

ภาคผนวก ก

ตารางแสดงรายละเอียดข้อมูลผลการศึกษา

1. ตารางแสดงการตรวจสอบหนอนพยาธิและตำแหน่งที่พบพยาธิในลำไส้หนูทดลองกลุ่มต่างๆ

1.1 กลุ่มควบคุม (น้ำกลั่น)

ตารางที่ 5 แสดงการตรวจสอบหนอนพยาธิและตำแหน่งที่พบในลำไส้หนูทดลองกลุ่มควบคุม

ระยะเวลาที่ ตรวจสอบ หนอนพยาธิ	หนูทดลอง	จำนวนพยาธิที่พบในลำไส้แต่ละส่วน			รวม
		duodenum	jejunum	ileum	
48 ชั่วโมง หลังป้อนน้ำกลั่น	ตัวที่ 1	0	0	154	154
	ตัวที่ 2	0	0	71	71
	ตัวที่ 3	0	0	113	113
24 ชั่วโมง หลังป้อนน้ำกลั่น ครั้งที่ 1	ตัวที่ 1	0	0	189	189
	ตัวที่ 2	0	0	242	242
	ตัวที่ 3	0	0	281	281
24 ชั่วโมง หลังป้อนน้ำกลั่น ครั้งที่ 2	ตัวที่ 1	0	0	213	213
	ตัวที่ 2	0	0	251	251
	ตัวที่ 3	0	0	237	237

1.2 กลุ่มป้อนยาถ่ายพยาธิ Praziquantel

ตารางที่ 6 แสดงการตรวจสอบหนอนพยาธิและตำแหน่งที่พบพยาธิในลำไส้หนูทดลองกลุ่ม
ป้อนยาถ่ายพยาธิ praziquantel

ความเข้มข้น (mg / 1 kg)	ระยะเวลาที่ ตรวจสอบ หนอนพยาธิ	หนุทดลอง	จำนวนพยาธิที่พบในลำไส้แต่ละส่วน			รวม
			duodenum	jejunum	ileum	
20 + 20 (ป้อนซ้ำ)	48 ชั่วโมง หลังป้อนยา	ตัวที่ 1	0	0	0	0
		ตัวที่ 2	0	0	0	0
		ตัวที่ 3	0	0	0	0
20	24 ชั่วโมง หลังป้อนยา	ตัวที่ 1	0	0	13	13
		ตัวที่ 2	0	0	31	31
		ตัวที่ 3	0	0	17	17
20	12 ชั่วโมง หลังป้อนยา	ตัวที่ 1	0	0	24	24
		ตัวที่ 2	0	0	37	37
		ตัวที่ 3	0	0	42	42
20	6 ชั่วโมง หลังป้อนยา	ตัวที่ 1	0	0	125	125
		ตัวที่ 2	0	0	162	162
		ตัวที่ 3	0	0	95	95

1.3 กลุ่มป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาด

ตารางที่ 7 แสดงการตรวจหาอนุพยาธิและตำแหน่งที่พบพยาธิในลำไส้หนูทดลองกลุ่มป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาด

ความเข้มข้น (mg / 1 kg)	ระยะเวลาที่ ตรวจสอบ อนุพยาธิ	หนูทดลอง	จำนวนพยาธิที่พบในลำไส้แต่ละส่วน			รวม
			duodenum	jejunum	ileum	
20 + 20 (ป้อนเช้า)	48 ชั่วโมง หลัง ป้อนสารสกัด	ตัวที่ 1	0	0	0	0
		ตัวที่ 2	0	0	0	0
		ตัวที่ 3	0	0	0	0
20	24 ชั่วโมง หลัง ป้อนสารสกัด	ตัวที่ 1	0	0	0	0
		ตัวที่ 2	0	0	0	0
		ตัวที่ 3	0	0	0	0
10	12 ชั่วโมง หลัง ป้อนสารสกัด	ตัวที่ 1	0	0	10	10
		ตัวที่ 2	0	0	8	8
		ตัวที่ 3	0	0	16	16
	24 ชั่วโมง หลัง ป้อนสารสกัด	ตัวที่ 1	0	0	0	0
		ตัวที่ 2	0	0	1	1
		ตัวที่ 3	0	0	0	0
5	24 ชั่วโมง หลัง ป้อนสารสกัด	ตัวที่ 1	0	0	112	112
		ตัวที่ 2	0	0	172	172
		ตัวที่ 3	0	0	156	156

1.4 กลุ่มป้อนด้วยสารสกัดด้วยน้ำจากขี้เหล็ก

ตารางที่ 8 แสดงการตรวจหาอนุพยาธิและตำแหน่งที่พบพยาธิในลำไส้หนูทดลองกลุ่มป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากขี้เหล็ก

ความเข้มข้น (mg / 1 kg)	ระยะเวลาที่ ตรวจสอบ หนอนพยาธิ	หนุทดลอง	จำนวนพยาธิที่พบในลำไส้แต่ละส่วน			รวม
			duodenum	jejunum	ileum	
20 + 20 (ป้อนเช้า)	48 ชั่วโมง หลัง ป้อนสารสกัด	ตัวที่ 1	0	0	0	0
		ตัวที่ 2	0	0	0	0
		ตัวที่ 3	0	0	0	0
20	24 ชั่วโมง หลัง ป้อนสารสกัด	ตัวที่ 1	0	0	0	0
		ตัวที่ 2	0	0	0	0
		ตัวที่ 3	0	0	0	0
10	12 ชั่วโมง หลัง ป้อนสารสกัด	ตัวที่ 1	0	0	67	67
		ตัวที่ 2	0	0	81	81
		ตัวที่ 3	0	0	78	78
	24 ชั่วโมง หลัง ป้อนสารสกัด	ตัวที่ 1	0	0	0	0
		ตัวที่ 2	0	0	0	0
		ตัวที่ 3	0	0	0	0
5	24 ชั่วโมง หลัง ป้อนสารสกัด	ตัวที่ 1	0	0	126	126
		ตัวที่ 2	0	0	121	121
		ตัวที่ 3	0	0	93	93

2. ตารางแสดงผลการตรวจอุจจาระหนูทดลองกลุ่มต่างๆ

2.1 กลุ่มควบคุม (น้ำกลั่น)

ตารางที่ 9 แสดงผลการตรวจอุจจาระหนูทดลองกลุ่มควบคุม

หนูทดลอง	เวลาที่ตรวจอุจจาระ			
	24 h. PI	48 h. PI	72 h. PI	96 h. PI
ตัวที่ 1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
ตัวที่ 2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
ตัวที่ 3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
ตัวที่ 4	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
ตัวที่ 5	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
ตัวที่ 6	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
ตัวที่ 7	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
ตัวที่ 8	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
ตัวที่ 9	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-

2.2 กลุ่มป้อนยาถ่ายพยาธิ Praziquantel

ตารางที่ 10 แสดงผลการตรวจอุจจาระหนูทดลองกลุ่มป้อนยาถ่ายพยาธิ praziquantel

ความเข้มข้น (mg / 1 kg)	หนูทดลอง	เวลาที่ตรวจอุจจาระ			
		24 h. PI	48 h.PI	72 h. PI	96 h. PI
20 + 20 (ป้อนเช้า)	ตัวที่ 1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
	ตัวที่ 2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
	ตัวที่ 3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
20	ตัวที่ 1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
20	ตัวที่ 1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
20	ตัวที่ 1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-

2.3 กลุ่มป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาด

ตารางที่ 11 แสดงผลการตรวจอาการหนุทดลองกลุ่มป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาด

ความเข้มข้น (mg / 1 kg)	หนุทดลอง	เวลาที่ตรวจอาการ			
		24 h. PI	48 h. PI	72 h. PI	96 h. PI
20 + 20 (ป้อนซ้ำ)	ตัวที่ 1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
	ตัวที่ 2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
	ตัวที่ 3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
20	ตัวที่ 1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
10	ตัวที่ 1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
5	ตัวที่ 1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-

2.4 กลุ่มป้อนด้วยสารสกัดด้วยน้ำจากขี้เหล็ก

ตารางที่ 12 แสดงผลการตรวจอาการหนุทดลองกลุ่มป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากขี้เหล็ก

ความเข้มข้น (mg / 1 kg)	หนุทดลอง	เวลาที่ตรวจอาการ			
		24 h. PI	48 h. PI	72 h. PI	96 h. PI
20 + 20 (ป้อนซ้ำ)	ตัวที่ 1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
	ตัวที่ 2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
	ตัวที่ 3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
20	ตัวที่ 1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
10	ตัวที่ 1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
5	ตัวที่ 1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-
	ตัวที่ 3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	-

หมายเหตุ : PI = Post Infected

3. ผลการทดสอบทางสถิติ (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดกับจำนวนหนอนพยาธิที่พบในลำไส้

3.1 สารสกัดด้วยน้ำจากมะหาด กำหนดให้

- กลุ่มที่ 1 หมายถึง หนูทดลองที่ป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาดด้วยความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนูทดลอง 1 กิโลกรัม ป้อนเช้า และผ่าเปิดช่องท้องเพื่อตรวจสอบหาหนอนพยาธิ 48 ชั่วโมง หลังจากที่ได้รับสารสกัดจากมะหาด
- กลุ่มที่ 2 หมายถึง หนูทดลองที่ป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาดด้วยความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนูทดลอง 1 กิโลกรัม ไม่ป้อนเช้า และผ่าเปิดช่องท้องเพื่อตรวจสอบหาหนอนพยาธิ 24 ชั่วโมง หลังจากที่ได้รับสารสกัดจากมะหาด
- กลุ่มที่ 3 หมายถึง หนูทดลองที่ป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาดด้วยความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนูทดลอง 1 กิโลกรัม ไม่ป้อนเช้า และผ่าเปิดช่องท้องเพื่อตรวจสอบหาหนอนพยาธิ 12 ชั่วโมง หลังจากที่ได้รับสารสกัดจากมะหาด
- กลุ่มที่ 4 หมายถึง หนูทดลองที่ป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาดด้วยความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนูทดลอง 1 กิโลกรัม ไม่ป้อนเช้า และผ่าเปิดช่องท้องเพื่อตรวจสอบหาหนอนพยาธิ 24 ชั่วโมง หลังจากที่ได้รับสารสกัดจากมะหาด
- กลุ่มที่ 5 หมายถึง หนูทดลองที่ป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาดด้วยความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนูทดลอง 1 กิโลกรัม ไม่ป้อนเช้า และผ่าเปิดช่องท้องเพื่อตรวจสอบหาหนอนพยาธิ 24 ชั่วโมง หลังจากที่ได้รับสารสกัดจากมะหาด

ตารางที่ 13 แสดงผลทดสอบ ANOVA หนูทดลองกลุ่มที่ป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาด

ANOVA

จำนวนพยาธิ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	49877.333	4	12469.333	63.425	.000
Within Groups	1966.000	10	196.600		
Total	51843.333	14			

ตารางที่ 14 แสดงผลทดสอบ LSD หนูทดลองกลุ่มที่ป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาด

Multiple Comparisons

Dependent Variable: จำนวนพยาธิ

LSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	.0000	11.44844	1.000	-36.2832	36.2832
	3.00	-11.3333	11.44844	.346	-47.6165	24.9499
	4.00	-.3333	11.44844	.977	-36.6165	35.9499
	5.00	-146.6667 *	11.44844	.000	-182.9499	-110.3835
2.00	1.00	.0000	11.44844	1.000	-36.2832	36.2832
	3.00	-11.3333	11.44844	.346	-47.6165	24.9499
	4.00	-.3333	11.44844	.977	-36.6165	35.9499
	5.00	-146.6667 *	11.44844	.000	-182.9499	-110.3835
3.00	1.00	11.3333	11.44844	.346	-24.9499	47.6165
	2.00	11.3333	11.44844	.346	-24.9499	47.6165
	4.00	11.0000	11.44844	.359	-25.2832	47.2832
	5.00	-135.3333 *	11.44844	.000	-171.6165	-99.0501
4.00	1.00	.3333	11.44844	.977	-35.9499	36.6165
	2.00	.3333	11.44844	.977	-35.9499	36.6165
	3.00	-11.0000	11.44844	.359	-47.2832	25.2832
	5.00	-146.3333 *	11.44844	.000	-182.6165	-110.0501
5.00	1.00	146.6667 *	11.44844	.000	110.3835	182.9499
	2.00	146.6667 *	11.44844	.000	110.3835	182.9499
	3.00	135.3333 *	11.44844	.000	99.0501	171.6165
	4.00	146.3333 *	11.44844	.000	110.0501	182.6165

* The mean difference is significant at the 0.01 level.

3.2 สารสกัดด้วยน้ำจากขี้เหล็ก โดยกำหนด

- กลุ่มที่ 1 หมายถึง หนุทดลองที่ป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากขี้เหล็กด้วยความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนุทดลอง 1 กิโลกรัม ป้อนเช้า และผ่าเปิดช่องท้องเพื่อตรวจสอบหาหนอนพยาธิ 48 ชั่วโมง หลังจากที่ได้รับสารสกัดจากขี้เหล็ก
- กลุ่มที่ 2 หมายถึง หนุทดลองที่ป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากขี้เหล็กด้วยความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนุทดลอง 1 กิโลกรัม ไม่ป้อนเช้า และผ่าเปิดช่องท้องเพื่อตรวจสอบหาหนอนพยาธิ 24 ชั่วโมง หลังจากที่ได้รับสารสกัดจากขี้เหล็ก
- กลุ่มที่ 3 หมายถึง หนุทดลองที่ป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากขี้เหล็กด้วยความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนุทดลอง 1 กิโลกรัม ไม่ป้อนเช้า และผ่าเปิดช่องท้องเพื่อตรวจสอบหาหนอนพยาธิ 12 ชั่วโมง หลังจากที่ได้รับสารสกัดจากขี้เหล็ก
- กลุ่มที่ 4 หมายถึง หนุทดลองที่ป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากขี้เหล็กด้วยความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนุทดลอง 1 กิโลกรัม ไม่ป้อนเช้า และผ่าเปิดช่องท้องเพื่อตรวจสอบหาหนอนพยาธิ 24 ชั่วโมง หลังจากที่ได้รับสารสกัดจากขี้เหล็ก
- กลุ่มที่ 5 หมายถึง หนุทดลองที่ป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากขี้เหล็กด้วยความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนุทดลอง 1 กิโลกรัม ไม่ป้อนเช้า และผ่าเปิดช่องท้องเพื่อตรวจสอบหาหนอนพยาธิ 24 ชั่วโมง หลังจากที่ได้รับสารสกัดจากขี้เหล็ก

ตารางที่ 15 แสดงผลทดสอบ ANOVA หนุทดลองกลุ่มที่ป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากขี้เหล็ก

ANOVA

จำนวนพยาธิ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	34201.600	4	8550.400	115.338	.000
Within Groups	741.333	10	74.133		
Total	34942.933	14			

ตารางที่ 16 แสดงผลทดสอบ LSD หนูทดลองกลุ่มที่ป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากขี้เหล็ก

Multiple Comparisons

Dependent Variable: จำนวนพยาธิ

LSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	.0000	7.03009	1.000	-22.2803	22.2803
	3.00	-75.3333 *	7.03009	.000	-97.6136	-53.0530
	4.00	.0000	7.03009	1.000	-22.2803	22.2803
	5.00	-113.3333 *	7.03009	.000	-135.6136	-91.0530
2.00	1.00	.0000	7.03009	1.000	-22.2803	22.2803
	3.00	-75.3333 *	7.03009	.000	-97.6136	-53.0530
	4.00	.0000	7.03009	1.000	-22.2803	22.2803
	5.00	-113.3333 *	7.03009	.000	-135.6136	-91.0530
3.00	1.00	75.3333 *	7.03009	.000	53.0530	97.6136
	2.00	75.3333 *	7.03009	.000	53.0530	97.6136
	4.00	75.3333 *	7.03009	.000	53.0530	97.6136
	5.00	-38.0000 *	7.03009	.000	-60.2803	-15.7197
4.00	1.00	.0000	7.03009	1.000	-22.2803	22.2803
	2.00	.0000	7.03009	1.000	-22.2803	22.2803
	3.00	-75.3333 *	7.03009	.000	-97.6136	-53.0530
	5.00	-113.3333 *	7.03009	.000	-135.6136	-91.0530
5.00	1.00	113.3333 *	7.03009	.000	91.0530	135.6136
	2.00	113.3333 *	7.03009	.000	91.0530	135.6136
	3.00	38.0000 *	7.03009	.000	15.7197	60.2803
	4.00	113.3333 *	7.03009	.000	91.0530	135.6136

* The mean difference is significant at the 0.01 level.

3.3 เปรียบเทียบหนูทดลองกลุ่มควบคุมกับกลุ่มยาถ่ายพยาธิ praziquantel และกลุ่มสารสกัดสมุนไพร ที่นำไปศึกษา SEM โดยกำหนด

- กลุ่มที่ 1 หมายถึง หนูทดลองกลุ่มควบคุม ผ่าเปิดช่องท้องเพื่อตรวจหาหนอนพยาธิที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงหลังจากป้อนน้ำกลั่น (ทำการศึกษาครั้งที่ 1) หนูทดลองจำนวน 3 ตัว
- กลุ่มที่ 2 หมายถึง หนูทดลองกลุ่มควบคุม ผ่าเปิดช่องท้องเพื่อตรวจหาหนอนพยาธิที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงหลังจากป้อนน้ำกลั่น (ทำการศึกษาครั้งที่ 2) หนูทดลองจำนวน 3 ตัว
- กลุ่มที่ 3 หมายถึง หนูทดลองกลุ่มที่ป้อนยาถ่ายพยาธิ praziquantel ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนูทดลอง 1 กิโลกรัม ผ่าตรวจสอบหาหนอนพยาธิที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงหลังจากที่ป้อนยา
- กลุ่มที่ 4 หมายถึง หนูทดลองที่ป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาดด้วยความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนูทดลอง 1 กิโลกรัม ไม่ป้อนซ้ำ และผ่าเปิดช่องท้องเพื่อตรวจสอบหาหนอนพยาธิ 12 ชั่วโมง หลังจากที่ได้รับสารสกัดจากมะหาด
- กลุ่มที่ 5 หมายถึง หนูทดลองที่ป้อนสารสกัดด้วยน้ำจากขี้เหล็กด้วยความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนูทดลอง 1 กิโลกรัม ไม่ป้อนซ้ำ และผ่าเปิดช่องท้องเพื่อตรวจสอบหาหนอนพยาธิ 12 ชั่วโมง หลังจากที่ได้รับสารสกัดจากขี้เหล็ก

ตารางที่ 17 แสดงผลการทดสอบ ANOVA หนูทดลองกลุ่มควบคุมกับกลุ่มยาถ่ายพยาธิ praziquantel และกลุ่มสารสกัดพืชสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด

ANOVA

จำนวนพยาธิ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	150982.267	4	37745.567	70.879	.000
Within Groups	5325.333	10	532.533		
Total	156307.600	14			

ตารางที่ 18 แสดงผลการทดสอบ LSD หนูทดลองกลุ่มควบคุมกับกลุ่มยาถ่ายพยาธิ praziquantel และกลุ่มสารสกัดพืชสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด

Multiple Comparisons

Dependent Variable: จำนวนพยาธิ

LSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	3.6667	18.84203	.850	-56.0489	63.3822
	3.00	217.0000 *	18.84203	.000	157.2845	276.7155
	4.00	226.0000 *	18.84203	.000	166.2845	285.7155
	5.00	162.0000 *	18.84203	.000	102.2845	221.7155
2.00	1.00	-3.6667	18.84203	.850	-63.3822	56.0489
	3.00	213.3333 *	18.84203	.000	153.6178	273.0489
	4.00	222.3333 *	18.84203	.000	162.6178	282.0489
	5.00	158.3333 *	18.84203	.000	98.6178	218.0489
3.00	1.00	-217.0000 *	18.84203	.000	-276.7155	-157.2845
	2.00	-213.3333 *	18.84203	.000	-273.0489	-153.6178
	4.00	9.0000	18.84203	.643	-50.7155	68.7155
	5.00	-55.0000	18.84203	.015	-114.7155	4.7155
4.00	1.00	-226.0000 *	18.84203	.000	-285.7155	-166.2845
	2.00	-222.3333 *	18.84203	.000	-282.0489	-162.6178
	3.00	-9.0000	18.84203	.643	-68.7155	50.7155
	5.00	-64.0000 *	18.84203	.007	-123.7155	-4.2845
5.00	1.00	-162.0000 *	18.84203	.000	-221.7155	-102.2845
	2.00	-158.3333 *	18.84203	.000	-218.0489	-98.6178
	3.00	55.0000	18.84203	.015	-4.7155	114.7155
	4.00	64.0000 *	18.84203	.007	4.2845	123.7155

* The mean difference is significant at the 0.01 level.

ภาคผนวก ข

การเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดด้วยน้ำจากพืชสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด และยาถ่ายพยาธิ Praziquantel ที่ใช้ในการศึกษา

สารสกัดด้วยน้ำจากมะหาด

สารสกัดด้วยน้ำจากมะหาดที่เตรียมได้จากการละลายผงปวกหาด 10 กรัมในน้ำกลั่น 100 มล แล้วกรอง นำเอาเฉพาะส่วนที่ละลายน้ำไปทำให้แห้งโดยผ่านเครื่อง Freeze drying จะได้ผงของสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาดน้ำหนัก 1.53 กรัม นำไปเตรียมเป็นสารละลายสกัดตั้งต้น ดังนี้

- ผงสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาด	1	ก
- เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	50	มล

จะได้สารละลายของสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาดที่ความเข้มข้น 20 มก / มล

สารสกัดด้วยน้ำจากรากขี้เหล็ก

สารสกัดด้วยน้ำจากรากขี้เหล็กที่เตรียมได้จากการนำรากขี้เหล็ก 100 ก ต้มในน้ำกลั่น 300 มล เคี่ยวบนไฟอ่อนๆ จนสารละลายมีปริมาตรเหลือ 150 มล กรองแล้วนำสารละลายที่ได้ไปทำให้แห้งโดยผ่านเครื่อง Freeze drying จะได้ผงของสารสกัดด้วยน้ำจากรากขี้เหล็กน้ำหนัก 1.81 ก นำไปเตรียมเป็นสารละลายสกัดตั้งต้น ดังนี้

- ผงสารสกัดด้วยน้ำจากรากขี้เหล็ก	1	ก
- เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	50	มล

จะได้สารละลายของสารสกัดด้วยน้ำจากรากขี้เหล็กที่ความเข้มข้น 20 มก / มล

ยาถ่ายพยาธิ Praziquantel

นำยาเม็ดถ่ายพยาธิชื่อ Zentozide 1 เม็ด ซึ่งมีปริมาณยา Praziquantel 600 มก มาเตรียมเป็นสารละลายยาถ่ายพยาธิตั้งต้น ดังนี้

- ยาถ่ายพยาธิ (praziquantel 600 mg)	1	เม็ด
- เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	30	มล

จะได้สารละลายของยาถ่ายพยาธิ Praziquantel ความเข้มข้น 20 มก / มล ยาถ่ายพยาธิมีลักษณะเป็นผงแป้งไม่สามารถละลายน้ำได้หมด ควรเขย่าขวดสารละลายให้น้ำยาและน้ำเข้ากันดีก่อนที่จะนำไปปรับเป็นความเข้มข้นต่างๆ หรือก่อนนำไปป้อนให้สัตว์ทดลอง

ภาคผนวก ค

สารเคมี

1. น้ำยาดองพยาธิ

1.1 5% Formalin

- 40% formalin	5	ml
- น้ำกลั่น	35	ml

1.2 70% Alcohol

- 95% Ethyl alcohol	70	ml
- น้ำกลั่น	25	ml

2. สีย้อม

Borax carmine

- Borax	1	g
- Carmine	1.5	g
- 70% alcohol	50	ml
- น้ำกลั่น	25	ml

วิธีเตรียม

ต้ม Borax กับ Carmine ในน้ำกลั่นให้เดือดประมาณ 20 นาทีขณะกำลังต้มเดือดอยู่ต้องคอยเติมน้ำกลั่น เพื่อรักษาระดับน้ำให้คงที่อยู่เสมอ หลังจากต้มแล้วทิ้งไว้ให้เย็น เติม 70% alcohol ลงไป เก็บสารละลายไว้ 3 วัน จึงกรองเอาตะกอนออก นำสารละลายที่ได้เก็บในขวดสีชา ไม่ให้ถูกแสง

Delafield Alum Haematoxylin

- Aluminium alum	3	g
- Haematoxylin	0.6	g
- Glycerine	15	ml
- Methanol	15	ml
- 95% alcohol	4	ml
- น้ำกลั่น	70	ml

วิธีเตรียม

- ละลาย Haematoxylin ใน 95% alcohol	(1)
-------------------------------------	-----

- ละลาย Aluminium alum ในน้ำกลั่น (2)

- นำสารละลาย (1) และ (2) มาผสมกันแล้วเติม glycerine เก็บไว้ 1 เดือน นำสารละลายสีที่ได้มารอง ก่อนนำไปใช้

Eosin

1% stock alcoholic Eosin

- Eosin Y	1	g
- น้ำกลั่น	20	ml
- เติมน้ำ alcohol	80	ml

Working Eosin Solution

- 1% stock alcoholic Eosin	1	ส่วน
- 80% alcohol	3	ส่วน

ก่อนนำไปใช้ เติมน้ำ glacial acetic 0.5 ml ต่อสารละลายสี 100 ml คนให้เข้ากัน

Fast green

- Fast green, FCF	0.01	g
- 95% alcohol	100	ml

วิธีเตรียม

ละลาย Fast green ใน 95% alcohol คนให้เนื้อสีละลายจนหมด นำไปใช้ได้เลย

De-stain (1% Hydrochloric acid in 70% alcohol)

- Hydrochloric acid	1	ml
- 70% alcohol	99	ml

3. 0.85% NaCl

- NaCl	0.85	g
- เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	100	ml

4. 1% Pepsin

- pepsin	1	g
- concentrated HCl	1	ml
- เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	100	ml

5. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างหนอนพยาธิเพื่อศึกษาทาง SEM

5.1. 0.2 M Phosphate buffer

โดยการเตรียม Stock solution ของสาร A และ สาร B จากนั้นผสมสาร A และ B ในอัตราส่วน 23 : 77 ซึ่งจะได้ 0.2 M Phosphate buffer pH= 7.3 หากต้องการทำให้เป็น 0.1 M phosphate buffer ก็ผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1: 1

สาร A 0.2 M Sodium phosphate monobasic

- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	27.6	g
- หรือ $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	31.21	g
- เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	1000	ml

สาร B 0.2 M Sodium phosphate dibasic

- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	35.61	g
- หรือ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	53.65	g
- หรือ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	71.64	g
- เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	1000	ml

5.2 น้ำยาคงสภาพของออสเมียมเทรตทอริกไซด์ (Osmic acid fixative)

สารละลาย stock ของ 4 % OsO_4 (ทำในตู้ดูดไอสารเคมี)

- นำหลอดแก้วที่มีผลึก OsO_4 บรรจุอยู่ (ขนาด 1 g) มาทำความสะอาดโดยล้างน้ำ เช็ดให้สะอาดและแห้ง
- ห่อหลอดแก้วที่มี OsO_4 อยู่ ด้วยกระดาษเช็ดเลนส์ตามยาว
- ทูบหลอดแก้วในข้อ 2 ให้แตก แกะห่อออก ถ่ายลงในเออร์เลนไมเออร์ฟลาสก์ (Erlenmeyer flask) ขนาด 125 ml
- เติมน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร (เพื่อจะได้สารละลาย OsO_4 ที่มีความเข้มข้น 4 %) เขย่าให้ดี ปิดปากภาชนะด้วยแผ่นพาราฟิล์ม (parafilm) 2 ชั้น นำฟลาสก์ไปใส่ในขวดแก้วปากกว้างมีฝาปิดอีกชั้น แขนตู้เย็นทิ้งไว้ข้ามคืน OsO_4 (ละลายน้ำได้ช้า)
- รุ่งขึ้นกรองเศษแก้วออกจากสารละลายดังกล่าว ด้วยกระดาษกรองเนื้อหยาบ เทสารละลายลงในขวดแก้วมีจุก เก็บขวดแก้วในภาชนะขนาดใหญ่ที่มีฝาปิดอีกชั้นหนึ่ง เขียน label เก็บ

ไว้เป็นสารละลายสำรองเพื่อเตรียมน้ำยาคงสภาพต่อไป ต้องเก็บสารละลายไว้ในตู้เย็น
ตลอดเวลา

สารละลายของ 1% OsO_4

- 4 % OsO_4	1	ส่วน
- 0.1 M phosphate buffer	2	ส่วน
- น้ำกลั่น	1	ส่วน

5.3 10 % Paraformaldehyde solution

- paraformaldehyde (powder)	2.0	g
- น้ำกลั่น	20	ml

ผสมให้เข้ากันและอุ่นให้ถึงอุณหภูมิ 60 - 65 องศาเซลเซียส ค่อยๆ เติม 1N NaOH
ลงในสารละลาย 2-3 หยดจนสารละลายใส ทิ้งไว้ให้ เย็นที่อุณหภูมิห้อง

5.4 Paraformaldehyde-glutaraldehyde fixative (Karnovsky's fixative)

หรือ 2.5 % glutaraldehyde

- 0.1 M phosphate buffer	50	ml
- 10 % paraformaldehyde	20	ml
- 25 % glutaraldehyde	10	ml
- น้ำกลั่น	20	ml

ภาคผนวก ง

ขั้นตอนการทำสไลด์ถาวร (Permanent slide) และ
ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างหอนพยาธิเพื่อศึกษาพื้นผิวหอนพยาธิ (SEM)

สไลด์ถาวร (Permanent slide)

ตัวอย่างหอนพยาธิ (specimen) ล้างด้วยน้ำเกลือ 0.85% จนสะอาด

↓
Fixative (5% Formalin)

↓
ล้างด้วยน้ำสะอาด ← Haematoxylin

↓
Dehydration (10%, 20%, 30%, 50% alcohol)

↓
De-stain ← 70% alcohol ← Borax carmine

↓
85% alcohol ← Eosin

↓
95% alcohol ← Fast green

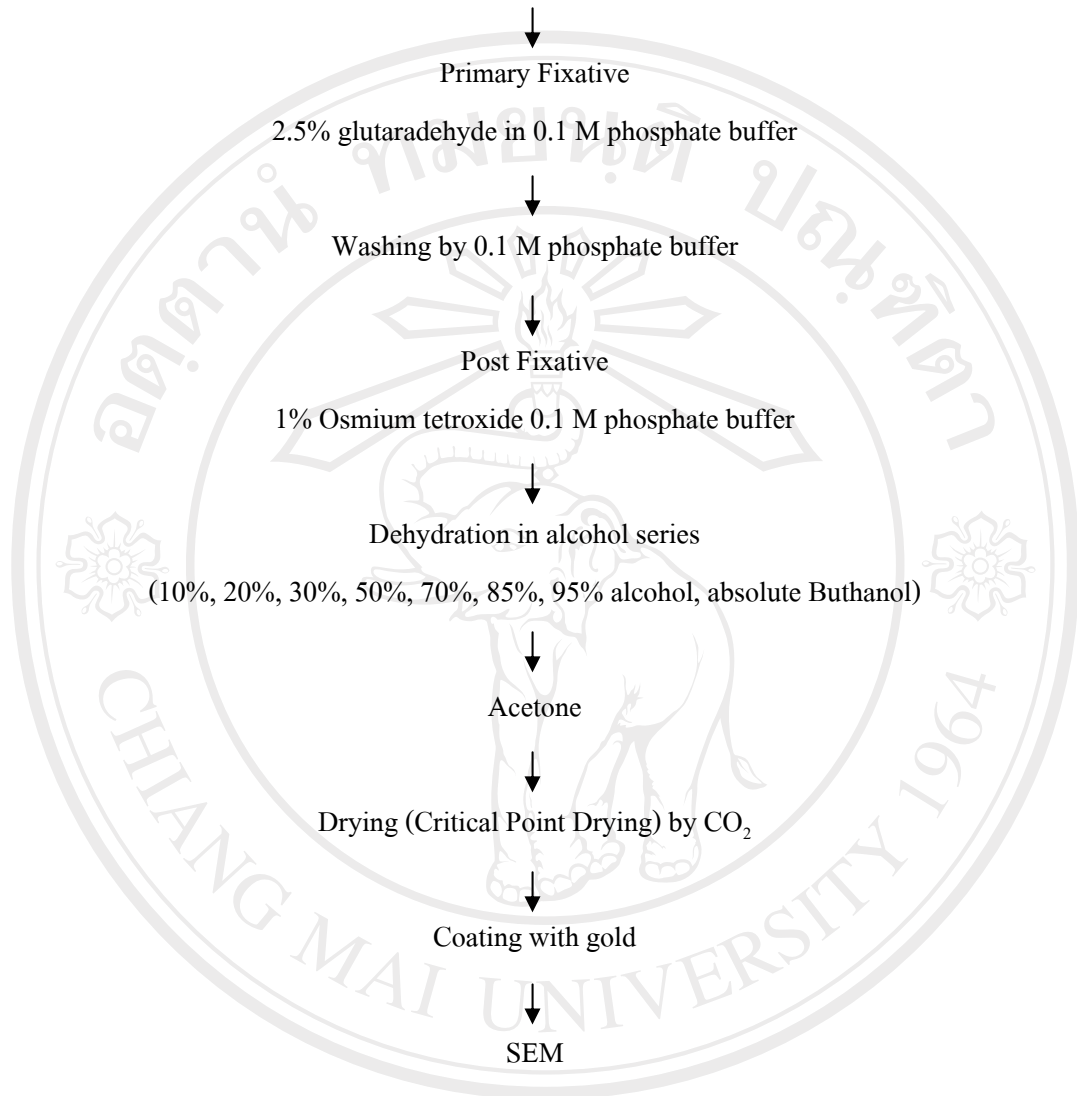
↓
95% alcohol : Buthanol alcohol (2:1, 1:1, 1:2, absolute Buthanol)

↓
Buthanol alcohol : Xylol (2:1, 1:1, 1:2, absolute Xylol)

↓
Mounting ด้วย Permout และปิดด้วย cover glass

ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างหอนพยาธิเพื่อศึกษาพื้นผิวหอนพยาธิ (SEM)

ตัวอย่างหอนพยาธิ (specimen) ล้างด้วยน้ำเกลือ 0.85% จนสะอาด



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นายชนพล อยู่เย็น
วัน เดือน ปีเกิด	18 ตุลาคม 2514
ที่อยู่	119/92 หมู่ 9 ตำบลทับใต้ อำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 77110
e-mail address	t_yooyen@yahoo.com
ประวัติการศึกษา	- อนุปริญญาวิทยาศาสตร (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) วิทยาลัยครูเพชรบุรี จ. เพชรบุรี - วิทยาศาสตรบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ. เชียงใหม่
ผลงานวิจัย	Yooyen T., Wongsawad C., Kumchoo K. and Chaiyapo M. 2006. A new record of <i>Clinostomum philippinensis</i> (Valasquez, 1959) in <i>Trichogaster microlepis</i> (Gunther, 1861) from Bung borapet, nakorn sawan, Thailand. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, 37 (suppl. 3), 99-103.