

7-1-1990

## การตรวจวิเคราะห์ทางภูมิคุ้มกันเพื่อวินิจฉัยผู้ถูกงูกัด

อรวดี หาญวิวัฒน์วงศ์

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/clmjournal>



Part of the [Medicine and Health Sciences Commons](#)

---

### Recommended Citation

หาญวิวัฒน์วงศ์, อรวดี (1990) "การตรวจวิเคราะห์ทางภูมิคุ้มกันเพื่อวินิจฉัยผู้ถูกงูกัด," *Chulalongkorn Medical Journal*: Vol. 34: Iss. 7, Article 8.

Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/clmjournal/vol34/iss7/8>

This Review Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in Chulalongkorn Medical Journal by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact [ChulaDC@car.chula.ac.th](mailto:ChulaDC@car.chula.ac.th).

## การตรวจวิเคราะห์ทางภูมิคุ้มกันเพื่อวินิจฉัยผู้ถูกงูกัด

อรรวดี หาญวิวัฒน์วงศ์\*

**Hanvivatvong O. Immunodiagnosis of snake bite. Chula Med J 1990 Jul; 34 (7) : 549-554**

*In snake bite, the management of a patient could be facilitated by identification of the offending snake. Many immunoassay techniques have been developed for identifying venom in body fluids and tissues which may result in improving treatment of serious snake bite poisoning. Assay for detecting specific venom antibody are helpful in studying the epidemiology and determining the extent of the problem of snake bite. Such techniques are also being applied in studying the kinetics of snake bite poisoning in man and animals, in accessing the efficacy of various first-aid methods and in other important aspects of snake venom research.*

*The assay techniques are immunodiffusion, immunoelectrophoresis, agglutination, radioimmunoassay and enzyme-linked immunosorbent assay. The development and use of each assay are discussed.*

Reprint request : Hanvivatvong O, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. February 5, 1990.

ในการรักษาผู้ที่ถูกงูกัด การรู้สาเหตุหรือชนิดของงูที่กัดจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการรักษา ทั้งนี้ในการรักษาผู้ที่ถูกงูกัดนั้น วิธีที่ได้ผลมากที่สุดและเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปได้แก่การให้เซรุ่มแก่พิษงูที่จำเพาะต่อกัน ในการวินิจฉัยผู้ที่ถูกงูกัดนั้นจะทำได้ง่ายหากผู้ถูกกัดสามารถจับงูหรือนำซากงูตัวที่กัดมาให้แพทย์ดูลักษณะเพื่อแยกชนิด หากไม่สามารถบอกชนิดของงูได้ แพทย์คงต้องวินิจฉัยจากอาการหรืออาการแสดงของผู้ป่วย ซึ่งบางครั้งอาจวินิจฉัยยาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในบางตระกูลจะมีพิษซึ่งก่อให้เกิดอาการคล้ายคลึงกันเช่นงูในตระกูล Elapidae ต่างก็มีส่วนประกอบของพิษที่สำคัญคือ neurotoxin ซึ่งเป็นพิษที่มีผลต่อระบบประสาท โดยสามารถไป block neuromuscular transmission ก่อให้เกิดอาการอัมพาตของกล้ามเนื้อต่าง ๆ แขนขาอ่อนแรง และมี respiratory failure<sup>(2)</sup> คล้ายคลึงกัน งูในตระกูลนี้ที่พบบ่อยในประเทศไทยได้แก่ งูเห่า งูจงอาง งูสามเหลี่ยม เป็นต้น นอกจากงูที่อยู่ในตระกูลเดียวกันแล้ว งูที่อยู่ในคนละตระกูล เช่น งูเห่าและงูในตระกูล Viperidae เช่น งูกะปะ ก็เคยมีรายงานถึงอาการและอาการแสดงที่คล้ายคลึงกัน ทำให้เป็นปัญหาในการวินิจฉัยในบางครั้ง<sup>(3,4)</sup> นอกจากนี้การวินิจฉัยผู้ถูกกัดอาจต้องดูถิ่นที่อยู่ที่ถูกกัดด้วยว่ามีงูอะไรชุกชุมและมีอัตราการกัดสูง แต่ก็อาจเกิดการผิดพลาดได้เช่นเดียวกัน เพราะในแต่ละถิ่นมักจะมีงูอาศัยอยู่หลายชนิด

ได้มีผู้พยายามนำเอาวิธีการที่ใช้ปฏิบัติระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีมาใช้ในการตรวจหาพิษงู และแอนติบอดีต่อพิษงู โดยมีวัตถุประสงค์ที่แตกต่างกันออกไปที่สำคัญได้แก่

- เพื่อใช้ในการแยกชนิดของงูที่กัด (Identification) เพื่อช่วยในการวินิจฉัย ซึ่งมีผลต่อการรักษาที่ถูกต้องและได้ผลดี โดยเฉพาะในเมืองไทยซึ่งมีแต่ monospecific antiserum และเซรุ่มแต่ละชนิดเหล่านี้ไม่มี (หรือมีน้อยมาก) cross-neutralization ต่อกัน<sup>(5)</sup> นอกจากนี้การอาศัยการวินิจฉัยจากถิ่นที่อยู่ที่มีงูบางชนิดชุกชุม เช่น แถวบางพลี ซึ่งพบอัตราการถูกงูเห่ากัดค่อนข้างสูงก็อาจผิดพลาดได้ ดังมีรายงานถึงการพบพิษงูสามเหลี่ยม (Bungarus fasciatus) ในผู้ที่เสียชีวิตจากงูกัดเพราะการให้เซรุ่มที่ไม่จำเพาะต่อกัน คือให้เซรุ่มแก่พิษงูเห่า แทนที่จะเป็นเซรุ่มแก่พิษงูสามเหลี่ยม<sup>(6)</sup> เป็นต้น

- ใช้ในการศึกษาระบาดวิทยาของงู (Epidemiology) การหาแอนติบอดีต่อพิษงูชนิดต่าง ๆ ในผู้ที่เคยถูก

กัดแล้ว จะสามารถช่วยบอกถึงการระบาดของงูแต่ละชนิดในถิ่นต่าง ๆ ได้ ระดับของแอนติบอดีสามารถตรวจพบได้ตั้งแต่ 1 เดือนหลังถูกกัด จนถึง 7 ปี ดังรายงานของ Viravan และคณะในปี 1986<sup>(6)</sup> ซึ่งศึกษาระดับของแอนติบอดีต่อพิษงูเห่าและงูสามเหลี่ยมในคนไทยที่อำเภอบางพลีสมุทรปราการ บางรายงานสามารถตรวจพบแอนติบอดีได้จนถึง 40 ปี<sup>(7)</sup>

- ใช้ในการศึกษาจลนศาสตร์ (kinetics) ของพิษงูเมื่อเข้าสู่ร่างกาย การหาระดับของพิษงูในระยะต่าง ๆ หลังเข้าสู่ร่างกายจะทำให้ทราบถึงความเคลื่อนไหวของพิษงูแต่ละชนิดว่าสามารถเข้าสู่ร่างกายได้เร็วช้าและอยู่นานเพียงใด ซึ่งมีประโยชน์ในการประมาณเวลาและจำนวนที่เหมาะสมของเซรุ่มที่ใช้ในการรักษา

- ใช้ในการศึกษาวิธีการปฐมพยาบาลต่าง ๆ ในผู้ที่ถูกงูกัด Sutherland และคณะ<sup>(8,9)</sup> ได้พยายามศึกษาวิธีการปฐมพยาบาลโดยใช้ firm crepe elastic bandage ร่วมกับการเข้าเฝือกเพื่อไม่ให้เกิดการเคลื่อนไหว โดยการดูระดับพิษงูในเลือด พบว่าวิธีการนี้สามารถทำให้พิษงูเข้าสู่กระแสเลือดช้าลงและระดับต่ำกว่าในสัตว์ทดลองที่ไม่ได้ปฐมพยาบาลด้วย

- ใช้ในการพิสูจน์สาเหตุการตายในผู้ที่สงสัยฆ่าตัวตายหรือถูกฆาตกรรมด้วยพิษงู ผู้เขียนได้เคยใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ทางอิมมูน ในการพิสูจน์ผู้ที่ฆ่าตัวตายโดยการฉีดพิษงูเห่าเข้าสู่ร่างกาย โดยการตรวจพบพิษงูเห่าจำนวนมากจากสิ่งส่งตรวจที่เป็นเลือดซึ่งเจาะจากผู้ตาย และในสารที่เหลืองจากการฉีด

## การตรวจวิเคราะห์ทางอิมมูนเพื่อวินิจฉัยผู้ถูกงูกัด มีวิธีการต่าง ๆ ได้แก่

### 1. Immunodiffusion

ในปี 1957 Muelling และคณะ<sup>(10)</sup> ได้ใช้วิธีการนี้ในการตรวจหาพิษงูจงอาง (*Ophiophagus hannah*) ในชิ้นเนื้อ (tissue homogenate) ที่ตัดจากบริเวณที่ถูกกัด ในปี 1974 Greenwood และคณะ<sup>(11)</sup> สามารถแยกชนิดของงู 4 ชนิดในไนจีเรียจากน้ำหนอง (wound aspirate) blister fluid, น้ำเหลือง และ ปัสสาวะของผู้ถูกกัดเพียง 40 คนใน 101 คน คิดเป็นร้อยละ 40 วิธีการนี้ทำได้ง่ายแต่ความไวต่ำและต้องใช้เวลานาน (24-28 ชั่วโมง) จึงไม่ค่อยนิยมใช้ในการตรวจ

### 2. Immunoelectrophoresis

เป็นวิธีที่มีความไวสูงกว่าและให้ผลเร็วกว่า

immunodiffusion คือสามารถได้ผลภายใน 30 นาที แต่ก็ยังมีปัญหาจากการที่มีปฏิกิริยาข้ามกลุ่มระหว่างพิษงูและแอนติบอดีที่มี closely related species นอกจากนี้ยังต้องใช้ปริมาณของสารตัวอย่างมากกว่าวิธีการของ immunodiffusion<sup>(11)</sup>

### 3. Agglutination

นับตั้งแต่ Boche และ Russell<sup>(12)</sup> ได้ใช้วิธี hemagglutination ในการตรวจหาพิษงูและแอนติบอดี (C. viridis helleri) ในปี 1968 วิธีการนี้ก็ไม่ได้รับการสนใจเท่าที่ควรในการศึกษาเกี่ยวกับพิษงู ทั้ง ๆ ที่เป็นวิธีที่มีความไวสูง ปัญหาที่สำคัญของวิธีการนี้อยู่ที่น้ำยาที่ใช้ โดยเฉพาะ coupling agent ซึ่งไม่คงทนและต้องเก็บในที่เย็นตลอดเวลา การอ่านผลไม่สามารถบอกปริมาณที่แน่นอนได้

อย่างไรก็ตามจากการที่วิธีการนี้เป็นวิธีการที่ทำได้ง่ายให้ผลได้รวดเร็ว Khupulsup และคณะ<sup>(13)</sup> ได้ใช้วิธี passive hemagglutination (PHA) ในการตรวจหาแอนติบอดีของงูเห่าไทย (anti-Naia naia siamensis toxin 3) โดยเคลือบเม็ดเลือดแดงด้วยพิษงูเห่าโดยอาศัย glutaraldehyde ไม่พบมีปัญหาของเม็ดเลือดแดงแตก Ratanabanangkoon และคณะ<sup>(14)</sup> ได้รายงานเบื้องต้นถึงผลสำเร็จในการใช้ reverse passive hemagglutination และ reverse latex agglutination ในการตรวจหาพิษงูชนิดต่าง ๆ ในไทย โดยมีความไวสูงพอสมควร คือสามารถตรวจในระดับ 5-80 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ 160-1200 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับ reverse PHA และ latex agglutination ตามลำดับ โดยคาดว่าจะสามารถนำวิธีการทั้งสองนี้มาใช้เป็น rapid diagnosis ในผู้ที่ถูกงูกัดในไทยได้

### 4. Radioimmunoassay (RIA)

แม้ในปัจจุบันนี้จะมีวิธีการตรวจหา Ag และ Ab มากมาย แต่วิธีการ RIA ยังเป็นวิธีหนึ่งที่มีความไวสูงสุดสามารถตรวจหาสารในระดับต่ำกว่านาโนกรัม แต่จะมีข้อเสียจากการที่ต้องใช้สารกัมมันตภาพรังสี ซึ่งเป็นอันตรายและช่วงครึ่งชีวิตสั้น และความไม่สะดวกในการกำจัดสารกัมมันตภาพรังสีที่ใช้แล้วเหล่านี้ นอกจากนี้ยังต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพงมาก ประกอบกับบุคคลที่จะทำงานนี้จะต้องได้รับการอบรมอย่างดี ทำให้วิธีการนี้ไม่แพร่หลายเท่าที่ควรในการศึกษาพิษงู อย่างไรก็ตามกลุ่มบุคคลที่ศึกษาเกี่ยวกับพิษงูโดยเฉพาะอย่างยิ่งในออสเตรเลีย ใช้วิธีการของ solid phase competitive RIA<sup>(15,16)</sup> และ sandwich RIA<sup>(17,18)</sup> ในการตรวจหาพิษงูชนิดต่าง ๆ เพื่อการจำแนกชนิดของงู

(identify) ในผู้ที่ถูกกัดเพื่อผลในการรักษาหรือพิสูจน์การตาย และในการศึกษาผลของการปฐมพยาบาลต่าง ๆ เป็นต้น แต่จากข้อจำกัดต่าง ๆ ดังกล่าวแล้วข้างต้นประกอบกับวิธีการใช้เวลาค่อนข้างนานถึง 24 ชั่วโมง ทำให้ผู้วิจัยกลุ่มนี้หันไปใช้วิธีการอื่นที่มีความไวใกล้เคียงกัน และสามารถทำได้ง่ายและเร็วกว่า เช่น ELISA test

### 5. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

ตั้งแต่มีการพัฒนาวิธีการ ELISA ขึ้นมา<sup>(19)</sup> ก็ได้มีการนำวิธีนี้มาใช้ในการศึกษาแขนงต่าง ๆ มากมาย ในปี 1977 Theakston และคณะ<sup>(20)</sup> ได้นำวิธีการนี้มาศึกษาเกี่ยวกับพิษงูและแอนติบอดีของงูชนิดต่าง ๆ หลังจากนั้นได้มีการพัฒนามาใช้ในการศึกษาพิษงูอย่างกว้างขวาง รวมทั้งในประเทศไทย ทั้งนี้เป็นเพราะเป็นวิธีการที่สามารถทำได้ง่าย มีความไวสูงใกล้เคียงกับ RIA คือสามารถหาพิษงูได้ในระดับนาโนกรัม การตรวจหาพิษงูใช้หลักการของ double-antibody sandwich technique ในขณะที่สามารถหาแอนติบอดีต่อพิษงูโดย indirect technique การอ่านผลสามารถอ่านโดยใช้ตาเปล่าหรือเครื่อง spectrophotometer สำหรับระยะเวลาที่ใช้ในการทำการทดลองนั้นแตกต่างกันออกไป เมื่อแรกเริ่มที่มีการใช้วิธี ELISA ในการตรวจหาพิษงู การทดสอบใช้เวลาอย่างน้อย 3 ชั่วโมง และสามารถหาพิษงูได้ในระดับ 1-5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร<sup>(20)</sup> ต่อมาก็มีผู้พยายามดัดแปลงวิธีโดยใช้เวลาน้อยลงเช่นใช้เวลาเพียง 30 นาที สามารถตรวจพบพิษงูในระดับ 6 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร<sup>(21)</sup> หรือใช้เวลา 20 นาที และสามารถตรวจพิษงูได้ต่ำกว่า 1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร<sup>(22)</sup> นอกจากนี้ยังมีผู้พยายามทำออกมาเป็นน้ำยาสำเร็จรูปเพื่อให้การตรวจสะดวกและรวดเร็วขึ้น โดย Dhaliwal และคณะ<sup>(4)</sup> ซึ่งใช้ในการตรวจหาพิษงูเห่า (Naia naia) และงูกะปะ (Agkistrodon rhodostoma) ในน้ำเหลืองผู้ป่วยได้ภายใน 35-45 นาที Chandler และ Hurrell<sup>(23)</sup> ได้ทำเป็น reagent kit เพื่อตรวจหาพิษงูชนิดต่าง ๆ 5 ชนิดในออสเตรเลีย โดยสามารถอ่านผลภายใน 30-40 นาที มีความไว 5-10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร การอ่านผลสามารถกระทำโดยการดูด้วยตาเปล่า เนื่องจากการใช้ enzyme urease ซึ่งสามารถให้ผลชัดเจนดูด้วยตาเปล่าได้โดยมีต้องอาศัย spectrophotometer ทำให้สะดวกที่จะนำไปใช้ในสถานที่ที่ แต่น้ำยาสำเร็จรูปนี้ก็มีความแพงมาก

ในประเทศไทยแม้จะยังไม่มีการทำน้ำยาสำเร็จรูปสำหรับพิษงู ออกมาเพื่อใช้ใน rapid diagnosis แต่ก็ได้มี

การพัฒนาใช้วิธีการนี้หลายสถาบัน Viravan และคณะ<sup>(6)</sup> ใช้ ELISA ในการศึกษาพิษงูเห่าในผู้ถูกกัดและแอนติบอดีต่อพิษงูเห่าในผู้ที่เคยมีประวัติถูกกัดมาก่อน โดยสามารถตรวจพบพิษงูเห่าได้ในร้อยละ 38 ของผู้ถูกกัด 58 คน และพบว่าในผู้ที่มีการของ systemic neurotoxic พบพิษงูในอัตราและปริมาณที่สูงกว่าผู้ที่มีเพียงอาการเฉพาะที่ (local swelling) นอกจากนี้ยังสามารถตรวจพบพิษงูสามเหลี่ยม (Bungarus fasciatus) ในผู้ถูกกัดรายหนึ่งซึ่งถึงแก่ความตาย ผู้ป่วยรายนี้ได้รับแต่เซรุ่มแก้พิษงูเห่า ส่วนแอนติบอดีต่อพิษงูเห่านั้นพบได้ตั้งแต่ 1 เดือนถึง 7 ปีหลังถูกกัด Silamut และคณะ<sup>(24)</sup> ได้รายงานการตรวจหาพิษงู 4 ชนิดที่พบบ่อยในไทย *Calloselasma rhodostoma*, *Vipera russelli*, *Trimeresurus albolabris* และ *Naia kaouthia* ทั้งสองรายงานนี้มีความไวอยู่ในระดับ 10-20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และใช้เวลาในการทดลองประมาณ 2 วัน ผู้เขียนและคณะก็ได้ใช้วิธี micro-ELISA นี้ในการศึกษา kinetics ของพิษงูเห่าในคน พร้อมทั้งดูความสัมพันธ์กับอาการในผู้ถูกงูเห่ากัดที่ไม่ได้รับการรักษาด้วยเซรุ่ม สามารถตรวจพบพิษงูเห่าในน้ำเหลืองในร้อยละ 55 ของผู้ถูกกัด 20 คน และมีความสัมพันธ์กับอาการอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติส่วนในปัสสาวะพบพิษงูเห่าถึงร้อยละ 75 และมีระดับต่ำกว่าในเลือด พิษงูเห่าสามารถตรวจพบในเลือดได้นานถึงกว่า 63 ชั่วโมง และมีช่วงครึ่งชีวิต (half life) 6 1/2 - 10 1/2 ชั่วโมง (เฉลี่ย 7 1/2 ชั่วโมง)<sup>(25)</sup> นอกจากนี้ยังได้ศึกษา kinetic ในกระต่ายโดยการฉีดพิษงูเห่าเข้าใต้ผิวหนัง (subcutaneous) และดูผลของเซรุ่มแก้พิษงูเห่าต่อระดับของพิษงูในเลือด และอาการ พบว่าสามารถตรวจพบพิษงูเห่าได้ภายใน 15 นาที หลังฉีด ระดับสูงสุด 15-60 นาที และอยู่ในเลือดนาน 12-24 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับปริมาณที่ฉีด เซรุ่มแก้พิษงูเห่าสามารถทำให้ระดับพิษงูลดลงจนตรวจไม่พบใน 15 นาทีหลังให้เซรุ่ม<sup>(1)</sup> วิธีนี้ใช้เวลาประมาณ 4 ชั่วโมง ความไว 1-5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรของน้ำเหลือง

จะเห็นได้ว่า ELISA เป็นวิธีการที่มีความไวสูง การทำไม่ยุ่งยากมากนัก แต่ก็ยังมีผู้ให้ข้อคิดเห็นถึงความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้น และข้อควรระวังในการใช้วิธีการนี้ เช่นปัญหาจาก nonspecific reactivity ซึ่งเกิดจากในผู้ที่มีระดับของ immunoglobulin ในน้ำเหลืองสูงกว่าปกติ, ในผู้ที่มี heterophile antibodies และ rheumatoid factor<sup>(26)</sup> ปัญหาจากการทำปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม (cross reactivity) ในกลุ่มงูชนิดต่าง ๆ เป็นที่น่ายนิติที่รายงานการตรวจหาพิษ

งูชนิดต่าง ๆ ที่ทำในไทย<sup>(1,24,26)</sup> ไม่พบมีการทำปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกันเลยระหว่างงูชนิดต่าง ๆ ที่พบบ่อยในไทยได้แก่ งูเห่า งูจงอาง งูสามเหลี่ยม งูเขียวหางไหม้ และงูจงอาง ทั้งนี้เนื่องจากการใช้ antiserum ที่มีความบริสุทธิ์มากโดยเฉพาะการใช้ IgG fraction ของ rabbit hyperimmune serum ที่ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ Protein-A sepharose CL-4B (Pharmacia) ทำให้การทดลองมีความจำเพาะสูงด้วย นอกจากนี้ปัจจุบันได้มีการนำเทคนิคของ Hybridoma มาเตรียม monoclonal antibody ต่อพิษงูบางชนิด ซึ่งหากสามารถนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์พิษงูคงจะทำให้มีความไวและความจำเพาะสูงขึ้น

สิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วยที่สงสัยงูกัดนี้ สามารถใช้ body fluid ได้เกือบทุกชนิดตั้งแต่เลือด, น้ำเหลือง, พลาสมา (ซึ่งควรเจาะก่อนให้เซรุ่มแก้พิษงู) น้ำจากหนอง (wound aspirate) blister fluid ปัสสาวะ swab หรือ tissue homogenate จากบริเวณที่ถูกกัด เสื้อผ้าที่อยู่ในตำแหน่งที่ถูกกัด เป็นต้น ในผู้ถูกงูกัดจนถึงแก่ความตายอาจตรวจหาพิษงูในอวัยวะต่าง ๆ เช่นต่อมน้ำเหลือง vitreous humor ใต้ตา เป็นต้น<sup>(27)</sup> จากรายงานของผู้เขียน<sup>(25)</sup> พบพิษงูเห่าในปัสสาวะมากกว่าในเลือดแม้ปริมาณจะต่ำกว่า Hurrell และ Chandler<sup>(28)</sup> กล่าวว่าการใช้ swab จากบริเวณที่ถูกกัดและปัสสาวะจะมีประโยชน์มากกว่าการตรวจหาจากเลือดและน้ำเหลือง เพราะพิษงูส่วนใหญ่จะมีน้ำหนักโมเลกุลขนาดเล็กและถูกกำจัดจากกระแสเลือดค่อนข้างเร็ว ดังนั้นถ้าเจาะเข้าอาจตรวจไม่พบได้ อย่างไรก็ตามการจะใช้สิ่งส่งตรวจอะไรคงจะขึ้นกับสถานการณ์ในแต่ละราย ถ้าผู้ป่วยมาเร็ว การใช้เลือดคงมีประโยชน์ เพราะมีระดับสูง ในผู้ถูกงูที่มี neurotoxin กัดและได้รับยาขับปัสสาวะ ปัสสาวะจะถูกเจือจางมาก พิษงูก็จะมึระดับต่ำไปด้วย หรือในผู้ถูกกัดจนเสียชีวิต การใช้ tissue homogenate จากบริเวณที่ถูกกัดหรืออวัยวะต่าง ๆ ก็คงจะมีประโยชน์กว่าสิ่งส่งตรวจอื่น ๆ

วิธีการเก็บสิ่งส่งตรวจอาจเก็บที่ 4°C แต่ถ้าไม่ได้ทำการตรวจสอบภายใน 24 ชั่วโมง ควรเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง (-20°C) ในกรณีที่ต้องส่งสิ่งตรวจไปยังห้องปฏิบัติการซึ่งอยู่ไกลก็ควรส่งในสภาพแช่แข็ง อย่างไรก็ตามระยะเวลาของการขนส่งไม่เกิน 24 ชั่วโมง ก็อาจเติม sodium azide ลงในสิ่งส่งตรวจนั้น (ความเข้มข้นสุดท้าย 0.02%) สำหรับสิ่งส่งตรวจที่เป็นชิ้นเนื้อจากบริเวณที่ถูกกัด ควรแช่ในน้ำยา 0.1 M carbonate buffer (pH 9.2), ถ้าเป็นชิ้นเนื้อควรใส่ sodium azide ด้วย ในกรณีที่ต้องส่งไปไกล<sup>(27)</sup>

## อ้างอิง

1. อรวดี หาญวิวัฒน์วงศ์ ประพันธ์ ภานุภาค, ฤทัย สกุดแรมรุ่ง. การศึกษาจลนศาสตร์ของพิษงูเห่าและผลของเซรุ่มในกระต่าย. ใน : ซาญ โพนงกุล, บรรณาธิการหนังสือพิษจากพิษ สัตว์ และจุลชีพ กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2531 . 115-26
2. Lee CY. Mode of action of cobra venom and its purified toxins. In: Simpson LL, ed. Neuropoison : Their Pathological Action. Vol. I. New York : Plenum Press, 1971. 21-70
3. Mitrakul C. Clinical features of viper bites in 72 Thai children. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1982 Dec; 13(4) : 628-36
4. Dhaliwal JS, Lim TW, Sukumaran KD. A double antibody sandwich micro-ELISA kit for the rapid diagnosis of snake bite. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1983 Sep; 14(3) : 367-73
5. Ganthavorn S. Toxicities of Thailand snake venoms and neutralization capacity of antivenin. Toxicon 1969 Nov; 7(6) : 239-41
6. Viravan C, Veeravat U, Warrell MJ, Theakston RDG, Warrell DA. ELISA confirmation of acute and past envenoming by the monocellate Thai cobra (*Naja kaouthia*). Am J Trop Med Hyg 1986 Jan; 35(1) : 173-81
7. Theakston RDG, Pugh RNH, Reid HA. Enzyme-linked immunosorbent assay of venom-antibodies in human victims of snake bite. J Trop Med Hyg 1981 Jun; 84(3) : 109-12
8. Sutherland SK, Harris RD, Coulter AR, Lovering KE. First aid for cobra (*Naja naja*) bites. Indian J Med Res 1981 Feb; 73(2) : 266-8
9. Sutherland SK, Coulter AR, Harris Rd, Lovering KE, Roberts ID. A study of the major Australian saake venoms in the monkey (*Macaca fascicularis*). I The movement of injected venom, methods which retard this movement, and the response to antivenoms. Pathology 1981 Jan; 13(1) : 13-27
10. Muelling RJ, Samson RF, Beven T. The precipitin test in elucidating the cause of death. Am J Clin Pathol 1957 Nov; 28(5) : 489-94
11. Greenwood BM, Warrell DA, Davidson NM, Ormerod LD, Reid HA. Immunodiagnosis of snake bite. Br Med J 1974 Dec 28; 4(5947) : 743-5
12. Boche RD, Russell FE. Passive hemagglutination studies with snake venom and antivenin. Toxicon 1968 Oct; 6(6) : 125-30
13. Khupulsup K, Pooyruchpong N, Petchclai B, Ratanabanangkoon K. A passive hemagglutination test for antibody to *Naja naja siamensis* toxin 3. Toxicon 1981 Nov; 19(6) : 863-6
14. Ratanabanangkoon K, Billings PB, Matangkasombut P. Immunodiagnosis of snake venom poisoning. Asian Pac J Allergy Immunol 1987 Dec; 5(2) : 187-90
15. Coulter AR, Sutherland SK, Broad AJ. Assay of snake venoms in tissue fluids. J Immunol Methods 1974 Mar; 4 : 297-300
16. Sutherland SK, Coulter AR, Broad AJ. Human snake bite victims : the successful detection of circulating snake venom by radioimmunoassay. Med J Aust. 1975 Jan 11; 1(2) : 27-9
17. Coulter AR, Cox JC, Sutherland SK, Waddell CJ. A new solid-phase sandwich radioimmunoassay and its application to the detection of snake venom. J Immunol Methods 1978; 23 : 241-52
18. Sutherland SK, Coulter AR. Three instructive cases of tiger snake (*Notechis scutatus*) envenimation and how a radioimmunoassay proved the diagnosis. Med J Aust 1977 Aug 13; 2(6) : 177-80
19. Engvall E, Parلمان P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. Immunochemistry 1971 Sep; 8 : 871-4
20. Theakston RDG, Lloyd Jones MJ, Reid HA. Micro-ELISA for detecting and assaying snake venom and venom-antibody. Lancet 1977 Sep 24; 2(8039) : 639-41
21. Coulter AR, Harris RD, Sutherland SK. Clinical laboratory : enzyme immunoassay for the rapid clinical identification of snake venom. Med J Aust 1980 May 3; 1(9) : 433-5
22. Labrousse H, Nishikawa AK, Bon C, Avrameas S. Development of a rapid and sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for measuring venom antigens after an experimental snake bite. Toxicon 1988 Dec; 26(12) : 1157-67
23. Chandler HM, Hurrell JG. A new enzyme immunoassay system suitable for field use and its application in snake venom detection kit. Clin Chim Acta 1982 May 20; 121(2) : 225-30
24. Silamut K, HO M, Looareesuwan S, Viravan C, Wuthiekanun V, Warrell DA. Detection of venom by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in patients bitten by snakes in Thailand. Br Med J 1987 Feb 14; 294(6569) : 402-4

25. Hanvivatvong O, Phanuphak P, Lowcharoenkul C, Benyajati C, Sukulramrung R. Serum and urine cobra venom in non-antivenin treated patients. In: Gopalakrishnakone P, Tan CK, eds. *Progress in Venom and Toxin Research*. Faculty of Medicine, National University of Singapore in collaboration with International Society on Toxinology Asia Pacific Section, Singapore, 1987. 69-75
26. Ho M, Warrell MJ, Warrell DA, Bidwell D, Voller A. A critical reappraisal of the use of enzyme-linked immunosorbent assays in the study of snake bite. *Toxicon* 1986 Mar; 24(3) : 211-21
27. Minton SA. Present tests for detection of snake venom : clinical application. *Ann Emerg Med* 1987 Sep; 16(9) : 932-7
28. Hurrell JGR, Chandler HW. Capillary enzyme immunoassay field kits for the detection of snake venom in clinical specimens: a review of two years use. *Med J Aust* 1982 Sep 4; 2(5) : 236-7