of Practical management of snakebites and animal toxin injury. Bangkok: Queen Saovabha Memorial Institute, The Thai Red Cross Society, 2013, ISBN: 978-616-7287-89-8, 88p.
  6. Harrison RA, Hargreaves A, Wagstaff SC, Faragher B, Laloo DG. Snake envenoming: a disease of poverty. *PLoS Negl Trop Dis.* 2009; 3(12):e569.
  7. Williams DJ, Gutiérrez JM, Calvete JJ, Wüster W, Ratanabanangkoon K, Paiva O, et al. Ending the drought: new strategies for improving the flow of affordable, effective antivenoms in Asia and Africa. *J Proteomics.* 2011; 74(9): 1735-1767.
  8. Changeux JP. The TiPS lecture. The nicotinic acetylcholine receptor: an allosteric protein prototype of ligand-gated ion channels. *Trends Pharmacol Sci.* 1990; 11(12):485-492.
  9. Denson KW. Coagulant and anticoagulant action of snake venoms. *Toxicon.* 1969; 7(1):5-11.
  10. Kini RM, Doley R. Structure, function and evolution of three-finger toxins: mini proteins with multiple targets. *Toxicon.* 2010;56(6):855-867.
  11. Atassi MZ, McDaniel CS, Manshour T. Mapping by synthetic peptides of the binding sites for acetylcholine receptor on alpha-bungarotoxin. *J Protein Chem.* 1988; 7(5): 655-666.
  12. Hati RN, Mandal M, Hati AK. Active immunization of rabbit with gamma irradiated Russell's viper venom toxoid. *Toxicon.* 1990; 28 (8): 895-902.
  13. Sunthornandh P, Matangkasombut P, Ratanabanangkoon K. Preparation, characterization and immunogenicity of various polymers and conjugates of elapid postsynaptic neurotoxins. *Mol Immunol.* 1992;29(4):501-510.
  14. Sunthornandh P, Ratanabanangkoon K. A comparative study of three vehicles on antibody responses against elapid snake neurotoxin immunogens. *Toxicon.* 1994; 32 (5): 561-571.
  15. Pratanaphon R, Akesowan S, Khaw O, Sriprapat S, Ratanabanangkoon K. Production of highly potent horse antivenom against the Thai cobra (*Naja kaouthia*). *Vaccine.* 1997; 15 (14): 1523-1528.
  16. WHO. World Health Organization. Guidelines for the production, control and regulation of snake antivenom immunoglobulins. 2nd edition 2017; Geneva, World Health Organization.
  17. Sriprapat S, Aeksowan S, Sapsutthipas S, Chotwivatthanakun C, Sutti-jitpaisal P, Pratanaphon R, et al. The impact of a low dose, low volume, multi-site immunization on the production of therapeutic antivenoms in Thailand. *Toxicon.* 2003; 41 (1): 57-64.
  18. El-Kady EM, Ibrahim NM, Wahby AF. Assessment of the anti-Naja haje antibodies elicited in a low dose multi-site immunization protocol. *Toxicon.* 2009; 54 (4): 450-459.
  19. Milovanovic V, Dimitrijevic L, Petrusic V, Kadric J, Minic R, Zivkovic I. Application of the 3R concept in the production of European antiviperinum on horses – multisite, low volumes immunization protocol and elisa. *Acta Vet.* 2018; 68(4): 401-419.
  20. Chotwivatthanakun C, Pratanaphon R, Akesowan S, Sriprapat S, Ratanabanangkoon K. Production of potent polyvalent antivenom against three elapid venoms using a low dose, low volume, multi-site immunization protocol. *Toxicon.* 2001; 39(10): 1487-1494.
  21. Sapsutthipas S, Leong PK, Akesowan S, Pratanaphon R, Tan NH, Ratanabanangkoon K. Effective equine immunization protocol for production of potent poly-specific antisera against *Calloselasma rhodostoma*, *Cryptelytrops albolabris* and *Daboia siamensis*. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015; 9(3):e0003609.
  22. Ratanabanangkoon K, A quest for a universal plasma-derived antivenom against all elapid neurotoxic snake venoms. *Front Immunol.* 2021; 12(1363)
  23. Ratanabanangkoon K, Tan KY, Eursakun S, Tan CH, Simsirivong P, Pamornsakda T, et al. A Simple and Novel Strategy for the Production of a Pan-specific Antiserum against Elapid Snakes of Asia. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016; 10(4):e0004565.
  24. Ratanabanangkoon K, Tan KY, Pruksaphon K, Klinpayom C, Gutiérrez JM, Quraishi NH, et al. A pan-specific antiserum produced by a novel immunization strategy shows a high spectrum of neutralization against neurotoxic snake venoms. *Sci Rep.* 2020; 10(1):11261.