

## RESEARCH ARTICLE

# Antimicrobial Activity of Guava Leaf and Garlic Extracts against *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus* spp. Isolated from Infected Fish

Arinee Chatchawanchonteera<sup>1\*</sup> Jinda Wangboonskul<sup>2</sup> Kamolchai trongwanishnam<sup>3</sup> Arunee Buttasri<sup>1</sup>  
Prasartporn Borisutpeth<sup>4</sup> Montana Sriyamat<sup>5</sup> Namphung Nampakdee<sup>5</sup> Warangkarat Laohawat<sup>5</sup>

## Abstract

**Objective** — To assess antimicrobial activity of water extracts of guava leaf and garlic against *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus* spp. isolated from infected fish by microdilution broth method.

**Materials and Methods** — Guava leaf and garlic were extracted by using water. Then, to increase the extracts' concentrations, the extracts were further processed under freeze-dry method. *Aeromonas hydrophila* (8 isolates) and *Streptococcus* spp. (4 isolates) were isolated from infected fish that were sampled from Khon Kaen province. *E.coli* (ATCC 25922) was used as standard control strain. Antimicrobial activity of the extracts was tested; then, minimal inhibitory concentration (MIC) was recorded.

**Results** — Both the extracts were able to inhibit both the bacteria. MIC values of guava leaf and garlic extracts against *Aeromonas hydrophila* were 2.64, 13.24 mg/ml and against *Streptococcus* spp. were 17.58, 73.67 mg/ml, respectively.

**Conclusion** — The water extracts of guava leaf and garlic can in vitro inhibit *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus* spp. isolated from infected fish.

KKU Vet J. 2008;18(1):46-53

<http://vet.kku.ac.th/journal/>

**Keywords** : Guava leaf extract; Garlic extract; *Aeromonas hydrophila*; *Streptococcus* spp.,  
Minimal inhibitory concentration (MIC)

<sup>1</sup> Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002.

<sup>2</sup> Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002.

<sup>3</sup> Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok 10900.

<sup>4</sup> Department of Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002.

<sup>5</sup> 6<sup>th</sup> year Veterinary Student, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002.

\* **Corresponding author:** arinee@kku.ac.th

# ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดจากใบฝรั่งและสารสกัดจาก กระเทียม ต่อเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus* spp. ที่แยกได้จากปลาป่วย

อารินี ชัชวาลชลธีระ<sup>1</sup> จินดา หวังบุญสกุล<sup>2</sup> กมลชัย ตรงวานิชนาม<sup>3</sup> อรุณี บุตรตาสี<sup>1</sup>  
ประสาทร บิริสุทธิเพ็ชร<sup>4</sup> มัดทนนา ศรียามาตย์<sup>5</sup> น้ำผึ้ง นามปากดี<sup>5</sup> วรจรรย์รัตน์ เลหาวัฒน์<sup>5</sup>

## บทคัดย่อ

**วัตถุประสงค์** เพื่อหาประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบฝรั่งและสารสกัดจากกระเทียมที่สกัดด้วยน้ำในการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และเชื้อ *Streptococcus* spp. ที่แยกได้จากปลาป่วย

**วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ** ทำการศึกษาโดยเตรียมสารสกัดจากใบฝรั่งและกระเทียมที่สกัดด้วยน้ำแล้วทำให้เข้มข้นด้วยวิธี freeze dryer เตรียมเชื้อ *Aeromonas hydrophila* จำนวน 8 ไอโซเลต และ *Streptococcus* spp. จำนวน 4 ไอโซเลต ที่แยกได้จากปลาป่วยในเขตจังหวัดขอนแก่นโดยวิธี microdilution broth method ใช้ *E. coli* (ATCC 25922) เป็นเชื้อควบคุมมาตรฐาน ทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดดังกล่าว โดยบันทึกค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ

**ผลการศึกษา** ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากใบฝรั่งและกระเทียมต่อ *Aeromonas hydrophila* เป็น 2.64, 13.24 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และต่อ *Streptococcus* spp. เป็น 17.58, 73.67 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

**ข้อสรุป** สารสกัดจากใบฝรั่งและจากกระเทียมที่สกัดด้วยน้ำ มีฤทธิ์ต้านจุลชีพในหลอดทดลองต่อเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus* spp. ที่แยกได้จากปลาป่วย

วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 2551;18(1):46-53

<http://vet.kku.ac.th/journal/>

**คำสำคัญ** : สารสกัดจากใบฝรั่ง สารสกัดจากกระเทียม *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus* spp.,  
ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ

<sup>1</sup> ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง จ.ขอนแก่น 40002

<sup>2</sup> ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง จ.ขอนแก่น 40002

<sup>3</sup> ภาควิชาเภสัชวิทยาวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

<sup>4</sup> ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง จ.ขอนแก่น 40002

<sup>5</sup> นักศึกษาสัตวแพทยศาสตร์ชั้นปีที่ 6 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

\* ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ: arinee@kku.ac.th

## บทนำ

ปัญหาโรคติดเชื้อในปลาเป็นปัญหาหนึ่งของอุตสาหกรรมการเลี้ยงปลา โรคติดเชื้อในปลาอาจเกิดจากเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญ ได้แก่ *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus* spp., *Vibrio* spp., *Edwardsiella* spp., *Yersinia* spp., *Renibacterium* spp. และ *Flexibacter* spp. เป็นต้น [1] โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *A. hydrophila* เป็นแบคทีเรียก่อโรคในปลาที่สำคัญในประเทศไทย พบได้ในแหล่งน้ำธรรมชาติ และจากบ่อเลี้ยงปลา [2] *A. hydrophila* เป็นแบคทีเรียรูปร่างเป็นแท่งสั้น ปลายมน ขนาด 1.0-4.4 ไมครอน ดัดสีแกรมลบ สามารถเคลื่อนที่ได้ เจริญได้ทั้งที่อุณหภูมิต่ำ 0-5 องศาเซลเซียส หรือที่อุณหภูมิสูง 38-41 องศาเซลเซียส และเจริญได้ดีที่ 20-30 องศาเซลเซียส ที่ระดับ pH 5.5-9.0 เชื้อสามารถก่อโรคเมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม ซึ่งจะมีผลให้ปลาเกิดความเครียด และติดเชื้อง่าย เชื้อนี้เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคในปลาต่างๆ เช่น ปลาไน ปลาทอง ปลาช่อน ปลาดุกด้าน ปลาน้ำทราย ปลาสรวย ปลากริม ปลากระดี่ ปลาดูระกูลปลานิล เป็นต้น [3]

สำหรับแบคทีเรียในสกุล *Streptococcus* เป็นแบคทีเรียรูปร่างกลม ซึ่งอาจเรียงตัวเป็นคู่หรือลูกโซ่ ดัดสีแกรมบวก ก่อโรคในมนุษย์และสัตว์หลายชนิด รวมทั้งในปลา และก่อให้เกิดความเสียหายเนื่องจากอัตราการตายสูงมากกว่าร้อยละ 50 ภายใน 3-7 วัน ปี ค.ศ.1957 พบรายงานโรคติดเชื้อ *Streptococcus* เป็นครั้งแรกในปลา rainbow trout ของประเทศญี่ปุ่น โดยปลาป่วยแสดงอาการว่ายน้ำที่ผิดปกติ (spiraling หรือ spinning) เนื่องจากสมองติดเชื้อ นอกจากนี้ อาจพบอาการตาโปน ท้องมาน ภาวะเลือดออก และลักษณะแผลเปื่อย หรือบางครั้งอาจไม่พบอาการเด่นชัดนอกจากการตายอย่างเฉียบพลัน [4]

ฝรั่ง (*Psidium guajava*, Linn.) เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ส่วนของใบแก่จะมีรสฝาด มีฤทธิ์ฝาดสมานแก้ท้องร่วง โดยมีสารแทนนินร้อยละ 8-15 ประกอบด้วย catechol, phyrogallol และน้ำมันหอมระเหยหลายชนิด เช่น aromadendrane,  $\beta$ -bisabolene, caryophyllene oxide, longicyclene และ tertiary sesquiterpene alcohol ซึ่งสารเหล่านี้อาจมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ และมีรายงานว่าสารแทนนินมีฤทธิ์ลดปริมาณการปล่อยเชื้อ *Salmonella* Enteritidis ในไก่ลูกผสมพื้นเมืองได้ [5] นอกจากนี้ ยังมีฤทธิ์ในการกำจัด *Zoothamnium* sp. และ *Vibrio* sp. ซึ่งเป็นโปรโตซัวและแบคทีเรียในกุ้งกุลาดำ [6]

กระเทียม (*Allium sativum*) เป็นพืชสมุนไพรสกุล *Allium* ซึ่งเป็นพันธุ์ไม้ล้มลุกเนื้ออ่อนอยู่ใต้ดิน [7] มีสรรพคุณเป็นสาร antimicrobial, antithrombotic, antitumor, hypolipidemic, antiarthritic, hypoglycemic และ antioxidant สามารถใช้รักษาและป้องกันโรคของระบบหัวใจและหลอดเลือด [8,9] ฤทธิ์ต้านจุลชีพของกระเทียมสามารถต้านทั้งแบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา และโปรโตซัว สารสำคัญในกระเทียมบดสดคือ allicin [10] ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับ thiol groups ของเอนไซม์ต่างๆ เช่น alcohol, dehydrogenase, thioredoxin reductase, RNA polymerase มีผลยับยั้งการสร้างโปรตีนกรดนิวคลีอิก การสร้างไขมัน และการเจริญของเชื้อ [11,12]

ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียในปลา เช่น การใช้คลอเตตราซัยคลินต่อเชื้อ *A. hydrophila* [13] การใช้ยาซัลฟาต่อ *A. hydrophila* ในปลาตู้กาด้าน ตลอดจนการใช้ยานาลิดีซิกแอซิด ไตรเมทโทพริม-ซัลฟา ไตรเมทโทกซิน และอิริโทรมัยซิน-โคลิสติน ต่อการติดเชื้อ *A. hydrophila* ในปลาคาร์พ [14] นอกจากนี้ยังมีการทดลองใช้ยาอะมิคาซิน เจนตามัยซิน โทบรามัยซินรักษาโรคติดเชื้อ *Aeromonas* ที่แยกได้จากมนุษย์และปลาจำนวน 120 สายพันธุ์อย่างได้ผลดี [15] แต่เนื่องจาก ยาปฏิชีวนะเป็นสารสังเคราะห์ อาจมีการตกค้างซึ่งมีผลต่อผู้บริโภค และอาจมีปัญหาการดื้อยาตามมา [13-17] นอกจากนี้ ปัญหาผลข้างเคียงของยาและราคาของยาปฏิชีวนะซึ่งค่อนข้างสูง ทำให้เพิ่มต้นทุนในการผลิตของเกษตรกรผู้เลี้ยงปลา ดังนั้น ถ้าสามารถนำสมุนไพรมาใช้ในการป้องกันหรือรักษาโรคในปลา จะมีผลลดการใช้สารเคมีหรือยาปฏิชีวนะซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงปลา และผู้บริโภค ดังนั้น วัตถุประสงค์ในการทดลองนี้ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบฝรั่ง และกระเทียมในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในปลา เช่น *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus* spp. ที่แยกได้จากท้องที่ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาในลำดับต่อไป

## วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

### การเตรียมสารสกัดจากใบฝรั่งและสารสกัดจากกระเทียม

วิธีการเตรียมสารสกัดจากใบฝรั่ง ดัดแปลงจากวิธีการของ Etuk and Francis [18] โดยใช้ใบฝรั่งแก่จัดสีเขียวเข้ม พันธุ์สีทอง ซึ่งปลูกในเขตจังหวัดขอนแก่น ล้างและผึ่งให้แห้ง ก่อนนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ และบั่นให้ละเอียด จากนั้น แขน้ำกั้นโดยใช้อัตราส่วนใบฝรั่ง 200 กรัม ในน้ำ 400 มิลลิลิตร ตั้งไว้ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง นำมาต้มนาน 10 นาที แล้วกรองผ่านผ้าก๊อชจำนวน 50 ชั้น นำส่วนใสที่กรองได้ซึ่งมีลักษณะเป็นสารละลาย สีน้ำตาล ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สารมีลักษณะเหนียวข้น สีค่อนข้างดำ หลังจากนำไปเข้าเครื่อง freeze dryer จะได้เป็นสารผงและเกล็ดแห้ง เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการทดสอบ

วิธีการเตรียมสารสกัดจากกระเทียม ใช้วิธีการของ อารินี และคณะ [19] โดยใช้กระเทียมพันธุ์ศรีสะเกษ นำมาปอกเปลือก หั่นเป็นชิ้นเล็ก แล้วบดให้ละเอียดในโถรงบดยา โดยใช้กระเทียม 30 กรัม ในน้ำ 30 มิลลิลิตร จากนั้น กรองด้วยผ้าก๊อชหนา 10 ชั้น นำสารละลายที่กรองได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบ/นาที นาน 5 นาที ส่วนใสที่ได้นำไปกรองผ่านหัวกรอง 0.45 และ 0.2 ไมโครเมตร ตามลำดับ เก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการทดสอบ

การเตรียมยาเจนตามัยซิน เตรียมช่วงความเข้มข้น 1.56-50, 0.03-1 และ 0.3-10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สำหรับ *A. hydrophila*, *Streptococcus* spp. และ *E. coli* (ATCC 25922) ตามลำดับ

### การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

ทำการเพาะแยกเชื้อ *A. hydrophila* และ *Streptococcus* spp. จากรอยโรคของปลานิลป่วย

ซึ่งเก็บจากปลาน้ำจืดในจังหวัดขอนแก่น จากนั้นเตรียมเชื้อ *A. hydrophila* ใน Mueller-Hinton broth และเชื้อ *Streptococcus* spp. ใน Brain heart infusion broth ความขุ่นเทียบเท่า 0.5 Mcfarland แล้วเจือจาง 100 เท่าในน้ำเกลือ ให้ได้ความเข้มข้นเชื้อ ประมาณ  $1 \times 10^6$  CFU/ml โดยมีเชื้อ *E. coli* (ATCC 25922) เป็นเชื้อควบคุมมาตรฐาน

#### การทดลองฤทธิ์ต้านจุลชีพและการอ่านผล

เตรียมสารสกัดจากใบฝรั่งและสารสกัดจากกระเทียม เจือจาง 2 เท่าตามลำดับ ในไมโครเพลท 96 หลุม ด้วย Mueller-Hinton และ BHI broth โดยเริ่มต้นด้วยสารสกัดและสารเจือจางอย่างละ 50 ไมโครลิตร เจือจางถึงหลุมที่ 10 ส่วนหลุมที่ 11 และ 12 เป็นหลุมควบคุมผลบวกและลบ โดยหลุมที่ 11 ประกอบด้วยเชื้ออย่างเดียวและหลุมที่ 12 ประกอบด้วย broth อย่างเดียว จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียลงในแต่ละหลุม นำไปอบที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง อ่านผลความขุ่นเทียบกับหลุมควบคุมผลบวกและลบ บันทึกผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ

#### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

บันทึกค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ โดยแต่ละเชื้อทำการทดลองอย่างน้อย 6 ซ้ำ แล้ววิเคราะห์เป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean  $\pm$  SD)

## ผลการศึกษา

สารสกัดจากใบฝรั่ง สารสกัดจากกระเทียม และเจนนตามัยซิน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* จำนวน 8 ไอโซเลต เชื้อ *Streptococcus* spp. จำนวน 4 ไอโซเลต และเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 เป็นเชื้อควบคุมมาตรฐานในกาทดสอบ โดยแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ ดังแสดงใน **Table 1**.

**Table 1** Minimal inhibitory concentration (MIC) of guava leaf and garlic extracts against *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus* spp. and *E. coli*

Bacteria	MIC $\pm$ SD		
	Guava leaf extract (mg/ml)	Garlic extract (mg/ml)	Gentamicin ( $\mu$ g/ml)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	2.64 $\pm$ 0.09	13.24 $\pm$ 1.25	3.58 $\pm$ 1.11
<i>Streptococcus</i> spp.	17.58 $\pm$ 1.01	73.67 $\pm$ 17.87	0.76 $\pm$ 0.10
<i>E. coli</i> ATCC 25922	25 $\pm$ 0	17.87 $\pm$ 6.90	0.31 $\pm$ 0

## วิจารณ์ และสรุป

จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากใบฝรั่งสามารถยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus* spp. และ *E. coli* ATCC 25922 โดยมีค่า MIC เท่ากับ 2.64, 17.58 และ 25 มก./มล. ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการทดลองของวัชรวิยา [6] ซึ่งพบว่า สารสกัดจากใบฝรั่งด้วย ethyl alcohol 95% สามารถกำจัด *Zoothamnium* sp. ในกึ่งกุลาดำ รวมทั้งยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Vibrio* ซึ่งผลยับยั้งเกิดจากสาร tannin ในใบฝรั่งสร้างพันธะโควาเลนต์ หรือพันธะไฮโดรเจน กับโปรตีน และ inactivate microbial adhesins, enzymes, cell envelope transport proteins เป็นต้น มีผลยับยั้งการเจริญของจุลชีพ [20]

สำหรับสารสกัดจากกระเทียม ประกอบด้วย allicin, ajoene มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย เชื้อรา และ โปรโตซัว [20] โดยกลไกการต้านจุลชีพเกิดจาก ปฏิกิริยาเคมีของ thiosulfinate กับ thiol group ที่ปรากฏใน essential proteins มีผลให้เอ็นไซม์สูญเสียการทำงานและยับยั้งการเจริญของจุลชีพ [21,22] ซึ่งการทดลองนี้ พบค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อสูงกว่าของอรุณีและคณะ [21] ทั้งนี้เนื่องจากวิธีการที่ใช้ในการสกัดกระเทียม สายพันธุ์ของกระเทียม อายุ ความแก่หรืออ่อน และฤดูกาล ซึ่งมีผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ นอกจากนี้ การสกัดกระเทียมด้วยน้ำให้ผลไม่ดีเท่าการสกัดด้วยสารเคมี เช่น อัลกอฮอล์ แต่เนื่องจากต้องการเน้นรูปแบบการสกัดที่ง่าย สะดวก และประหยัด เพื่อให้เกษตรกร ผู้เลี้ยงปลา สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ง่ายและต้นทุนต่ำ

สำหรับเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 ให้ผลค่า MIC ต่อเจนนตามัยซิน 0.31 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับมาตรฐานของ NCCLS [23] ซึ่งให้ผลไวต่อเจนนตามัยซิน < 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร กรณีสารสกัดจากกระเทียม ให้ค่า MIC ต่อเชื้อ *Streptococcus* spp. ค่อนข้างสูงกว่าเชื้ออื่น อาจเนื่องจากความไวของเชื้อต่อสารจากกระเทียม ซึ่งแต่ละเชื้ออาจมีความไวต่อสารสกัดแต่ละชนิดไม่เท่ากัน

การทดลองนี้ เป็นการทดลองฤทธิ์ต้านจุลชีพของใบฝรั่งและกระเทียม ซึ่งสกัดด้วยน้ำ และเป็น การทดลองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งพบว่า สารสกัดทั้งสอง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลาที่สำคัญในประเทศไทยได้ ดังนั้น ในการทดลองต่อไป อาจทำการศึกษารูปแบบของสารสกัดและการทดสอบผลการยับยั้งเชื้อ แบคทีเรียทั้งสองต่อตัวปลา โดยตรง ซึ่งจากค่า MIC ที่ได้จากการทดลองนี้ สามารถนำไปปรับใช้ในการทดลองต่อไป ดังนั้น การใช้สารสกัดจากสมุนไพรใบฝรั่งและจากกระเทียม อาจเป็นทางเลือกหนึ่ง ในอนาคตของเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาไทย

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผศ.ดร.สาทร พรตระกูลพิพัฒน์ หัวหน้าภาควิชาอายุรศาสตร์ ที่กรุณาอนุเคราะห์ และอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่อง Laboratory freeze dryer และขอขอบคุณ ผศ. เอกชัย

ภัทรพันธุ์วีเชียร หัวหน้าภาควิชาพยาธิชีววิทยา ที่กรุณาอำนวยความสะดวก ในการใช้อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการพยาธิชีววิทยา ตลอดจนคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนทุนวิจัยในการทดลอง

## เอกสารอ้างอิง

1. Carter GR, Cole JR. *Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology*. 5 th ed. San Diego: Academic Press. 1990.
2. สิทธิ บุญยรัตผลิน, จิราพร เกสรจันทร์, สุพจน์ เรือนวิโรจน์. โรคแผลอมหนองในปลาช่อน. *วารสารการประมง*. 2526;36(6):554-557.
3. วัชรียา ภูรีวิโรจน์กุล, นนทวิทย์ อารีชัยชน, ชาญชัย ภูักษ์เกียรติ. ปลาสิดและแบคทีเรียในลูกปลาบึก (*Paragasianodon gigas* Chevey). *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 2547;12(3):1-11.
4. Yanong PE, Floyd RF. Streptococcal Infections of Fish. Department of Fisheries and Aquatic Sciences [Internet]. Cooperative Extension Service, University of Florida. [cited 2008 Jan 25] Available from: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/FA/FA05700.pdf>
5. วสันต์ จันทรสนิท, สรรเพชญ์ อังกิตติตระกูล, พิทักษ์ น้อยเมล์, วารุณี รัตนพร. ผลของการสกัดหยาบจากใบฝรั่งในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Enteritidis ในไก่ลูกผสมพื้นเมือง. *วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข.* 2548;15(1):41-46.
6. วัชรียา ภูรีวิโรจน์กุล, สุรพล วิเศษสรรค์, นนทวิทย์ อารีชัยชน. ประสิทธิภาพของการสกัดพญาอและใบฝรั่งเพื่อควบคุม *Zoothamnium* sp. ในลูกกุ้งกุลาดำ ระยะ postlarva. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 2546;11(1):9-15.
7. วิทย์ เทียงบูรณธรรม. พจนานุกรมสมุนไพร. โรงพิมพ์ โอ เอส พรินต์ติ้งเฮาส์. 2531; หน้า 33-36.
8. Ali M, Thomson M, Afzal M. Garlic and onion : their effect on eicosanoid metabolism and its clinical relevance. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2000;62(2):55-73.
9. Thomson M, Ali M. Garlic [*Allium sativum*] : A review of its potential use as anticancer agent. *Curr Cancer Drug Target*. 2003;53(1):67-81.
10. Ankri S, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbs Infects*. 1999; 1(2):55-73.
11. Harris JC, Cottrel SL, Plummer S, Liloyd D. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Appl microbial biotechnol*. 2001;57(3):282-286.
12. Milner JA. Garlic: Its anticarcinogenic and antitumorogenic properties. *Nutrition Reviews*. 1996;54(11):82-86.

13. เกียรติศักดิ์ พูนสุข, เกียรติศักดิ์ สายธนู, โสมทัต วงศ์สว่าง. ความเข้มข้นของยาเตตราซัยคลิน ต่อเชื้อแอโรโมแนส ไฮโดรฟีลา. *เวชสารสัตวแพทย์*. 2527;14(4) :285-295.
14. บุญชัย ศิริศักดิ์วรรณ, โอภาส กุสุมายุทธ, สิทธิศักดิ์ เหมือนสิน. ผลงานยานาลิติซิด ไตรเมทโทพริม-ซัลฟาไดเมทท็อกซินและอีริโทรมัยซิน-โคลิสตินต่อโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแอโรโมแนส ไฮโดรฟีลา ในปลาการ์ฟ. *วารสารโรคสัตว์น้ำ*. 2532;10(1):3-7.
15. จุไรรัตน์ นิลกุล, ศรีสุรางค์ ตันติมาวานิช, ศสนีย์ สุขรุ่งเรือง. การทดสอบยาปฏิชีวนะต่อเชื้อ *Aeromonas* spp. ที่แยกได้จากปลาติดเชื้อ บ่อเลี้ยงปลา และคน. *สัตวแพทยสาร*. 2527;35(1): 39-45.
16. ชาตรี วีระพงษ์สิทธิกุล, สมชาย เบญจมเจริญกุล, ปรีชา เกียรติชูศักดิ์, จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์. ผลของยาปฏิชีวนะและซัลฟาต่อโรคที่เกิดจากเชื้อแอโรโมแนส ไฮโดรฟีลา ในปลาดุกบ้าน (*Clarias batrachus*). *วารสารโรคสัตว์น้ำ*. 2528;8(1):13-23.
17. Vivekanandhan G, Savithamani K. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from marked fish and prawn of South India. *Int Food Microbiol*. 2002;67(1-2):165-168.
18. Etuk EU, Francis UU. Acute toxicity and efficacy of *Psidium guajava* leaves water extract on *Salmonella typhi* infected wistar rats. *Pak J Biol Sci*. 2003;6(3):195-197.
19. อารินี ชัชวาลชลธีระ, นพมาศ ตระการรังสี, รวมพร โอนธรรม, ละอองทิพย์ ประภากร, สุทธิอาภา หลวงศรี. ผลของสารสกัดจากกระเทียมและหอมหัวใหญ่ในการยับยั้งเชื้อ *Candida albicans*. *วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข*. 2546;13(2):16-23.
20. Cowan MM. Plant Product as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999; pp. 564-582.
21. อรุณี บุตรตาสี, อารินี ชัชวาลชลธีระ, พิทยา ภาภิรมย์, วชิราภรณ์ กัมปนาวารวรรณ. การศึกษาผลของสารสกัดกระเทียมในการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่แยกได้จากปลา. *วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข*. 2548;15(1):1-5.
22. เฉษฐา จิวากานนท์, พิทยา ภาภิรมย์, อภัสรา วรราช, เนตรชนก จิวากานนท์. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียมในการต้านเชื้อจุลชีพที่ก่อโรคในไก่และสุกร. *วารสารสัตวแพทย์ มข*. 2546;13(2):24-37.
23. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, NCCLS). Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing ; sixteenth informational supplement. 2006;M100-S16: 23(3), p.1-179.

