

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของสมุนไพรบางชนิดต่อโปรโตซัวในลำไส้
(*Entamoeba histolytica* และ *Blastocystis hominis*) ในหลอดทดลอง
ผู้เขียน นางกัลยา แซ่มมาก
สาขาวิชา จุลชีววิทยา
ปีการศึกษา 2546

บทคัดย่อ

ผลจากการเปรียบเทียบวิธีตรวจหาโปรโตซัวในลำไส้ด้วยวิธีสเมียร์โดยตรง กับวิธีเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง จากตัวอย่างอุจจาระจำนวน 317 ตัวอย่าง พบว่าวิธีเพาะเลี้ยงสามารถตรวจพบโปรโตซัวในลำไส้ชนิด *B. hominis* ได้มากกว่าตรวจด้วยวิธีสเมียร์โดยตรงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

เมื่อศึกษาการเติบโตของ *E. histolytica* ในหลอดทดลอง โดยใช้เชื้อเริ่มต้น 1×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และตรวจนับจำนวนเชื้อทุก 4 ชั่วโมง พบว่าการเติบโตของ *E. histolytica* เมื่อเริ่มเพาะเลี้ยงจำนวนเชื้อลดลงเล็กน้อยในชั่วโมงที่ 8 และค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนสูงสุดในชั่วโมงที่ 24 จำนวนเชื้อเพิ่มขึ้นประมาณ 6 เท่าของจำนวนเชื้อเริ่มต้น จากนั้นจำนวนเชื้อค่อยๆ ลดลง และตายในชั่วโมงที่ 96 เชื้อ *E. histolytica* มี generation time เท่ากับ 8.8 ชั่วโมง

สำหรับ *B. hominis* พบว่าตั้งแต่เริ่มเพาะเลี้ยงจำนวนเชื้อลดลงจนถึงชั่วโมงที่ 12 และเพิ่มขึ้นจนสูงสุดในชั่วโมงที่ 56 โดยจำนวนเชื้อเพิ่มขึ้นประมาณ 557 เท่าของจำนวนเชื้อเริ่มต้น จากนั้นจะลดลงและตายหมดในชั่วโมงที่ 276 เชื้อ *B. hominis* มี generation time เท่ากับ 6.2 ชั่วโมง

ในการทดสอบผลของสารสกัดสมุนไพรจากรากผักขมหนาม ลูกเบญจกานี ผลดีปลี ต้นผักเบี้ยใหญ่ รากชะพลู และเถาชิงช้าชาลี ต่อการเจริญของโปรโตซัวในลำไส้ (*E. histolytica* 2 ตัวอย่าง และ *B. hominis* 10 ตัวอย่าง) ในหลอดทดลอง พบว่า สารสกัดสมุนไพรส่วนใหญ่ไม่ค่อยมีผลต่อการเจริญของ *E. histolytica* มีเพียง 2 ชนิดเท่านั้นที่มี

ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *E. histolytica* ได้ดี คือ สารสกัดจากรากชะพลูและผลดิบลิโดยที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. histolytica* ได้ 2 และ 1 ตัวอย่าง ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดทั้งสองสามารถฆ่า *E. histolytica* ได้ ที่ค่าความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สำหรับผลต่อ *B. hominis* พบว่าสารสกัดจากลูกเบญจกานีมีฤทธิ์ต้าน *B. hominis* ได้ดีที่สุด โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *B. hominis* ได้ทั้ง 10 ตัวอย่าง ที่ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 100-1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถฆ่า *B. hominis* ได้ ที่ค่าความเข้มข้น 500-2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือสารสกัดจากรากชะพลูมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *B. hominis* ได้ 8 ตัวอย่าง ที่ความเข้มข้น 500-2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถฆ่า *B. hominis* ได้ 3 ตัวอย่าง ที่ค่าความเข้มข้น 1,000-2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสารสกัดจากผลดิบลิและเถาชิงช้าชาลีมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *B. hominis* ได้ 5 และ 4 ตัวอย่าง ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 1,000-2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และฆ่า *B. hominis* ได้ 2 และ 1 ตัวอย่าง ตามลำดับ ที่ค่าความเข้มข้น 1,500-2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากรากผักขมหนามมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *B. hominis* ได้เพียง 1 ตัวอย่าง ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สำหรับผลของยาเมโทรนิดาโซลต่อ *E. histolytica* และ *B. hominis* ในหลอดทดลอง พบว่ายาเมโทรนิดาโซลมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของโปรโตซัวในลำไส้ได้ทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้น 5-10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถฆ่า *E. histolytica* และ *B. hominis* ได้ ที่ค่าความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เมื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการดื้อยาสมุนไพรและยาเมโทรนิดาโซลของโปรโตซัวในลำไส้ (*B. hominis*) ในหลอดทดลอง พบว่า โปรโตซัวในลำไส้มีแนวโน้มไม่ดื้อต่อยาสมุนไพรและยาเมโทรนิดาโซล

Thesis Title *In Vitro* Effect of Some Medicinal Plants Against Intestinal Protozoa (*Entamoeba histolytica* and *Blastocystis hominis*)

Author Mrs. Kanlaya Sengmak

Major Program Microbiology

Academic Year 2003

Abstract

Two methods for detection of intestinal protozoa, direct wet smear and *in vitro* culture, were compared. Of 317 specimens examined, it was found that *in vitro* culture significantly detected more protozoa (*B. hominis*) than simple smear method ($P < 0.05$).

Growth curves for *E. histolytica* and *B. hominis in vitro* were studied. Both protozoa were cultured (1×10^4 cells per milliliter) and cell counted at 4 hours interval. At the beginning, the numbers of both protozoa were declined. However, the numbers of *E. histolytica* increased rapidly after 8 hours, and reach the highest number at 24 hours. The number of trophozoites increased six fold of the initial inoculum. They were then decrease in number and died out after 96 hours. Generation time for *E. histolytica* was 8.8 hours.

For *B. hominis*, the number of organisms start to rise after 12 hours and reach the highest number at 56 hours. The highest number was 557 fold of the beginning. All died out after 276 hours. Generation time for *B. hominis* was 6.2 hours.

The effect of methanol extract from *Amaranthus spinosus* root, *Quercus infectoria* nut gall, *Piper longum* fruit, *Portulaca oleracea* whole plant, *Piper sarmentosus* root, *Tinospora cordifolia* stem were tested against the growth of *E. histolytica* (2 samples) and *B. hominis* (10 samples) *in vitro*. Only extract from

Piper sarmentosus root and *Piper longum* fruit at the concentration of 2,000 microgram per milliliter inhibited the growth of *E. histolytica* 2 and 1 samples, respectively. Both extracts killed 1 sample of *E. histolytica* at the concentration of 2,000 microgram per milliliter.

For *B. hominis*, the extract from *Quercus infectoria* nut gall was the best for the inhibition of the growth of all 10 samples of *B. hominis* tested at the concentration of 100-1,000 microgram per milliliter and killed all *B. hominis* at the concentrations of 500-2,000 microgram per milliliter. The extract from *Piper sarmentosus* root inhibited 8 samples of *B. hominis* at the concentration of 500-2,000 microgram per milliliter and killed 3 samples of *B. hominis* at the concentration of 1,000-2,000 microgram per milliliter. The extract from *Piper longum* fruit and *Tinospora cordifolia* stem inhibited *B. hominis* 5 and 4 samples at the concentration of 1,000-2,000 microgram per milliliter and killed *B. hominis* 2 and 1 samples at the concentration of 1,000-2,000 microgram per milliliter, respectively. The extract from *Amaranthus spinosus* root inhibited only 1 sample of *B. hominis* at the concentration of 1,000 microgram per milliliter.

Metronidazole inhibited the growth of *E. histolytica* and *B. hominis* at the concentration of 5-10 microgram per milliliter and killed both protozoa at the concentration of 20 microgram per milliliter.

The trend of *B. hominis* to be resist to the effect of plant extract or metronidazole were not detected in this experiment.