



**PRODUCTION OF POLYVALENT THERAPEUTIC ANTIVENOM
AGAINST *VIPERA RUSSELLI SIAMENSIS*,
CALLOSELASMA RHODOSTOMA, AND *TRIMERESURUS ALBOLABRIS***

SOMPONG SAPSUTTHIPAS

With compliments
of
ศาสตราจารย์ ดร. สมพงษ์ สดุดิพ

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

1999

ISBN 974-662-442-3

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH
S697p
1999

042896 c.d



3936497 SCBT/M : MAJOR : BIOTECHNOLOGY ; M.Sc. (BIOTECHNOLOGY)

KEY WORDS : ANTIVENOM / POLYVALENT / SNAKE VENOM

SOMPONG SAPSUTTHIPAS : PRODUCTION OF POLYVALENT THERAPEUTIC ANTIVENOM AGAINST *VIPERA RUSSELLI SIAMENSIS*, *CALLOSELASMA RHODOSTOMA*, AND *TRIMERESURUS ALBOLABRIS*. THESIS ADVISORS : KAVI RATANABANANGKOON Ph.D., CHUENCHIT BOONCHIRD Ph.D., PRASIT PALITTAPONGRANPIM M.D., 135 p. ISBN 974-622-442-3

In Thailand several species of snakes are capable of producing the same clinical features of envenoming. Thus, in the absence of a culprit snake, it is very difficult to identify the snake species based on a snake bite victim's signs and symptoms. The problem is very serious, since only monovalent specific antivenoms are available. If polyvalent antivenom could be produced, species diagnosis would become unnecessary and patients could be successfully treated when bitten by unknown snakes.

Two groups of horses were immunized. One group was immunized with a mixture of *V.russelli*, *C.rhodostoma* and *T.albolabris* venoms while the other group was immunized with high molecular weight fractions (> 30 kDa) of the venoms. The immunogens were emulsified in complete Freund's adjuvant and injected by the low volume, multisite immunization procedure established in this laboratory. The second and third immunizations were made with the respective immunogens in Freund's incomplete adjuvant and in aluminium phosphate. Blood was drawn at 2 week intervals to study the kinetics of antibody response using ELISA's. Sera obtained at peak ELISA antibody titers were pooled and further estimations of the median effective dose (ED₅₀) were made. ED₅₀'s of antivenom from Group 1 horses against *T.albolabris*, *C.rhodostoma* and *V.russelli* were 0.07, 0.28 and 1.19 ml serum/mg venom, respectively. The corresponding ED₅₀'s from Group 2 horses were 0.07, 0.32 and 2.60 ml serum/mg venom, respectively. The potencies of sera from both groups of horses were much higher than the potency limits set by the Queen Saovabha Memorial Institute for monovalent antivenoms. This potent, truly polyvalent antivenom should be useful in saving lives of victims where species diagnosis of the culprit vipers can not be made.

3936497 SCBT/M : สาขาวิชา : เทคโนโลยีชีวภาพ ;วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ)

สมปอง ทรัพย์สุทธิภาสน์ : การผลิตเซรุ่มแก้พิษงูชนิด polyvalent ต่อพิษงูแมวเซา, พิษงูกะปะ และพิษงูเขียวหางไหม้ เพื่อการบำบัดรักษา (PRODUCTION OF POLYVALENT THERAPEUTIC ANTIVENOM AGAINST *VIPERA RUSSELLI SIAMENSIS*, *CALLOSELASMA RHODOSTOMA*, AND *TRIMERESURUS ALBOLABRIS*).

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : กวี รัตนบรรณางกูร Ph.D., ชื่นจิตต์ บุญเจิด Ph.D., ประสิทธิ์ ผลิตผลการพิมพ์ M.D. 135 หน้า ISBN 974-662-442-3

งูพิษหลายชนิดในประเทศไทยสามารถก่อให้เกิดอาการทางคลินิกคล้ายกัน ด้วยเหตุนี้ ในกรณีที่ผู้ถูกกัดไม่ได้นำงูพิษมา แพทย์จะวินิจฉัยชนิดของงูพิษจากอาการของผู้ป่วยได้ยาก ปัญหานี้ นับว่าสำคัญมาก เนื่องจากในประเทศไทยมีเฉพาะเซรุ่มแก้พิษงูที่จำเพาะและแก้พิษงูได้ เพียงชนิดเดียว (monovalent specific antivenom) หากสามารถผลิตเซรุ่มที่มีประสิทธิภาพแก้พิษงูได้หลายชนิด (polyvalent antivenom) การวินิจฉัยชนิดของงูพิษก็ไม่มี ความจำเป็น และการรักษา ผู้ป่วยก็จะถูกต้องและได้ผล

การศึกษานี้ใช้ม้า 2 กลุ่ม กลุ่ม 1 ฉีดด้วยพิษงูกะปะ, พิษงูแมวเซา และพิษงูเขียวหางไหม้ รวมกัน กลุ่มที่ 2 ฉีดด้วยส่วนประกอบของพิษงูทั้งสามที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 30 kDa การฉีดกระทำโดยผสมกับ Complete Freund's Adjuvant โดยใช้วิธีฉีดพิษงูน้อย ปริมาตรต่ำและหลายๆ จุด (low dose, low volume, multi-site immunization) ซึ่งพัฒนาขึ้นในห้องทดลองนี้ การฉีดครั้งต่อไปกระทำโดยใช้พิษงูผสมกับ Incomplete Freund's Adjuvant และอูมินัมฟอสเฟต ทำการเจาะเลือดทุก 2 สัปดาห์ และหา titer ของแอนติบอดีด้วยวิธี ELISA และนำซีรัมม้าในสัปดาห์ ที่ให้ titer เฉลี่ยสูงสุดมาทำการทดสอบประสิทธิภาพ โดยหาค่า Median Effective Dose (ED₅₀) ต่อพิษงูแต่ละชนิด พบว่าม้ากลุ่มที่ 1 ใช้ปริมาณซีรัม 0.07 มล., 0.28 มล. และ 1.19 มล. ในการแก้ พิษงูเขียวหางไหม้, งูกะปะ และงูแมวเซา ในปริมาณ 1 มก. ได้ตามลำดับ ส่วนม้ากลุ่มที่ 2 ใช้ ปริมาณซีรัม 0.07 มล., 0.32 มล. และ 2.60 มล. ต่อพิษงู 1 มก. ตามลำดับ ประสิทธิภาพของ ซีรัม ที่ได้จากการทดลองนี้ดีกว่าเกณฑ์ที่สถานเสาวภา สภากาชาดไทย ได้กำหนดไว้ เซรุ่มแก้พิษงู หลายชนิดและมีประสิทธิภาพสูงที่ผลิตได้นี้จะเป็นประโยชน์ในการบำบัดรักษาผู้ที่ได้รับพิษงูต่อ ระบบโลหิตและไม่ทราบชนิดของงูพิษ