

ผลของสารสกัดจากเปลือกทับทิม ใบชุมเห็ดเทศและใบฝรั่ง
ในการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophilla*
Efficacy of *Punica granatum* Linn., *Cassia alata* Linn.
and *Psidium guajava* Linn. extracts for inhibition of
Aeromonas hydrophilla

กฤดา ชูเกียรติศิริ¹ ภูิลก วงศ์เสถียร^{2*} อภิธาน ลามจิตกร¹
ศราวิน สินธพทอง¹ สุรชัย พิกุลแก้ว² รัชต์ ขัตติยะ²
สุนีย์ จันทร์สกา³
Kridda Chunkiatsiri¹ Dilok Wongsathein^{2*} Apithan Larpjit¹
Sarawin Sinthopthong¹ Surachai Pikulkaew² Rutch Khattiya²
Sune Chansakaow³

Abstract

Efficacy of pomegranate rind (*Punica granatum* Linn.), ringworm bush leaves (*Cassia alata* Linn.) and guava leaves (*Psidium guajava* Linn.) extracts for inhibition of *Aeromonas hydrophilla* by agar plate

¹ นักศึกษาชั้นปีที่ 6 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2546 ตำบลแม่เหียะ อำเภอเมืองเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50100

The 6th year student, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, 2003 Mae Hia, Muang, Chiang Mai, 50100

² อาจารย์ประจำหน่วยคลินิกสัตว์น้ำ สาขาวิชาคลินิกสัตว์บริโภคน คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตำบลแม่เหียะ อำเภอเมืองเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50100

Instructor of Aquatic Animal Clinic Section, Food Animal Clinic Department, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Mae Hia, Muang, Chiang Mai, 50100

³ อาจารย์ประจำสายวิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตำบลสุเทพ อำเภอเมืองเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

Instructor of Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University, Suthep, Muang, Chiang Mai, 50200

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Corresponding author

dilution, isolated from goldfish was studied. The minimum inhibitory concentrations (MIC) of pomegranate rind, ringworm bush leaves and guava leaves extracts *in vitro* were 0.312, 5 and 0.625 mg/ml, respectively. From this study we can have the possibility of herbal extract using as an antimicrobial agent and an alternative choice in treatment of ornamental fish diseases.

Key words : *Punica granatum*, *Cassia alata*, *Psidium guajava*, *Aeromonas hydrophilla*, Goldfish

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกทับทิม (*Punica granatum* Linn.) ใบชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata* Linn.) และใบฝรั่ง (*Psidium guajava* Linn.) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* ที่แยกได้จากปลาทอง โดยวิธี agar plate dilution พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) ของสารสกัดจากเปลือกทับทิม ใบชุมเห็ดเทศ และใบฝรั่ง คือ 0.312, 5 และ 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากผลการศึกษาทำให้ทราบถึงความเป็นไปได้ที่จะนำสมุนไพรมาใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในสัตว์น้ำ และเป็นแนวทางในการลดการใช้สารเคมีในการรักษาโรคในปลาสวยงามต่อไป

คำสำคัญ : เปลือกทับทิม ใบชุมเห็ดเทศ ใบฝรั่ง แอโรโมนเนส ไฮโดรฟิลลล่า ปลาทอง

บทนำ

แอโรโมนเนส ไฮโดรฟิลลล่า (*Aeromonas hydrophilla*) เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ มีแฟลกเจลลา พบได้ทั่วไปตามแหล่งธรรมชาติ โดยเฉพาะในประเทศเขตร้อน สามารถก่อโรคในสัตว์น้ำจืดทั่วไป เช่น ปลา กบ กุ้ง เต่า จระเข้ และในคนแต่พบไม่บ่อยนัก (Austin and Austin, 1999; Robert, 2001) ในปลาสามารถทำให้เกิดโรคเฮโมราจิก เซพติซีเมีย (Haemorrhagic septicemia) ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายเป็นอย่างมาก (Austin and Austin, 1999) อาจพบอาการตั้งแต่เกิดการตายอย่างรวดเร็วและเป็นจำนวนมากโดยไม่แสดงอาการภายนอก จนกระทั่งพบอาการท้องบวมน้ำ เกิดแผลหลุม จุดเลือดออก กลัดตั้งพอง และ/หรือตาโปนได้ (Austin and Austin, 1999; Noga, 1996) สำหรับการรักษา

ส่วนใหญ่จะใช้ยาปฏิชีวนะ เช่น chlortetracycline, oxytetracycline, chloramphenicol, trimethoprim-sulfadimethoxine, nifurpirinol, amikacin, gentamicin, enrofloxacin เป็นต้น แต่ปัจจุบันเกิดปัญหาผลข้างเคียงของยาและการดื้อยา รวมทั้งการตกค้างในเนื้อเยื่อและสิ่งแวดล้อม (จุไรรัตน์ และคณะ, 2527; เกียรติศักดิ์ พูนสุข และคณะ, 2528; ชาตรี และคณะ, 2528; Noga, 1996; Woo and Bruno, 1999; Vivekanandhan and Savithamani, 2002)

ปัจจุบันการใช้สมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ จึงเป็นทางเลือกหนึ่งเพื่อการรักษาโรค ยกตัวอย่างเช่น ทับทิม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Punica granatum* Linn. ชื่อสามัญคือ Pomegranate การสกัดด้วย 95% ethanol จะได้สาร tannins และ alkaloids ซึ่งมีผลในการช่วยสมานแผลและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ

แบคทีเรียได้ในคน เช่น *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* (เอมอร์ และคณะ, 2533) ในทางการแพทย์แผนโบราณจะใช้ส่วนของเปลือกในการรักษาโรคท้องเสียเรื้อรังและโรคที่เกี่ยวข้องกับลำไส้ (รุ่งระวี และคณะ, 2542) โดยพบว่า สารสกัดจากเปลือกทับทิมสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคแกรมลบรูปแท่ง ได้แก่ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella boydii* และ *Salmonella london* (ตรีชฎา และคณะ, 2548) ชุมเห็ดเทศ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cassia alata* Linn. ชื่อสามัญคือ Candle tree, Candelabrum bush หรือ Ringworm bush การสกัดด้วย 95% methanol จะได้สาร anthraquinones, flavonoids และ tannins ซึ่งมีผลในการช่วยสมานแผลและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ในคน (Ibrahim and Osman, 1995) ในทางการแพทย์แผนโบราณจะใช้ในการรักษาโรค ringworm, herpes และโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร (Khan et al., 2001) ส่วนในสัตว์น้ำพบว่าสารสกัดจากชุมเห็ดเทศสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคหัวเหลืองในกึ่งกุลาดำได้ (สถาพร และคณะ, 2539) ฝรั่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Psidium guajava* Linn. ชื่อสามัญคือ Guava การสกัดด้วย 95% ethanol จะได้สาร tannins และ terpenoids ซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ในคน เช่น *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Vibrio parahaemolyticus* (จริยา และคณะ, 2532; รุ่งระวี และคณะ, 2542) ในทางการแพทย์แผนโบราณจะใช้ในการรักษาโรคอุจจาระร่วง (จริยา และคณะ, 2532) ส่วนในสัตว์น้ำพบว่าสารสกัดจากใบฝรั่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัสที่ก่อโรคในกึ่งกุลาดำ

(สถาพร และคณะ, 2535; สถาพร และคณะ, 2541) และเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคตัวแดงดวงขาวในกึ่งกุลาดำได้ (สถาพร และคณะ, 2540) แต่ไม่มีผลต่อแอนติบอดีไตเตอร์ในปลากระพงขาว (สถาพร และคณะ, 2543) อย่างไรก็ตามสมุนไพรดังกล่าวยังไม่พบรายงานในปลาสวยงามและการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อ *A. hydrophila*

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นต่ำสุด (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) ของสารสกัดจากเปลือกทับทิม ใบชุมเห็ดเทศและใบฝรั่งในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. hydrophila* ที่แยกได้จากปลาทองในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) เพื่อเป็นแนวทางในการใช้สมุนไพรหรือลดการใช้สารเคมีในการรักษาโรคในปลาสวยงามต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ขั้นตอนและวิธีการเตรียมสมุนไพร

สมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ เปลือกทับทิม (จากผลที่แก่แล้ว) ใบชุมเห็ดเทศและใบฝรั่ง (ไม่อ่อนหรือแก่เกินไป ที่เรียกว่า “ใบสลาด” และเก็บในช่วงก่อนออกดอก) นำสมุนไพรทั้งสามชนิดมาล้างทำความสะอาด ผึ่งให้แห้งแล้วอบในตู้ (Incubator) 40-50 °C เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปบดให้ละเอียด จากนั้นใส่ลงใน Thimble ซึ่งเย็บจากกระดาษสาแล้วประกอบเข้ากับชุด Soxhlet extractor โดยเปลือกทับทิมและใบฝรั่งจะใช้ 95% ethanol เป็นตัวสกัด (Prashanth et al., 2001; Direkbusarakom, et al., 1998) ส่วนใบชุมเห็ดเทศจะใช้ 95% methanol เป็นตัวสกัด (Khan et al., 2001) ด้วยวิธีการสกัดต่อเนื่อง (Continuous extraction) สารสกัดที่ได้จะละลายอยู่ในแอลกอฮอล์ที่ใส่สกัด

จากนั้นนำไประเหยแอลกอฮอล์ด้วย Rotary evaporator แล้วเก็บใส่ขวดแก้วปิดฝาให้สนิท หลังจากนั้นละลายสารสกัดที่ได้ในตัวทำละลายเดิม แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้มีความเข้มข้น 10 mg/ml แล้วทำการเจือจางสารสกัดแบบ serial 2-fold dilution ให้มีความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบตั้งแต่ 0 ถึง 10 mg/ml

ขั้นตอนและวิธีการเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เชื้อ *A. hydrophilla* ที่แยกได้จากปลาทองที่แสดงอาการป่วยเป็นแผลหลุม จำนวน 3 ตัวอย่าง (Quinn, 1999; Woo and Bruno, 1999) นำไปเพาะเชื้อลงใน Mueller Hinton Agar (MHA) (Ferraro, M.J. 2000) และเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

ขั้นตอนและวิธีการทดสอบ Minimum Inhibitory Concentration; MIC

หาระดับความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดจากสมุนไพรแต่ละชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. hydrophilla* ด้วยวิธี Agar plate dilution โดยการเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้น 10 mg/ml แล้วลดลงทีละสองเท่า (serial 2-fold dilution) นำมาผสมกับ MHA ในอัตราส่วน 1:10 (สารสกัด 2 ml : MHA 18 ml) ให้เข้ากันแล้วเทลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อรอจนกระทั่งอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว ทำการแบ่งพื้นที่ออกเป็น 5 ส่วน นำเชื้อ *A. hydrophilla* ทั้ง 3 ตัวอย่างข้างต้น *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ซึ่งเป็นเชื้อ control media มาปรับปริมาณเชื้อให้เป็น Standard Mcfarland No. 0.5 (ปริมาณเชื้อ 10^8 cfu/ml) แล้ว

นำไปเจือจางให้เป็น 10 เท่าด้วย 0.9% Normal saline จะได้เชื้อปริมาณ 10^7 cfu/ml จากนั้นใช้ micropipette ขนาด 2 ตล ดูดเชื้อมาหยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อส่วนละ 4 จุด (1 ส่วนต่อเชื้อ 1 ชนิด) จะได้เชื้อปริมาณแต่ละจุดเป็น 10^4 cfu (Murry, et al., 1999) แล้วนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C นาน 24 ชั่วโมง (Fosse, et al., 2003) ทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง อ่านผลจากระดับความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดจากสมุนไพรแต่ละชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ โดยเทียบกับกลุ่มควบคุมคือ ethanol, methanol ที่มีความเข้มข้นต่างๆ และ MHA 100%

ผลการทดลอง

ลักษณะ สี และเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดที่ได้ (% yield) โดยน้ำหนัก (w/v) จากสมุนไพรแต่ละชนิดพบว่าเปลือกทับทิมมีลักษณะเป็นของเหลวสีน้ำตาลแดง เหนียวหนืดและเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดที่ได้คือ 34.09 ส่วนในชั่งเห็ดเทศและใบฝรั่งมีลักษณะเป็นของเหลวสีเขียวเข้ม เหนียวหนืดและเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดที่ได้คือ 33.71 และ 38.12 ตามลำดับ

ระดับความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดจากสมุนไพรแต่ละชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. hydrophilla* ด้วยวิธี Agar plate dilution (ตารางที่ 1, 2 และ 3)

สรุปและวิจารณ์

สารสกัดจากเปลือกทับทิมสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. hydrophilla* ได้ดีที่สุดคือ 0.312 mg/ml และมีความสอดคล้องกับการศึกษา

ตารางที่ 1 แสดงระดับความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดจากเปลือกทับทิม

ชนิดของเชื้อแบคทีเรีย	MHA	Ethanol (%)			สารสกัดจากสมุนไพรมะนาว (mg/ml)							
	100%	6.25	12.5	25	0	0.156	0.312	0.625	1.25	2.5	5	10
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>A. hydrophilla</i> 1	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>A. hydrophilla</i> 2	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>A. hydrophilla</i> 3	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

เครื่องหมาย + สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้
 - ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้

ตารางที่ 2 แสดงระดับความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศ

ชนิดของเชื้อแบคทีเรีย	MHA	Methanol (%)			สารสกัดจากสมุนไพรมะนาว (mg/ml)							
	100%	6.25	12.5	25	0	0.156	0.312	0.625	1.25	2.5	5	10
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>A. hydrophilla</i> 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>A. hydrophilla</i> 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>A. hydrophilla</i> 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

เครื่องหมาย + สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้
 - ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้

ตารางที่ 3 แสดงระดับความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดจากใบฝรั่ง

ชนิดของเชื้อแบคทีเรีย	MHA	Ethanol (%)			สารสกัดจากสมุนไพรมะนาว (mg/ml)							
	100%	6.25	12.5	25	0	0.156	0.312	0.625	1.25	2.5	5	10
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>A. hydrophilla</i> 1	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>A. hydrophilla</i> 2	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>A. hydrophilla</i> 3	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

เครื่องหมาย + สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้
 - ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้

ของตรีชฎา และคณะ (2548) ซึ่งพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่งได้ในช่วง 0.09 ถึง 3.13 mg/ml รองลงมาเป็นใบฝรั่งและใบชุมเห็ดเทศคือ 0.625 mg/ml และ 5 mg/ml ตามลำดับ โดยสอดคล้องกับข้อมูลที่ว่าสารสกัดทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบได้ (Prashanth *et al.*, 2001) ส่วนกลุ่มควบคุมที่ใช้ ethanol, methanol และอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียว พบว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้

อย่างไรก็ตาม การนำสมุนไพรดังกล่าวไปใช้ในการรักษาโรคปลาสวยงาม อาจขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิด ขนาด น้ำหนัก สภาพร่างกายสัตว์ การจัดการ สิ่งแวดล้อม คุณภาพน้ำ รวมทั้งแหล่งที่เก็บและสภาวะแวดล้อมในการเพาะปลุกสมุนไพรอันจะส่งผลต่อลักษณะ ส่วนประกอบ ปริมาณ และคุณภาพของสมุนไพรแต่ละชนิดด้วย (Nimiri *et al.*, 1999; Lin *et al.*, 1999) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาถึงปัจจัยที่จะมีผลต่อการรักษาโรคติดเชื้อ *A. hydrophila* ในปลาสวยงามหลังได้รับสมุนไพรดังกล่าวและความเป็นพิษที่จะเกิดขึ้นต่อปลา เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาสมุนไพรให้มีประสิทธิภาพ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้อย่างถูกต้องเหมาะสม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนทุนเพื่อทำการวิจัยในครั้งนี้ เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่กรุณาให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการสกัดสารจากสมุนไพร อ.สพญ.ดวงพร พิษผล และ

ผศ.นสพ.ดร.ภาวิน ผดุงทศ อาจารย์ประจำสาขาวิชาสัตว-แพทยศาสตร์สาทรณสุข นักวิทยาศาสตร์ประจำสาขาวิชาสัตว-แพทยศาสตร์สาทรณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ อำนวยความสะดวกและให้ความอนุเคราะห์ทั้งเรื่องสถานที่ เครื่องมือ และอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการวิจัย ตลอดจนความช่วยเหลือที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัยทั้งหมด

เอกสารอ้างอิง

- เกรียงศักดิ์ พูนสุข เยาวภา เจริญลินจันทร์ และสมชาย วรวงษ์วิวัฒน์. 2528. การศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดของยาปฏิชีวนะ 4 ชนิดต่อเชื้อ แอโรโมนาส ไฮโดรฟีลา. วารสารโรคสัตว์น้ำ. 8(1) : 28-34.
- จริยา สินเดิมสุข สมเกียรติ ดีกิจเสริมพงศ์ และวีณา จารุปริชาชาญ. 2532. เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการรักษาโรคอุจจาระร่วงระหว่างใบฝรั่งและเปลือกมังคุด. วารสารเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 16(2) : 32.
- จุไรรัตน์ นิลกุล ศรีสุรางค์ ตันติมาวานิช และศมนีย์ ศุขรุ่งเรือง. 2527. การทดสอบยาปฏิชีวนะต่อเชื้อ *Aeromonas spp.* ที่แยกได้จากปลาติดเชื้อบ่อเลี้ยงปลาและคน. สัตวแพทยสาร. 35(1) : 39-45.
- ชาติรี วีระพงษ์สิทธิกุล สมชาย เบญจมาเจริญกุล ปรีชา เกียรติชูศักดิ์ และจิระศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์. 2528. ผลของยาปฏิชีวนะและซัลฟาต่อโรคที่เกิดจากเชื้อแอโรโมนาส ไฮโดรฟีลาในปลาตุ๊กตาด่าน (*Clarias batrachus*). วารสารโรคสัตว์น้ำ. 8(1) : 13-23.

- ตรีชฎา ศิริรักษ์ ถนอมจิต สุภาวิตา กานดา ปานทอง และศุภยงค์ วรวิมลคุณชัย. 2548. ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกผลทับทิม (*Punica granatum*) ต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคกลุ่ม Gram-negative bacilli. ว.สงขลานครินทร์ วทท. 27 (ฉบับพิเศษ 2) : 535-544.
- รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล วงศ์สถิตย์ ชั่วกุล สมภพ ประธานธูรารักษ์ พร้อมจิต ศรีลัมภ์ วิชิต เปา นิล และนพมาศ สุทธธ-เจริญนนท์. 2542. สมุนไพร : ยาไทยที่ควรรู้. สยามบุ๊คส์ แอนด์ พับลิเคชัน, กรุงเทพฯ. 176 หน้า.
- สถาพร ดิเรกบุษราคม และอุษณีย์ เอกปนิธาน พงศ์. 2535. ผลของสารสกัดหยาบจากใบฝรั่ง ต่อเชื้อไวรัสที่แยกจากกึ่งกลางดำที่เป็นโรค. รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2535 กรมประมง 16-18 กันยายน 2535 : 259-262.
- สถาพร ดิเรกบุษราคม อังคณา หิรัญสาลี และสมพร รุ่งกำเนิดวงศ์. 2539. ฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรแก้ขนิตต่อเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคหัวเหลืองในกึ่งกลางดำ. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 6/2539.
- สถาพร ดิเรกบุษราคม เครือวัลย์ อ่อนทอง สมพร รุ่งกำเนิดวงศ์ และนิพัทธ์ โชติการ. 2540. ฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรบางชนิดต่อเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคตัวแดงดวงขาวในกึ่งกลางดำ. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35 3-5 กุมภาพันธ์ 2540 : 145-150.
- สถาพร ดิเรกบุษราคม ชาญเดช วังสะวิบูลย์ และเยาวนิตย์ ดนยดล. 2541. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบฝรั่งและอีอกซีเตตราซัยคลินในการกำจัดแบคทีเรียแรงแสงในกึ่งกลางดำ. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36 3-5 กุมภาพันธ์ 2541 : 144-151.
- สถาพร ดิเรกบุษราคม เยาวนิตย์ ดนยดล และเครือวัลย์ อ่อนทอง. 2543. ผลของใบฝรั่งต่อแอนติบอดีโตเตอร์ในปลากระพงขาว. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38 1-4 กุมภาพันธ์ 2543. เอมอร์ โสมนะพันธ์ นพมาศ สรรพคุณ วิณา จิรัจจวิทยากุล และอ้อมบุญ ล้วนรัตน์. 2533. ยาจากสมุนไพร. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ. 316 หน้า
- Austin, B. and Austin, D.A. 1999. Bacterial fish pathogens : disease of farmed and wild fish. 3rd ed. Praxis publishing, Chichester. UK. 457 p.
- Direkbusarakom, S., Ezura, Y., Yoshimizu, M. and Herunsalee, A. 1998. Efficacy of Thai traditional herb extracts against fish and shrimp pathogenic bacterial. Fish Pathol. 33 : 437.
- Ferraro, M.J. 2000. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. NCCLS. 20 : 5-7.
- Fosse, T., Morin, C.G. and Madinier, I. 2003. Induce colistin resistance as an identifying marker for *Aeromonas phenospecies* group. Letters in Applied Microbiology. 36 : 25.
- Ibrahim, D. and Osman, H. 1995. Antimicrobial activity of *Cassia alata* from Malaysia. J Ethnopharmacol. 45 : 151.
- Khan, M.R., Kihara, M. and Omoloso, A.D. 2001. Antimicrobial activity of *Cassia alata*. Fitoterapia. 72 : 561.
- Lin, J., Opoku, A.R., Geheeb-Keller, M., Hutchings,

- A.D., Terblanche, S.E., Jager, A.K. and Staden, J. 1999. Preliminary screening of some traditional zulu medicinal plants for anti-inflammatory and anti-microbial activities. *J. Ethnopharmacol.*, 68 : 267-274.
- Murry, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C. and Tenover, R.H. 1999. *Manual of clinical microbiology*. 7th ed. American Society for Microbiology, Washington D.C. pp. 1527-1529.
- Nimiri, L.F., Meqdam, M.M. and Alkofahi, A. 1999. Antibacterial activity of Jordanian medicinal plants. *Pharmaceu Biol.*, 37 : 196-201.
- Noga, E.J. 1996. *Fish disease : diagnosis and treatment*. Mosby-Year book, St. Louis. USA. 367 p.
- Prashanth, D., Asha, M.K. and Amit, A. 2001. Antibacterial activity of *Punica granatum*. *Fitoterapia* 72 : 171-173.
- Quinn, P.J. 1999. *Clinical veterinary microbiology*. Wolfe, London. UK. 648 p.
- Robert, R.J. 2001. *Fish pathology*. 3rd ed. WB Saunders, London. England. 472 p.
- Vivekanandhan, G. and Savithamani, K. 2002. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophilla* isolated from marketed fish and prawn of South India. *Int Food Microbiol.* 67(1-2) : 165-168.
- Woo, P.T.K. and Bruno, D.W. 1999. *Fish diseases and disorders*. Vol. 3. Viral, Bacterial & Fungal infections. CAB International, Wallingford : UK. 874 p.