الفعالية التثبيطية لمستخلص نبات العفص *Thuja occidentalis* ضد بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* وفطر المبيضات البيضاء *Candida albicans* والمعزولتين من الالتهابات الجلدية.

بشرى جاسم محمد
معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الإحيائية
جامعة بغداد

المستخلص

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص بكتريا *Staphylococcus aureus* وفطر *Candida albicans* المعزولتين من الالتهابات الجلدية وتقييم التأثير التثبيطي لمستخلص نبات العفص *Thuja occidentalis*. ضد هذه المسببات المرضية بحساب الهالة التثبيطية والعامل الفينولي **Phenol Coefficient**. وشخصت العزلات اعتمادا" على صفاتها الشكلية والمزرعية و الكيموحيوية, اذ تم تشخيص 47 عزلة من *S. aureus* و 31 عزلة *C. albicans* و 26 عزلة اصابة مختلطة للبكتريا والفطر من اصل 104 عينة موجبة اخذت من حالات الالتهابات الجلدية واختبرت حساسية العزلات لبعض أنواع المضادات البكتيرية والفطرية وأظهرت جميع عزلات *S. aureus* مقاومة للمضادات **Ampicillin** و **Tetracycline** و **Gentamicin** و **Rifampicin** و **Ceftriaxon** و **Cefalexin** و**Trimethoprim** و **Neomycin Streptomycin** و بينما أبدت *C. albicans* مقاومة تجاه **Miconazol** و **Clotrimazole** و **Ketoconazole** أما نتائج اختبار العامل الفينولي فأظهرت أن مستخلص نبات العفص كان ذو تأثير كبير مقارنة مع تراكيز الفينول المستخدمة في هذا الاختبار .في حين دلت نتائج حساب الهالة التثبيطية للمستخلص على القابلية التثبيطية العالية له حيث بلغت 38و29 مليمتر ضد *S. aureus* في حين بلغت 31 و23 مليمتر ضد *C. albicans* عند التركيزين 40 و50% على التوالي.

الكلمات المفتاحية: نبات العفص, المبيضات البيضاء , المكورات العنقودية الذهبية, العامل الفينولي.

Inhibition Activity of *Thuja occidentalis* Extract Against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* Isolated form cases of Skin Infections.

Bushra. J. Mohammed
Genetic Engineering and Biotechnology Institute
University of Baghdad

Abstract

The study includes isolation and identification of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* form cases of skin infections and evaluation the inhibitory effect of *Thuja occidentalis* extract by measurement the inhibition zone and Phenol coefficient. The identification of bacteria and fungi was carried out by morphological, cultural and biochemical tests. Forty seven isolates of *S. aureus* , 31 isolates of *C. albicans* and 26 isolates of mixed infection were recovered from 104 positive swaps taken from cases of skin infections. All isolates were submitted to sensitivity testes to antibiotic and it was found that *S. aureus* isolates exhibited complete resistance to Ampicillin, Tetracycline, Gentamicin, Rifampicin, Ceftriaxon, Cefalexin, Trimethoprim, Streptomycin and Neomycin. While *C. albicans* isolates exhibited complete resistance to Miconazol, Clotrimazole and Ketoconazole. The results of phenol coefficient revealed that the effect of the *Thuja occidentalis* extracts have higher effect on *S. aureus* and *C. albicans* in comparison with phenol. The outcomes of measurement the inhibition zone indicated height antimicrobial activity of *Thuja occidentalis* extract reached to 29 and 38 mm against *S. aureus* and 23 and 31 mm against *C. albicans* at concentration 40 and 50% respectively.

Key word: *Thuja occidentalis, C. albicans, S. aureus,* phenol coefficient.

المقدمة

أصبح معلوما أن هناك تأثيرات جانبية جراء استخدام العقاقير الكيميائية بالرغم من كفاءتها في التخلص من المسببات المرضية وخصوصا الخطرة منها (19), ومنذ ان تم تدوين الأمراض وطرق معالجتها منذ 3000عام تقريبا في حضارات بابل وسومر وغيرها من الحضارات القديمة وحتى الوقت الحاضر مازال العلماء يسعون للتوصل الى علاجات ومعقمات مستنبطة من نباتات طبيعية غير سامة و ذات فعالية عالية (25), ذلك فان استعمال النباتات الطبية في العلاج والوقاية يعد من التطلعات المستقبلية الواعدة ورغم ما تحقق منها في الوقت الحاضر فمازالت البحوث جارية لاختيار مواد كيميائية فعالة من مستخلصات النباتات الطبية وهذا مما شجع تسليط الضوء على العفص *Occidentalis* *Thuja* المسمى بشجرة الحياة في معظم دول العالم نظرا لاحتوائه على مواد فعالة عدة تساعد في معالجة أمراض كثيرة منها الأمراض الجلدية وإزالة الطفح والثأليل والتقرحات والبواسير وتم استخدامه مؤخرا في المراهم الجلدية التي لها خاصية العناية بالجلد الطبيعي وحمايته (3؛ 11) كما إن هناك استخدامات عديدة أخرى لهذا النبات كمعالجة الصدفية والبروستات والسيلان والأنفلونزا والأرق والحمى والأعراض الناجمة عن البرد وأوجاع الرأس والألم العام وآلام الأسنان والآم العضلات وأمراض عديدة أخرى (13)، ونظرا لهذه الخواص يمكن استخدام هذا النبات لمعالجة الاصابات الجلدية و كمعقم للجلد لذا فقد هدفت هذه الدراسة إلى عزل وتشخيص بكتريا *Staphylococcus aureus* وفطر *Candida albicans* من الإصابات الجلدية ومعرفة حساسيتها لعدد من المضادات الحيوية ومستخلص العفص وتقييم كفاءة المستخلص الكحولي لنبات العفص للحد من نمو تلك الممرضات.

المواد وطرق العمل

العزل والتشخيص:

جمعت 104 مسحة من مرضى يعانون من اعرض الأمراض الجلدية والمتمثلة بالحكة والبثور والتقرحات الجلدية و تم تشخيص العزلات المسببة للحالات المذكورة بالاعتماد على الفحوصات المجهرية والفحوصات الكيموحيوية وحسب ماورد في (10؛ 17).

اختبار حساسية المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* تجاه المضادات الحيوية:

تم إجراء هذا الاختبار وفقا لما جاء في (6) وباستخدام 11 مضاد حيوي تجاه البكتريا *Staphyococcus aureus* وهي Ciprofloxacin(CF) 30 µg و Tetracycline (TE)30 µg و Nitrofurantoin(N F)300 µg و Amoxicillin (AX)25 µg و Gentamicin(GN)10 µg و Clindamycin (CD)2 µg و Tobromycin (TM) 10 µg و Amekacin (AM) 30 µg و Cefotoxam(CE) 30 µg و Ceftraiaxom (CRO) 30 µg و Methoprim (CO)25 µg .

اختبار حساسية المبيضات البيضاء *Candida albicans* للمضادات الفطرية:

اجري هذا الاحتبار حسب الطريقة المحورة والمذكورة في (14؛ 22) باذابة 0.0015gm من المضادات الفطرية Clotrimazole و Griseofulavin و Ketoconazol و Miconazol و Nystatin في 10 مللتر من ثنائي مثيل سلفوكساید.

تحضير المستخلص الكحولي للعفص:

لقد اعتمدت الطرق الموصوفة من قبل (4) في تحضير مستخلص العفص الكحولي ثم اجريت تخافيف للمستخلص بالماء المقطر المعقم بالموصدة كالأتي: 20 و30 و40 و50%.

اختبار حساسية المكورات العنقودية *Staphylococcus aureus* والمبيضات البيضاء *Candida albicans* لمستخلص العفص:

تم إجراء فحص الحساسية لمستخلص العفص بطريقة الانتشار بالحفر وفقا للطريقة التي جاء بها (5), إذ لقح وسط مولر هنتن (Mullor-Hinton agar) بعالق *Staphylococcus* او *Candida* الحاوي على تركيز 3×10^{8} خلية/ مللتر مقارنة بالأنبوب الأول لأنابيب ماكفرلاند القياسية ثم وضع 100مايكرو لتر من تخافيف المستخلص في حفر قطرها 5 مليمتر تحضن الأطباق بدرجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة ثم قرأت النتائج بقياس قطر منطقة التثبيط كمؤشر على درجة تأثير المستخلص في الاحياء المرضية.

قياس معامل الفينول Phenol Coefficient test لمستخلص العفص:

تم إجراء الاختبار بإتباع الطريقة المذكورة من قبل (28؛ 29؛ 21) وكما يأتي:

1. تحضير محلول خزين Stock للفينول 5% .
2. أخذ من المحلول الحزين للفينول 1 مللتر وأضيف لكل من 95 و100 و110 و 115 مللتر ماء مقطر للحصول على التراكيز A وB وC وD وبالشكل التالي:

A 1 ml Phenol stock In 95 D.W
B 1 ml Phenol stock In 100 D.W
C 1 ml Phenol stock In 110 D.W
D 1 ml Phenol stock In 115 D.W

3. أخذ 0.2 مللتر من العالق البكتيري والفطري المنشط قبل 24 ساعة وخلط مع 5 مللتر من المحاليل A وB وC وD.
4. حضرت التراكيز 20 و30 و40 و50 %من المستخلص الكحولي للعفص.
5. حففت التراكيز أعلاه بنقل 1 مللتر من كل تركيز الى 400 و500 و600 و700 مللتر من الماء المقطر وحفظ كمحلول خزين.
6. نقل 0.2 مللتر من العالق البكتيري والفطري و خلط مع 5 مللتر من محلول خزين المستخلص الكحولي للعفص.
7. وضعت الأنابيب المحضرة بالخطوات السابقة في حمام مائي بدرجة حرارة 18 م لأوقات مختلفة 2.5 و5 و7.5 و10 دقيقة.
8. نقل 0.1 مللتر من كل أنبوب وزرع في اطباق وسط مولر هنتن.
9. حضنت الإطباق المزروعة بدرجة حرارة 37م ولمدة 24 ساعة.
10. قرأت النتائج بوجود نمو أو عدم وجوده وبالمقارنة مع الأطباق الخاصة بالفينول.

النتائج والمناقشة

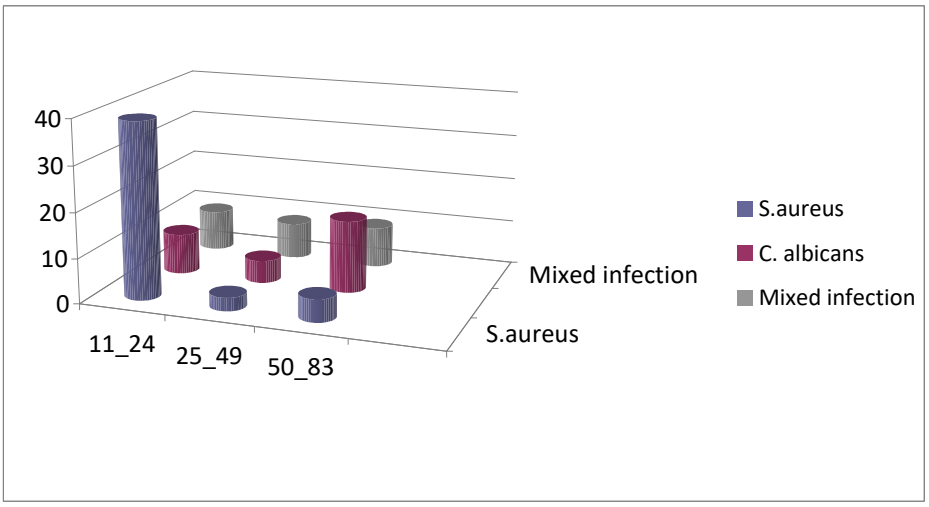
شخصت 47 عينة موجبة للعزل من التلوث بجرثومة *S. aureus* اذ كانت موجبة لصبغة غرام gram positive وموجبة لاختبار الكاتليز catalase واليوريز urease وسالبة للكواكيوليز coagulase ومخمرة لسكري المنيتول والتريهلوز, كما شخصت31 عينة موجبة لـ *C. albicans* حيث كانت موجبة لصبغة غرام وموجبة لفحص هيدروكسيد البوتاسيوم KOH ومكونة للسبورات الكلاميدية chalamydospore على وسط corn meal ومكونة لأنبوب الانبات الجرثومي germ tube باستخدام صبغة lactophenol

blue كما وجدت 26 حالة من الإصابات المختلطة لـ *S. aureus* و *C. albicans* من مجموع 104 مسحة موجبة من مرضى يعانون من أعرض الأمراض الجلدية والمتمثلة بالحكة والبثور والتقرحات الجلدية وهذا يدل على شيوع مثل هذه المسببات المرضية في الالتهابات الجلدية, كما أظهرت النتائج شيوع الالتهابات المتسببة عن *S. aurus* في الذكور 35 حالة بنسبة 26.92% أكثر من الإناث 12 حالة بنسبة 9.23% على العكس في الإصابة الفطرية والتي وجدت بأنها أكثر شيوعا بالإناث 25 بنسبة 19.23% مقارنة مع الذكور (6 حالة بنسبة 4.61%) أما بالنسبة للإصابات المختلطة فكانت حصة الذكور منها 14 حالة بنسبة 10.76% وحصة الإناث 12 حالة بنسبة 9.2 % كما موضح في (الجدول, 1).

جدول (1): يوضح اختلاف أعداد ونسب الإصابة تبعا لاختلاف الجنس.

Microorganism	Male	%	Female	%
S.aureus	35	26.92	12	9.23
C. albicans	6	4.61	25	19.23
Mixed infection	14	10.76	12	9.23

كما وجد أن الفئة العمرية لها التأثير الأكبر في مثل هذه الإصابات فقد تبين ان اصابة الشباب في عمر 11–24 أكثر ترددا في البكتريا 39 حالة مقابل 3 حالة في الفئة العمرية 25–49 و 5 حالة في الفئة العمرية 50 –83 فيما تركزت الإصابات الفطرية في سن متقدمة 50– 83 (16 حالة) وانخفضت الإصابة في الفئة العمرية 11–24 فكانت (9) في حين كانت الفئة العمرية 25–49 أوفر حظآ حيث كان تركيز الإصابات اقل ما يكون 5 حالة أما في حالة الإصابات المختلطة ففي الفئة العمرية 11–24 كانت 9 حالة وفي الفئة العمرية 25–49 (8 حالة) وفي الفئة العمرية 50–83 (9 حالة) كما موضح (الشكل, 1) , وقد يرجع السبب إلى النشاط الهرموني في سنوات الشباب المبكرة والتي تؤدي إلى افرازات تشجع نمو *S. aurus* أما الإصابة الفطرية فقد يرجع السبب فيها إلى تراجع الجهاز المناعي عن أداؤه بسبب كبر السن, ويكون وجود *Candida* مع أنواع معينة من البكتريا ناشئ عن التنافس على الغذاء اوالتلوث وأحيانا وجوده كممرض ثانوي ومن الملاحظ من النتائج إن هناك تواجدا عاليا لـ *Candida* مع *S. aurus* وهذا ما يتفق مع ما ذكره (18)الذي يرى بأن *C .albicans* تحفز نمو *S. aurus* .



شكل (1): يوضح العلاقة بين العمر وتردد الاصابة بالممرضات قيد الدراسة.

نتائج فحص الحساسية تجاه المضادات الحيوية والفطرية:

أبـدت العـزلات البكتيريـة المشخصـة مقاومـه عاليـه للمضـادات الحيويـة Ampicillin و Tetracycline و Gentamicin و Rifampicin و Ceftriaxon و Cefalexin و Trimethoprim و Streptomycin و Neomycin كما أظهرت العزلات الفطرية المشخصة مقاومه عاليه لمضادات Miconazol و Clotrimazole و Ketoconazole وقد يكون سبب مقاومة لهذه المضادات إلى استخدامها الواسع أو العشوائي مما يتسبب في ظهور سلالات مقاومه (24؛ 16)، بينما أبدت العزلات البكتيرية حساسية عالية تجاه Co-trimoxazole و Linkomycin و Chloramphenicol و Erthromycin. في حين أبدت العزلات الفطرية حساسية عاليه لكل من Nystatin و Griseofulavin ويرجح سبب الحساسية لهذه المضادات كونها حديثة أو قليلة الاستخدام (30؛ 7) وجاءت هذه النتائج متوافقة مع ما أشار إليه الباحث (31).

نتائج اختبار الحساسية لمستخلص العفص:

أظهرت نتائج فحص المستخلص قيد الدراسة أن لها فعالية كبيرة في الحد من نمو *S .aureuse* و *C .albicans.* , فقد أثبت المستخلص المائي لنبات العفص انه ذو تأثير فعال وبمختلف التراكيز اذ بلغ أعلى قطر تثبيطي 29 و 23 مليمترعلى التوالي بتركيز 40٪, في حين بلغ قطر منطقة التثبيط 31 و38 مليمتر عند التركيز 50٪ وجاءت هذه النتائج

مؤكدة لنتائج الباحث (15) التي أثبت أن أعلى قطر تثبيطي للمستخلص المائي لنبات العفص كان عند تركيز 50٪، ويعود سبب فعالية نبات العفص في الحد من النمو المكروبي إلى احتوائه على العديد من المركبات الفعالة (1؛ 12) ولأهميته الصحية فقد تناولنا دراسته في التأثير على نمو *S. aureus* و *C .albicans* والتي تعد من اهم الممرضات الجلدية وللأسف لم تتوفر لدينا دراسات وافية حول هذا النبات ما عدا دراسة (32) التي تناولت تأثير النبات للوقاية من الإشعاع المسبب للسرطان في الفئران وهناك دراسة اخرى (26) لاستخدام العفص ضد يرقة *Spodoptera littoralis* ودراسة (33) لاستخدام هذا النبات لمعالجة المراحل المتقدمة لسرطان الثدي.

نتائج قياس العامل الفينولي:

أثبتت الاختبارات التي أجريت لقياس العامل الفينولي أن التخفيف 1مللتر فينول إلى 95 و100 مللتر ماء مقطر اثر بشكل فعال على *S .aureus* بينما لم تفلح أي من تراكيز الفينول المستخدمة في التأثير على *C .albicans* (34)، كما اظهرت النتائج ان العفص بتركيز 40% عند تخفيفه بنسبة 1 مللتر محلول خزين الى 400 (400:1) وحضن بدرجة حرارة 18م لمدة 7.5 و10 دقائق و تركيز 50 % عند تخفيفه بنسبة 1 مللتر محلول خزين الى 400 مللتر ماء مقطر لمدة2.5 ,5, 7.5 و10 دقائق ونفس التركيز الى 500مللتر ماء مقطر لمدة 7.5 و10 دقائق أعطى تثبيط كامل لنمو البكتريا, أما الفطر فقد اظهرت النتائج ان العفص بتركيز 40%عند تخفيفه بنسبة 1مللتر محلول خزين الى 400 وحضن بدرجة حرارة 18م لمدة 10 دقائق و تركيز 50% عند تخفيفه بنسبة 1 مللتر محلول خزين الى400 مللتر ماء مقطر لمدة 5, 7.5 و10 دقائق أعطى تثبيط كامل لنمو االفطر كما لم تعطي باقي التخافيف تأثير واضح, وتبين نتائج معامل الفينول (الجدول، 2 و 3) أن لمستخلص العفص تأثير سلبي على نمو البكتريا والفطر أكثر من استخدام مادة الفينول وهذا ما اشارت اليه دراسة (8؛ 23) التي توصلت الى ان العفص يستخدم في علاجات مختلفة للإنسان مثل حالات الأنفلونزا والبرد ودراسة (20) لاستخدام العفص كمبيد حشري ودراسة (27) كمضاد مايكروبي وهذا ما يعطي الفرصة لاستخدام العفص كمعقم كفوء.

جدول (2): نتائج اختبار معامل الفينول لمستخلص العفص ضد *S. aureus* .

نوع المعقم	الوقت الدقيقة				التركيز
Phenol 5%	10	7.5	5	2.5	ml/ml D.w
	–	–	–	–	1 in 95
	–	+	+	+	1 in 100
	+	+	+	+	1 in 110
	+	+	+	+	1 in 115
20% العفص					
	+	+	+	+	1 in 400
	+	+	+	+	1 in 500
	+	+	+	+	1 in 600
	+	+	+	+	1 in 700
30% العفص					
	+	+	+	+	1 in 400
	+	+	+	+	1 in 500
	+	+	+	+	1 in 600
	+	+	+	+	1 in 700
40% العفص					
	–	–	+	+	1 in 400
	+	+	+	+	1 in 500
	+	+	+	+	1 in 600
	+	+	+	+	1 in 700
50% العفص					
	–	–	–	–	1 in 400
	–	–	+	+	1 in 500
	+	+	+	+	1 in 600
	+	+	+	+	1 in 700

+ نمو، – عدم وجود نمو

جدول (3): نتائج اختبار معامل الفينول لمستخلص العفص ضد *C. albicans*.

نوع المعقم	الوقت الدقيقة				التركيز
Phenol 5%	10	7.5	5	2.5	ml/ml D.w
	−	−	+	+	1 in 95
	+	+	+	+	1 in 100
	+	+	+	+	1 in 110
	+	+	+	+	1 in 115
20% العفص					
	+	+	+	+	1 in 400
	+	+	+	+	1 in 500
	+	+	+	+	1 in 600
	+	+	+	+	1 in 700
30% العفص					
	+	+	+	+	1 in 400
	+	+	+	+	1 in 500
	+	+	+	+	1 in 600
	+	+	+	+	1 in 700
40% العفص					
	−	+	+	+	1 in 400
	+	+	+	+	1 in 500
	+	+	+	+	1 in 600
	+	+	+	+	1 in 700
50% العفص					
	−	−	−	+	1 in 400
	+	+	+	+	1 in 500
	+	+	+	+	1 in 600
	+	+	+	+	1 in 700

+ نمو ، − عدم وجود نمو

من خلال ما تقدم من النتائج يلاحظ ان المستخلص قيد الدراسة له فعالية كبيرة في الحد من نمو خميرة *C .albicans* وبكتريا *S. aureus* فاقت في تأثيرها فعالية الفينول والذي يعود الى فعالية نبات العفص في الحد من النمو المايكروبي بسبب احتوائه على العديد من المركبات الفعالة (35؛ 9) مثل الزيوت العطرية ومركب العفصين thujone (2).

المصادر

1. الدبعي, عبد الرحمن والخليدي، عبد الوالي احمد. (1996). النباتات الطبية والعطرية في اليمن, انتشارها, مكوناتها الفعالة. مركز عبادي للدراسات والنشر. صنعاء– اليمن.

2. نعيم, انطوان وحيد. (2007). التداوي بالاعشاب من الرأس حتى القدمين. دراسة موسعة وصفات نافعة. دار الرضوان للطباعة والنشر والتوزيع. حلب–سوريا.

3. Adams, R. P.(2007). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation: Carol Stream, Illinois, USA.

4. Alagelly, A. S. (2009). Using Some Plant Extracts As An Intra Canal Medicaments Inendodontic Treated Teeth. Master Thesis .Gentic Engineering and Biotechnology Institute. University of Baghdad, Iraq.

5. Anderson, N. and Doane, F. W. (1972). Agar diffusion method for negative staining of microbial suspensions in salt solutions. Applied Microbiology J. 24(3): 485-491.

6. Bauer, A. W.; Kirby, W. M.; Sheris, J. C. and Turch, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. Amer. J. Clin. Path. 43: 493-496.

7. Barnett, J.; Payne, R. and Yarrow, D. (2000). Yeasts: Characteristics and Identification. 3rd ed., Cambridge University Press, UK.

8. Bodinet, C.; Mentel, R.; Wegner, U.; Lindequist, U.; Teuscher, E. and Freudenstein, J. (2002). Effect of oral application of an immunomodulating plant extract on influenza virus type A infection in mice. Planta Med .J. 68 : 896-902.

9. Baser, K. H .C.; Demirci, B.; Demirci, F.; Kocak, S.; Akinci, C.; Malyer, H. and Guleryuz, G. (2002**).** Composition and antimicrobial activity of the essential oil of Achillea multifida. Planta Med. J. 68: 941-947.

10. Cruick Shank, R.; Dugend, J. P.; Marmion, B. P. and Swain, R .H . (1975). Medical Microbiology. Vol. 22., Churchill Living Stone.UK.

11. Deane, P. M. (2005). Conifer pollen sensitivity in Western New York ; cedar pollens .Allergy Asthma, Proc. J. 26: 352-358.

12. Emst, E.; Pittler, M. H.; Stevenson, C. and White, A. R. (2001). The Desktop Guide to Complementary and Alternative Medicine. Mosby, Edinburgh, UK.

13. Fetrow, C. W. and Awilla, J. R. (2004). Professional Handbook of Complementary and Alternative Medicines. Pheladeliphia, Lippincott Williams and Wilkins. USA.

14. Gordon, R.; Kacy, V.; Stefano. P.; Brian, L. and Jose, L. (2002): In Vitro Pharmacodynamic Properties of Three Antifungal Agents against Preformed *Candida albicans* Biofilms Determined by Time-Kill Studies. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. J. 46(11): 3634-3638.

15. Gruenwald, J. (2004). PDR (Physicians' Desk Reference) for Herbal Medicines (Bioactive of *Thuja occidentalis*). Nat. Prod. J. 63(8): 1235-1239.

16. Hauke, W.; Köhler, G.; Henneicke-von Zepelin, H. H. and Freudenstein, J. (2002). Esberitox-N as Supportive therapy when providing standard antibiotic treatment in subjects with a severe bacterial infection (acute exacerbation of chronic bronchitis). Chemotherapy J. 48: 259-266.

17. Jawetz, E.; Melnick, J. L. and Adelbergy, E. A. (1987). Review of Medical Microbiology. 17th ed., Appleton and Lange, California.

18. Julian, R. N.; Stephen, J. C. and Bernhard, H. (2003). *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 67(3): 420-428.

19. King Horne, A. D.; Su, B .N; Jang, D. S. and Pezzuto, J. M. (2004). Natural inhibitors of carcinogenesis. Plant Med. J. 70: 691-700.

20. Keita, M. S.; Vincent, C. H.; Schmidt, J. P. and Arnasson, J. T. **(**2001**).** Insecticidal effects of *Thuja occidentalis* (Cupressaceae) essential oil on *Callosobruchus maculates* (Coleoptera: Bruchidae). Can. J. Plant Sci. 81: 173-177.

21. Lim, G. G. (1998). The Effects of Phenol on Biokinetic Coefficient of Multiple Phenol Derivatives of 2,4-Dichlorophenol and 2,4-Dinitrophed in Activated Sludge Process. Ph. D Thesis. Oklahome state University.

22. Nothan, P.; Law, E. J. and Murph, D. F. (1978). Alaboratory method for selection of topical antimicrobial agents to treat infected burn wounds. J. Burns. 4: 177-187.

23. Naser, B.; Lund, B.; Heinneicke-von Zepelin, H. H.; Köhler, G.; Lehmacher, W. and Scaglione, F. A. (2005). Randomised double-blind placebo-controlled clinical dose–response trial of an extract of Baptisia/Echinacea and *Thuja* in the treatment of patients with common cold. Phytomedicine. J. 33: 535-540.

24. Oscar, M.; Philippe, M.; Michel, P. G.; Jacques, B.; and Dominique, S. (2000). Potent synergism of the combination of fluconazole and cyclosporine in *Candida albicans*. Antimicrobial Agents Chemotherapy. J. 44(9): 2373-2381.

25. Pazdur, R.; Coia, L. R.; Hoskins, W. J. and Wagman, L. D. (2001). Cancermanagement, Amultidiscipliary Approach 5th ed., PRR, Melville, New York. USA.

26. Pavela, R. (2005**).** Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. 76: 691-696.

27. Recio, M. C.; Rios, J. L. and Villar, A. (1989). A review of some antimicrobial compounds isolated from medicinal plants reported in the literature 1978-1988 . J. Phytotherapy. Res. 3(4): 117-125 .

28. Joan, F. G.; Margaret, M. P. (1991). Introduction to sterilization and disinfection control. J. San. Inst. 24: 224-431

29. Reybrouck, G. (1998). The testing of disinfectants. International Biodeterioration and Biodegradation J. 41: 269-272.

30. Rakotonirainy, M .S. and Lavédrine, B. **(**2005). Screening for antifungal activity of essential oils and related compounds to control the biocontamination in libraries and archives storage areas. Int. Biodeterior. Biodegradation J. 55: 141-147.

31. Struelens, M. J. (1998). Tracking the epidemiology of antimicrobial drug resistance in hospitals: Time to deploy molecular typing. J. Med. Microbial. 45: 1025-1030.

32. Sunila, E. S. and Kuttan, G. (2005). Protective effect of *Thuja* against radiation induced toxicity in mice .Integrative Cancer Therapies. J. 4: 322-328.

33. Sikorskii, J. K.; Wyatti, A. E. and Tam, K. D. (2011). Recruitment and Early Retention of Women With Advanced Breast Cancer In a Complementary and Alternative Medicine Trial. Evidence-Based Complementary and alternative Medcine. Mosby, Edinturgh, UK.

34. Shtayeh, M. S. A. and Abu-Ghdeib, S. I. (1999). Antifungal activity of plant extract against dermatophytes. Mycosis J. 3: 123-129.

35. Von Rudloff, E. (2009**).** Volatile leaf oil analysis in chemosystematic studies of North American Conifers. Biochem. Sys. Ecol. J. 2: 161-167.