

دراسة فعالية مستخلص اوراق نبات السنامي *Senna alata* ضد الفطريات الجلدية،
مختبريا..... عادل عدنان علي

دراسة فعالية مستخلص اوراق نبات السنامي *Senna alata* ضد الفطريات الجلدية، مختبريا

عادل عدنان علي

معهد الهندسة الوراثية والتقانات الاحيائية للدراسات العليا

جامعة بغداد

الخلاصة

تم دراسة فعالية مستخلص اوراق نبات السنامي *Senna alata* ضد الفطريات الجلدية dermatophytes مختبريا، وقد تم تقييم كفاءة المستخلص الكحولي باستخدام الكحول الايثلي ethanolic extract للاوراق ضد الفطريات الجلدية التابعة للاجناس *Trichophyton* ، *Microsporum* و *Epidermophyton* والتي تسبب انواعا مختلفة من الامراض الجلدية dermatophytosis التي تصيب الاجزاء المختلفة من الجسم وتشمل قوباء الرأس *Tinea capitis*، القوباء الوركية *Tinea cruris* ، قوباء الجسم *Tinea corporis* وقوباء القدم *Tinea pedis*.

لقد بينت نتائج هذه الدراسة بأن مستخلص اوراق نبات السنامي لها تأثير قوي كمضاد فطري antifungal ضد كل من الفطريات *Trichophyton* ، *Microsporum canis* ، *T. mentagrophytes* ، *rubrum* و *Epidermophyton flucosum* . ان المستخلص الكحولي باستخدام الايثانول قد اظهر اعلى درجة تثبيط في الفطر *T. rubrum* والفطر *E. flucosum* بمنطقة تثبيط 20.50 و 20.00 ملم، على التوالي. تم حساب التركيز المثبط الادنى (MIC) وقد اظهرت النتائج بان التركيز المثبط الادنى لمستخلص اوراق السنامي لجميع الفطريات الجلدية المدروسة كان 5.0 ملغم/مل.

المقدمة Introduction

دراسة فعالية مستخلص اوراق نبات السنامكي *Senna alata* ضد الفطريات الجلدية، مختبرياً..... جليل حدنان علي

في السنوات الحالية، نال البحث في النباتات الطبية اهتماما كبيرا في جميع دول العالم، من خلال دراسة المجتمعات التي تستخدم الطب التقليدي في علاج السكان باستخدام الاعشاب الطبية، وكذلك نظم الطب البديل والمتكامل لعلاج الامراض البشرية (Sher, 2009).

لقد استخدمت النباتات الطبية لعدة قرون من الزمن في علاج الامراض لاحتوائها على مكونات ذات فعالية علاجية، وحاليا فان بعض منتجات النباتات الراقية قد جذب اهتمام العلماء للبحث عن بعض المواد الكيميائية النباتية phytochemicals التي تعمل كمضادات ميكروبية antimicrobial وبعض تلك المنتجات النباتية تتحلل طبيعيا من قبل الاحياء الدقيقة في البيئة وتكون آمنة لصحة الانسان (Kumar وجماعته ، 2008 و Wnag وجماعته، 2010).

في افريقيا اليوم، فان اكثر من 80% من المجتمع يستخدم الطب التقليدي في علاج الكثير من الامراض المستوطنة (WHO، 2006)، كما ان ملايين الناس في الدول المتقدمة في امريكا واوروبا وعلى الرغم من التطور الهائل في صناعة الادوية والعقاقير، فانهم يعودون الى المعالجة بالطب التقليدي باستخدام الاعشاب (WHO، 2006) لغرض تفادي الاعراض الجانبية وكذلك تجاوز ظهور صفة المقاومة resistance للكثير من المضادات الحياتية antibiotics ضد مسببات المرضية، اذ ان الكثير من تلك المضادات "وخاصة بالاستخدام المتكرر" تؤدي الى ضعف جهاز المناعة immunosuppression اضافة الى التحسس المفرط من استخدامها hypersensitivity.

لغرض السيطرة على الامراض المتسببة عن الميكروبات، فقد استخدمت العديد من العقاقير المصنعة كيميائيا، ولكن بسبب الاستخدام المتزايد لها، فان العديد من مسببات المرضية قد طورت آليات لمقاومة تلك المضادات المصنعة. ولغرض مواجهة الميكروبات والتغلب على صفة المقاومة، فقد تم تصنيع ادوية جديدة بديلة من مصادر نباتية طبيعية (Upadhyay وجماعته، 2010).

في الدول النامية الفقيرة التي تعجز عن دفع تكاليف الطب الحديث، فهناك حاجة ماسة للبحث عن مصادر علاجية من خلال النباتات والاعشاب التي يستخدمها سكان تلك الدول لعلاج الامراض. وبهذا فان الباحثين يقومون بدراسات مستمرة لايجاد نباتات طبية لغرض تطوير البحوث والحصول على افضل عقاقير طبية لاستخدامها في علاج الامراض بشكل متكامل (Usman و Osuji، 2007).

دراسة فعالية مستخلص اوراق نبات السنامي *Senna alata* ضد الفطريات الجلدية، مختبرياً..... جليل حدنان ملي

ان السنأ (السنامي) *Senna alata* هو عبارة عن شجيرة shrub تستخدم في بعض البلدان للزينة اضافة الى استخدامها في علاج الكثير من الاصابات والامراض ومنها الامراض الجلدية الفطرية والطفيلية (Palanichamy و Nagorajon، 1990) كذلك يستخدم نبات السنامي في علاج البواسير haemorrhoids، حالات الامساك constipation، الفتق الأربي inguinal hernia، طفيليات الامعاء intestinal parasites، السيلان المخاطي blennorrhagia، داء السفلس Syphilis والسكري (Abo) diabetics وجماعته، 1998 ; Adjanahoun وجماعته، 1991). وقد جاء عن الامام جعفر الصادق عليه السلام عن النبي (صلى الله عليه وسلم) ان السنامي هو "سيد الادوية" (محسن، 2008). وقد قال الامام الصادق عليه السلام "لو علم الناس ما في السنأ لقاتلوا كل منقال منه، بمنقالين من ذهب"

ان اوراق السنامي تستخدم في علاج الاختلاج convulsion، قصور القلب heart failure، آلام البطن abdominal pain، الارتشاح oedema (تجمع السوائل تحت الجلد) وكذلك فانه فعال جدا في علاج الامراض الجلدية الفطرية (Ogunti) dermatophytosis و (Elujobi، 1993).

في دراسة مشابهة في ماليزيا من قبل Ibrahim و Osman (1995) قد وجد بان المستخلص الكحولي باستخدام الايثانول لاوراق نبات السنأ، قد اظهر فعالية كبيرة ضد الفطريات الجلدية dermatophytes ومنها الفطريات *Trichophyton mentagrophytes*، وكذلك *Trichophyton rubrum*، *Microsporum gypseum* وجماعته Akinyemi وجماعته (2000) قد اكدت فعالية اوراق نبات السنأ كعلاج طبي عشبي. لقد اشار Adebayo وجماعته (1999) بان التركيز التثبيطي الادنى MIC للمستخلص النباتي كان قليلا لجميع انواع الفطريات التي درسها ما عدا للفطر *Aspergillus niger*.

لقد وجد من خلال الدراسات، بان فعالية نبات *Senna alata* كمضاد ميكروبي antimicrobial، تعود الى وجود العديد من المركبات الفعالة مثل الفينولات phenols، التانينات tannins، السابونينات saponins، القلويدات alkaloids، الستيرويدات steroids، الفلافينات flavonoids والكاربوهيدرات carbohydrates.

لقد اظهر المستخلص الايثانولي ethanolic والميثانولي methanolic extract لنبات السنأ تأثيرا مضادا للميكروبات طويل المدى ضد الفطريات والخمائر مثل *Candida albicans*،

دراسة فعالية مستخلص اوراق نبات السنامي *Senna alata* ضد الفطريات الجلدية،
مفتريا ملل مدنان ملي

للاوراق في 100 مل ماء مقطر للحصول على تركيز 10 ملغم/مل وخلط جيدا للحصول على
محلول متجانس لكي يعطي قراءة دقيقة للجهاز.

دراسة فعالية مستخلص اوراق نبات السنامكي *Senna alata* ضد الفطريات الجلدية،
مختبرياً..... عادل حدنان ملي

تقييم فعالية المستخلص الخام كمضاد فطري antifungal

استخدم كل من الوسط الصلب والوسط السائل لتقييم فعالية المستخلص الخام لاوراق السنا كمضاد فطري ضد انواع الفطريات الجلدية المستخدمة في هذه الدراسة. حضرت عوالق من كل من الانواع الفطرية بتركيز 1.5×10^8 خلية حية/مل باتباع طريقة Atlas وذلك بنقل جزء من المستعمرة الفطرية النامية على وسط (SGA) الى انبوية اختبار حاوية على 10 مل nutrient broth المعقم، وحضنت مدة 24 ساعة عند درجة حرارة 25-30 °م. اجريت بعدها سلسلة من التخفيف وكانت الكثافة الضوئية 0.5 نانومتر لكل تخفيف باستخدام جهاز المطياف الضوئي spectrophotometer على طول موجي 540 نانومتر واخذ 100 مايكرو لتر من كل تخفيف وزرع على وسط (SGA) باستخدام ناشر زجاجي معقم spreader وحضنت الاطباق مدة 24 ساعة ثم حسبت اعداد الخلايا.

حضرت تراكيز من المستخلص الايثانولي لاوراق السنا (0.325 و 0.625 ، 2.5 ، 5.0) ملغم/مل.

وتم نشر 200 مايكرو لتر من عالق الفطريات على وسط (SGA) باستخدام ناشر زجاجي معقم بجميع الاتجاهات وبشكل متساوي، ثم تركت لتجف، وباستخدام ثاقب فليبي معقم (بقطر 5 ملم) ثم عمل حفرة well في مركز الطبق الحاوي على الوسط الزراعي الملقح بكونيدات الفطر. اضيف 100 مايكرو لتر بواسطة كل من التراكيز المحضرة اعلاه للمستخلص الايثانولي، اضافة الى معاملة السيطرة، وتم استخدام ثلاث مكررات لكل نوع فطري.

كما استخدم عقار Clotrimazole المضاد للفطريات كعقار قياسي standard drug. اذ تم اذابة 100 ملغم منه في 100 مل من الماء المقطر، للمقارنة بين فعالية العقار القياسي وبين المستخلص الايثانولي لاوراق السنا، تركت الاطباق بعدها لفترة عدة دقائق ثم حضنت عند درجة حرارة الغرفة (25±2)°م لمدة 5 ايام. بعدها تم قياس اقطار مناطق التثبيط inhibition zones.

تحديد التركيز التثبيطي الادنى (MIC) لمستخلص الاوراق الخام

تم تحديد التركيز التثبيطي الادنى (MIC) باستخدام طريقة التخفيف broth dilution method كما وصفت من قبل Altas (1995). حيث تم وزن 1 غم من المستخلص واذيب في 100 مل من المذيب (الكحول الايثيلي) للحصول على تركيز 10 ملغم/مل. بعدها تم اجراء تخفيف من هذا المحلول للحصول على تراكيز (0.325 و 0.625 ، 2.5 ، 5.0) ملغم/مل.

مجلة كاية 748

دراسة فعالية مستخلص اوراق نبات السنامي *Senna alata* ضد الفطريات الجلدية، مختبرياً..... عادل عدنان علي

استخدمت اربع مجاميع من انابيب الاختبار لانواع الفطريات الجلدية الاربعة المختلفة. كل مجموعة تألفت من سبع انابيب اختبار. وتم ترقيم كل مجموعة من (01-7) وتم تغطية المجموعة المؤلفة من سبع انابيب اختبار باستخدام القطن المعقم.

تم نقل 9 مل من الوسط المغذي السائل nutrient broth المعقم والمحضر مسبقا الى كل انبوبة اختبار. واضيف لكل منها 1 مل من المستخلص الكحولي السائل ، واضيف 1 مل من مزرعة الفطريات الجلدية الى كل من انابيب الاختبار الستة الاخرى. وتمت هذه العملية للانواع الاربعة من الفطريات اما معاملة السيطرة الموجبة positive control تمت باستخدام 1 مل من المستخلص الكحولي السائل بدون التلقيح بالفطريات الجلدية المدروسة.

تم تغطية جميع انابيب الاختبار المستخدمة بقطن معقم وحضنت عند درجة حرارة 25°م لمدة 48 ساعة. بعدها تم الكشف عن النمو الفطري في الانابيب من خلال قياس العكورة turbidity عند الطول الموجي 530 نانومتر. وتم تحديد (MIC) بانه اقل تركيز من المستخلص الايثانولي للاوراق تكون فيه عكورة الوسط مشابهة لما عليه في معاملة السيطرة .control

تحديد التركيز القاتل الادنى (MFC) للمستخلص الخام

اجريت هذه التجربة لتقييم كفاءة المستخلص الخام كمادة قاتلة للفطريات fungicidal او كمادة مثبطة لنمو الفطريات fungistatic (توقف نمو الفطريات).

تم تلقيح طبق زجاجي يحوي على وسط السابرويد (SGA) بجزء من معلق الخلايا من الانبوبة التي لم يشاهد فيها نمو فطري من الانابيب المستخدمة في تحديد (MIC)، بواسطة انشطة loop معقمة. وتم تحديد (MFC) التركيز القاتل الادنى من خلال ملاحظة اقل تركيز من المستخلص الايثانولي لاوراق السن والذي عنده لم تشاهد اية مستعمرات فطرية بعد 4 ايام من حضن الاطباق عند درجة حرارة 30°م.

النتائج والمناقشة

بينت نتائج تحديد درجة الحموضة pH بان المستخلص الايثانولي الخام لاوراق السن ذو قيمة pH 7.2 فهو مستخلص قاعدي. كما بينت نتائج فحص نقاوة المستخلص الخام بعد 24 ساعة من الزرع، بعدم وجود نمو والذي يشير الى عدم وجود تلوث مما يؤكد على نقاوة المستخلص الخام.

دراسة فعالية مستخلص اوراق نبات السنامي *Senna alata* ضد الفطريات الجلدية، مختبرياً..... عادل حدنان ملي

ان تأثير المستخلص الخام لاوراق السننا كمضاد فطري وكذلك تأثير العقار القياسي المستخدم، عند مختلف التراكيز قد وضعت في جدول (1) وبينت نتائج فعالية المستخلص كمضاد فطري على بعض الفطريات الجلدية. وكانت اعلى التأثيرات على الفطريات *Trichophyton rubrum* و *Epidermophyton floccosum* وبمناطق تثبيط 20.05 و 20.00 ملم، على التوالي (جدول 2). اما الفطر *Trichophyton mentagrophytes* فهو الوحيد الذي تأثر بتركيز 1.25 و 2.5 ملغم/مل (جدول 1).

الجدول 2 يوضح التركيز المثبط الادنى (MIC) للمستخلص الخام لاوراق السننا. وكانت قيم (MIC) لكل الفطريات الجلدية المدروسة هي 5.0 ملغم/مل.

ان التركيز القاتل الادنى (MFC) للمستخلص الخام لاوراق السننا، لجميع الفطريات الجلدية قد تم توضيحه في الجدول رقم 3. وقد اظهرت النتائج بان قيم (MFC) على كل من الفطر *Microsporum canis* والفطر *Trichophyton mentagrophytes* كانت متشابهة عند تركيز 10.00 و 5.00 ملغم/مل ولكن تركيز 2.5 ملغم/مل من المستخلص كان موقفا لنمو الفطريات fungistatic وليس قاتلا للفطريات fungicidal. ولكن جميعها كانت قاتلة للفطريات عند تركيز 10 و 5 ملغم/مل باستثناء الفطر *Epidermophyton floccosum* والذي كان فيه التركيز 5.0 ملغم/مل موقفا لنمو الفطريات fungistatic وليس قاتلا fungicidal (جدول 3). وهذا يتفق مع نتائج الدراسة التي اجراها Okoro وجماعته (2010) اذ اوضح بأن بعض الاحياء الدقيقة (*S.aureus* و *C.albicans*) كانت حساسة لمستخلص اوراق السنامي ، وكانت قيم MIC تتراوح بين 1.25-5.0 ملغم/مل بينما احياء دقيقة اخرى (*S.pyogenes* و *E.coli*) فقد اظهرت مقاومة لهذا المستخلص . وبالاستناد الى Sher (2009) فأن علماء الاحياء الدقيقة قد اصبحوا مهتمين بالمضادات الميكروبية ذات الاصل النباتي (المستخلصات النباتية) وذلك لسببين: الاول، ان العلماء على معرفة اكيدة بأن مدة فعالية اي مضاد حيوي مصنع Antibiotics هي محدودة وعليه فإنه من الضروري ايجاد مصادر جديدة ، خاصة المضادات الميكروبية المستخلصة من النباتات . ثانياً ، ان عامة الناس قد اصبحوا على دراية وحذر شديد من مشاكل الاستخدام المتكرر او الاستخدام الخاطيء للمضادات الحيوية ، وما ينجم عنه من مضاعفات واعراض جانبية . لذلك فأن معظم الناس تفضل التوجه الى مجهزي الاعشاب الطبية لعلاج انفسهم بتلك المواد الطبيعية الاكثر اماناً وسلامة (sher ، 2009) .

دراسة فعالية مستخلص اوراق نبات السنامكي *Senna alata* ضد الفطريات الجلدية، مختبرياً..... عادل عدنان ملي

لقد بينت نتائج هذه الدراسة ، بأن المستخلص الخام لاوراق نبات السنامكي *Senna alata* له كفاءة عالية كمضاد فطري antifungal agent ، وقد اظهر درجات مختلفة من التأثير ضد جميع الفطريات الجلدية *Dermatopytes* المستخدمة في هذه الدراسة . وكان فعالاً جداً ضد كل من الفطريات *Trichophyton rubru* و *T.mentagrophytes* و *Microsporum canis* و *Epidermophyton floccosum* .

ان قيمة pH للمستخلص الخام لاوراق السنا تقع ضمن مدى pH (7.2-7.4) والتي تعتبر عامل مهم في تحديد ثباتية التركيب الدوائي، وهذا بسبب ان الفعالية الفسيولوجية وثباتية معظم التحضيرات الدوائية تعتمد على قيمة pH (WHO، 2006).

ومن خلال نتائج هذه الدراسة، فقد اظهر المستخلص الايثانولي قدرة عالية كمضاد فطري ضد الفطريات الجلدية، ومن خلال دراسات اخرى قام بها عدد من الباحثين، وجد ان المستخلص الخام لاوراق السنا ذو فعالية ضد العديد من الفطريات والبكتريا *Tsuchiya* وجماعته (1996) والطفيليات *Dalziel* (1965)، لذلك فان هذه البحوث تفتح الافاق حول امكانية تركيب علاج فعال ضد العديد من الامراض مثل امراض القدم، الامراض الطفيلية تحت الجلد subcutaneous parasitic diseases ، الطفيليات المعوية intestinal parasites، مرض الزهري venereal disease وامراض اخرى تسببها الفطريات والبكتريا.

جدول (1): فعالية المستخلص الورقي الخام لنبات السنا كمضاد فطري (اقطار مناطق التثبيط/ملم) عند التراكيز المختلفة ضد بعض الفطريات الجلدية.

الفطريات الجلدية	10.00 ملغم/ملم	5.00 ملغم/ملم	2.5 ملغم/ملم	1.25 ملغم/ملم	clotrimazol (العقار القياسي)
<i>Microsporum canis</i>	13.00	12.05	00.00	00.00	25.50
<i>Trichophyton rubrum</i>	20.50	16.50	00.00	00.00	22.50
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	19.50	17.00	13.50	11.00	23.00
<i>Epidermophyton floccosum</i>	20.00	16.50	00.00	00.00	21.00

دراسة فعالية مستخلص اوراق نبات السنامي *Senna alata* ضد الفطريات الجلدية،
مختبرياً..... عادل حدنان ملي

جدول (2): التركيز المثبط الادنى (MIC) للمستخلص الخام لاوراق السنأ عند التراكيز المختلفة ضد الفطريات الجلدية

clotrimazol (العقار القياسي)	0.325 ملغم/مل	0.625 ملغم/مل	1.25 ملغم/مل	2.5 ملغم/مل	5.00 ملغم/مل	10.00 ملغم/مل	الفطريات الجلدية
NG	G	G	G	G	NG	NG	<i>Microsporium canis</i>
NG	G	G	G	G	NG	NG	<i>Trichophyton rubrum</i>
NG	G	G	G	G	NG	NG	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
NG	G	G	G	G	NG	NG	<i>Epidermophyton floccosum</i>

NG: No Growth (clear), G: Growth (turbid)

جدول (3): التركيز القاتل الادنى (MFC) للمستخلص الخام لاوراق السنأ ضد الفطريات الجلدية.

0.325 ملغم/مل	0.625 ملغم/مل	1.25 ملغم/مل	2.5 ملغم/مل	5.00 ملغم/مل	10.00 ملغم/مل	الفطريات الجلدية
G	G	G	G	NG	NG	<i>Microsporium canis</i>
G	G	G	G	NG	NG	<i>Trichophyton rubrum</i>
G	G	G	G	NG	NG	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
G	G	G	G	G	NG	<i>Epidermophyton floccosum</i>

NG: No Growth (clear), G: Growth (turbid)

المصادر

- Abo, K.A., A.A. Adediwura and A.J. Ibikunle, 1998. Biological activities of extracts of *Mallotus oppositifolium*. Proceeding of the 1st International Workshop on Herbal Medicinal Products, (HMP'98), University of Ibadan, Nigeria, pp: 22-24.
- Adebayo, O., W.A. Anderson, M. Moo-Young and D.O. Kolawole, 1999. Antifungal properties of some components of *Cassia alata* flower. Pharmaceutical Biol. 37: 369-374.
- Adjanahoun, E., R.A. Ahyi, L. Ake-Assi, J.A. Elewude and S.D. Fadoju *et al.*, 1991. Contribution to ethnobotanical floristic Studies in Western Nigeria. Organization of African Unity, Scientific Technical and Reserch Commission, Nigeria, ISBN: 9782453455, pp: 420.

- Akinyemi, K.A., A.O. Coker, C. Bayagbon, A.O.B. Oyefolu, K. Akinsinde and E.O. Omonigbehin, 2000. Antibacterial screening of five Nigerian medical plants against *S. typhi* and *S. paratyphi*. J. Nig. Infect. Control, 3: 30-33.
- Atlas, R.M., 1995. Antimicrobial activities: Microorganisms in our World. Mosby Publidher Inc., Baltimoore, pp: 765.
- Chopra, I., J. Hodgson, B. Metcalf and G. Poste, 1997. The search for antimicrobial agents effective against bacterial resistant to multiple antibiotics. Antimicrob. Agents Chemother., 41: 497-503.
- Dalziel , J.M.,1965.The useful plants of west tropical Africa. Crown Agents .London , pp: 612 .
- Ibrahim, D. and H. Osman, 1995. Antimicrobial activity of *Cassia alata* from Malaysia. J. Ethnopharmacol., 45: 151-156.
- Kumar, A.R. Shukla; P. Singh; C.S. Prasad and N.K. Dubey, 2008. Assessment of *Thymus vulgaris* L. essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungal infestation of food commodities. Innovative Food Sci. Emerging Technol. 9: 575-580.
- Makinde, A.A., J.O. Igoli, L.T.A. Amal, S.J. Shaibu and A. Garbal, 2007. Antimicrobial activity of *Cassia alata*. Afr. J. Biotechnol., 6: 1509-1510.
- Ogunti, E.O. and A.A. Elujobi, 1993. Laxative activity of *Cassia alata*. Fitoterapia, 64: 437-439.
- Okoro, I.O., A. Osagie and E.O. Asibor, 2010. Antioxidant and antimicrobial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Nigeria. Afr. J. Biotechnol., 9: 2989-2993.
- Palanichamy, S. and S. Nagorajon, 1990. Antifungal Activity of *Cassia alata* leaf. J. Ethnopharmacol., 29: 337-340.
- Sher, A. 2009. Antimicrobial activity of natural products from medicinal plants. Gomal J. Med. Sci., 7: 72-78.
- Sofowora, A. 1982. Medicinal plants and Traditional Medicine in Africa. 1st Edn., John Wiley and Sons, Chichester, New York, ISBN-10: 04711103675, pp : 256.
- Tsuchiya,H.,M. Sato ,T.Miyazaki , S.Fujiwara and S.Fanigaki,1996.Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanons against methicillin-resistant Staphylococcus aureus.J.Ethnopharmacol., 50:27-34.
- Upadhyay, R.K., P. Dwivedi and S. Ahmad, 2010. antimicrobial activity of photo-activated cow urine against certain pathogenic bacterial strains. Afr. J. Biotechnol., 9: 518-522.
- Usman, H. and J.C. Osuji, 2007. Phytochemical and *in vitro* antimicrobial assay of the leaf extract of *Newbouldia laevis*. Afr. J. Trad. Complement. Altern. Med. 42: 476-480.
- WHO, 2006. The World Report Life on the 21st Century: A Vision for all to Measuring Health. World Health Organization, Geneva, Switzerland, pp: 260.
- Wang, J., J. Li, J. Cao and W. Jiang, 2010. antifungal activities of neem (*Azadirachta indica*) seed kernel extracts on postharvest diseases in fruits. Afr. J. Microbiol. Res. 4: 1100-1104.

