

## บทคัดย่อภาษาไทย

การดื้อยาไตรคลาเบนดาโซล (Triclabendazole; TCZ) เกิดมากขึ้นอย่างแพร่หลายในปศุสัตว์ทั้งยุโรปและเอเชีย การค้นหายาฆ่าพยาธิตัวใหม่ จึงเป็นเรื่องเร่งด่วน ผลศึกษาในหลอดทดลองของพลับบาจิน (plumbagin; PB) จากรากเจตมูลเพลิงแดง (*Plumbago indica* root) พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเคลื่อนไหวของพยาธิหนอนตัวกลมและพยาธิหนอนตัวแบนได้ ดังนั้นวัตถุประสงค์การศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาผลการฆ่าพยาธิของ PB และสารสกัดหยาบจากรากเจตมูลเพลิงแดง (crude extract of *P. indica* ; PI) ต้านต่อพยาธิใบไม้ตับ *Fasciola gigantica* ระยะ newly excystment juveniles (NEJs) และระยะ 4 สัปดาห์ โดยเปรียบเทียบกับ TCZ ในพารามิเตอร์ต่างๆ โดยประเมินค่าร้อยละการยับยั้งการเคลื่อนไหวของพยาธิตัวอ่อน (% LMI) ความสัมพันธ์การเคลื่อนไหว (RM) ดัชนีการรอดชีวิต (SI) ร้อยละการป้องกันการติดเชื้อพยาธิ และการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) นำพยาธิระยะ NEJs บ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อควบคุมหรืออาหารเลี้ยงเชื้อที่มี TCZ หรือ PB หรือ PI ที่ความเข้มข้น 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 และ 100 µg/ml เรียงตามลำดับ หลังการทดลองพยาธิระยะ NEJs ถูกนำไปใส่ใน excystment tower และติดตามการเคลื่อนไหวของพยาธิที่สามารถไขผ่านแผ่นเมมเบรนได้ พยาธิระยะ NEJs และระยะ 4 สัปดาห์ ถูกแบ่งออกเป็น 8 กลุ่ม (n=10 ต่อกลุ่ม) ดังนี้ กลุ่มควบคุมเชิงลบ (กลุ่ม 1) กลุ่มควบคุมเชิงบวก (TCZ; กลุ่ม 2) กลุ่มที่ได้รับ PB (กลุ่ม 3-5) และกลุ่มที่ได้รับ PI (กลุ่ม 6-8) ที่ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 µg/ml เรียงตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลองในหลอดทดลองพยาธิถูกประเมินคะแนนค่า RM ที่ชั่วโมงที่ 1, 3, 6, 12 และ 24 ภายใต้กล้อง stereomicroscope หลังจากนั้นพยาธิแต่ละช่วงเวลาที่ประเมิน ถูกนำไปผ่านขบวนการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาโดย SEM ผลการทดลองพบว่า PB มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเคลื่อนไหวของพยาธิระยะ NEJs มากที่สุด (ร้อยละ 100) เมื่อเทียบกับ TCZ (% LMI = 79) และ PI (% LMI = 71) ประสิทธิภาพการฆ่าพยาธิระยะ NEJs ของ TCZ (RM= 0% และ SI = 0%) ให้ผลดีกว่า PB (RM= 22% และ SI = 34%) และ PI (RM= 67% และ SI = 67%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทางตรงกันข้ามประสิทธิภาพในการฆ่าพยาธิระยะ 4 สัปดาห์ของ PB และ PI (RM= 0% และ SI = 0%) มีประสิทธิภาพดีกว่า TCZ (RM= 98% และ SI = 100%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของพยาธิในระยะ NEJs และระยะ 4 สัปดาห์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ SEM พบว่าผิวของพยาธิทั้งในระยะ NEJs และระยะ 4 สัปดาห์ เกิดการบวมและตุ่มพองที่ผิวพยาธิ ตุ่มพองจนแตก การกัดเซาะของผิวพยาธิและมีการหลุดลอกของผิวพยาธิหลังจากสัมผัสสารในชั่วโมงที่ 6 และ 12 ความรุนแรงของพยาธิสภาพในกลุ่มพยาธิที่ได้รับ PB มีความรุนแรงมากกว่ากลุ่มพยาธิที่ได้รับ TCZ และ PI ประสิทธิภาพการป้องกันการติดเชื้อพยาธิ *F. gigantica* ของ TCZ ดีกว่า PB และ PI เมื่อเปรียบเทียบกับร้อยละการป้องกันการติดเชื้อพยาธิในสัตว์ทดลอง การค้นพบเหล่านี้เป็นข้อบ่งชี้ว่า PB มีศักยภาพต่อการฆ่าพยาธิ *F. gigantica* ในระยะ NEJs และระยะ 4 สัปดาห์ ในขณะที่ PI มีฤทธิ์ต้านพยาธิ *F. gigantica* ระยะ 4 สัปดาห์เท่านั้น

## บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Triclabendazole (TCZ) drug resistance has been increasingly prevalent in livestock in Europe and Asia, driving the urgent need for a novel anthelmintic drug. *In vitro* studies of plumbagin (PB) from *Plumbago indica* root reported to inhibit the motility of nematodes and trematodes. Therefore, the objective of this study was to investigate the anthelmintic effect of PB and crude extract of *P. indica* (PI) root against newly excystment juveniles (NEJs) and 4-week-old of *Fasciola gigantica*. The effects of the extracts were compared with TCZ on various parameters, including % larval migration inhibition (% LMI), relative motility (RM), survival index (SI), % protection, and histopathological changes evaluated by Scanning Electron microscopy (SEM). NEJs were incubated with either control medium or medium containing TCZ, or PB, or PI at 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, and 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , respectively. Post-treatment, NEJs were plated into the excystment tower and the motility of flukes passing through the membrane was monitored. NEJs and 4-week-old flukes were divided into 8 groups (n=10 per group) as followed: negative control (group 1), positive control (TCZ; group 2), serial concentrations of PB (groups 3-5) and PI (groups 6-8) at 1, 10, and 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , respectively. After *in vitro* experiments, the RM values were evaluated after 1, 3, 6, 12, and 24 h incubation by scoring under the stereomicroscope. Samples collected from each incubation timepoint were processed, and histopathological changes were observed under SEM. Results suggested that PB was most efficient at inhibiting NEJs' migration (%LMI= 100) in comparison to TCZ (%LMI= 79) and PI (%LMI= 71). The parasitocidal action of TCZ (RM= 0% and SI =0%) was significantly more effective and rapid compared to PB (RM= 22% and SI =34%) and PI (RM= 67% and SI =67%). In contrast, PB and PI (RM= 0% and SI =0%) on 4-week-old of *F. gigantica* showed significantly greater parasitocidal effects than TCZ (RM= 98% and SI =100%). Morphological changes of NEJs and 4-week-old of *F. gigantica* recorded were progressed blebs, disruption of blebs, erosion, and desquamation of tegument of flukes after 6 and 12 h exposures. The severity of lesions in the PB-treated group was revealed to be worse than TCZ and PI-treated groups. TCZ prevented the *F. gigantica* infection better than PB and PI treatments when compare with percent of protection in vivo study. These findings indicated that PB had a potential anthelmintic effect on NEJs and 4-week-old of *F. gigantica* while PI affected only 4-week-old flukes.