

Inhibitory Effect of Green and Black Teas Ethyl acetate extracts on *Helicobacter pylori* the causative agent of peptic ulcers

A Shoaie Hassani*

K Hamdi*

N Ordouzadeh*

A Ghaemi**

I Mohammadi***

* Member of Young Researchers Club (YRC) of Sciences & Research Branch of Islamic Azad University, Tehran, Iran

** Professor Assistant in Microbiology Department, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

*** Assistant professor of Public Health, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

*Abstract

Background: *Helicobacter pylori* is the etiological agent in peptic ulcers and gastric carcinoma. The growing problem of antibiotic resistance by this organism demands the search for novel compounds from plant based sources.

Objective: Tea is amongst the most popular beverages in Iran. There is no investigation regarding the inhibitory effects of tea extracts on *Helicobacter pylori* growth or its urease production and function. This study was conducted to evaluate the inhibitory effects of tea ethyl acetate extracts on *Helicobacter pylori* growth and its urease.

Methods: This was an experimental study (2008, Science and Research campus) in which the extraction of samples was performed by Soxhlet extractor in methanol/water (1:1) mixture as a solution followed by final re-extraction with ethyl acetate. The minimum inhibitory concentrations of black and green tea extracts were assessed by broth dilution method and examination of urease function performed by Mc Laren method. The urease production was detected on 12% SDS polyacrylamide gel electrophoresis.

Findings: Both extracts showed inhibitory effects on *H. pylori* growth, urease function and its production. Urease production was completely inhibited by both black and green tea extracts at concentrations of 3.5mg/ml and 2.5mg/ml, respectively. Also, the growth of *H. pylori* was inhibited by black tea extract at concentration of 4.5mg/ml and at 3.5mg/ml of green tea extract.

Conclusion: Based on inhibitory effects of tea extracts on *H. pylori* shown in the present study, it seems that both tea extracts in particular the green tea have the potential to reduce the *H. pylori* population and possibly prevent from chronic gastritis and peptic ulceration.

Keywords: *Camellia sinensis*, *Helicobacter pylori*, Urease

Corresponding Address: Young Researchers Club Office, Floor 3, Basic Science Department Science and Research branch of IAU, Poonak, Tehran, Iran, P.O.Box: 14115-331

Email: alirezashoae@gmail.com

Tel: +98 21 22409639

Received: 2008/08/05

Accepted: 2009/05/20

اثر مهارکنندگی عصاره‌های اتیل استاتی چای سبز و سیاه بر هلیکوباکتریپیلوری عامل زخم‌های معده

علیرضا شعاع حسنی* کسری حمدی* نگار اردوزاده* امیر قائمی** عیسی محمدی***

*عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

**استادیار گروه میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی گرگان

***استادیار گروه بهداشت عمومی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی قزوین

آدرس مکاتبه: تهران، پونک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، ساختمان علوم پایه طبقه سوم، دفتر باشگاه پژوهشگران جوان، تلفن ۰۲۱-۲۲۴۰۹۶۳۹

Email: alirezashoae@gmail.com

تاریخ دریافت: ۸۷/۵/۱۵ تاریخ پذیرش: ۸۷/۲/۳۰

*چکیده

زمینه: هلیکوباکتریپیلوری از عوامل اصلی ناراحتی‌ها از قبیل زخم معده و سرطان دوازدهه است. از آن جا که سوبه‌های مقاوم به داروی این ارگانسیم در حال افزایش هستند، جستجوی ترکیب‌های دارویی جدید برای درمان آن ضروری به نظر می‌رسد.

هدف: مطالعه به منظور تعیین اثر مهارکنندگی عصاره‌های اتیل استاتی چای سبز و سیاه بر رشد هلیکوباکتریپیلوری عامل زخم‌های معده انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۷ در مجموعه آزمایشگاهی واحد علوم و تحقیقات انجام شد. عصاره‌گیری نمونه‌ها توسط عصاره‌گیر سوکسله با حلال متانول ۵۰٪ و جدا نمودن نهایی در مرحله اتیل استات انجام شد. برای محاسبه حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره‌ها از روش تهیه رقت در محیط مایع و برای سنجش عملکرد اوره آز از روش مک لارن استفاده شد. تولید اوره آز در حضور غلظت‌های مختلف عصاره‌ها با الکتروفورز پروتئین تام سلولی روی ژل ۱۲٪ پلی‌اکریلامید آشکار شد.

یافته‌ها: اثر چای سبز بر هلیکوباکتریپیلوری و ممانعت از تولید و فعالیت اوره آز توسط آن، بیش‌تر از چای سیاه بود؛ به طوری که در غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره چای سبز، فعالیت اوره آزی از بین رفت ولی ۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره چای سیاه می‌توانست این عمل را القا نماید. غلظت‌های ۳/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره چای سبز و ۴/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره چای سیاه، بازدارنده کامل رشد هلیکوباکتریپیلوری بودند.

نتیجه‌گیری: عصاره‌های چای سبز و سیاه روی هلیکوباکتریپیلوری اثر باکتری‌سیدی دارند که نشان دهنده تأثیر مهم چای، به خصوص چای سبز در کاهش ناقلین این عامل و کاهش زخم‌های معده است.

کلیدواژه‌ها: گیاه چای، هلیکوباکتر پیلوری، اوره آز

*مقدمه

ثابت کردند که عصاره‌های چای باعث مرگ یا ممانعت از رشد باکتری‌های بیماری‌زا می‌شوند و غلظتی از چای موجود در یک فنجان (۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) قادر به از بین بردن استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین است.^(۴) پلی‌فنل‌های برگ سبز چای بر رشد اشیریشیا کلی، استرپتوکوک‌ها و استافیلوکوکوس اورئوس نیز اثر مهارتی دارند.^(۵-۷) شعاع حسنی و همکاران نشان دادند که عصاره‌های چای سبز و سیاه مانع از رشد و تشکیل بیوفیلم انتروباکتریاسه‌ها می‌شوند.^(۸) محققان دریافتند که عصاره‌های چای بر ضد گونه‌های کلستریدیوم، باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی مانند اروینیا و گونه‌های سودوموناس فعال هستند. در مورد گونه‌های باکتریایی حساس در مقابل

گیاه کاملیا سیننسیس که چای را از آن به دست می‌آورند، ۵۰۰۰ سال پیش در کشور چین شناخته شد و برگ آن در معالجه بیماران مورد استفاده قرار گرفت. برگ‌های جوان چای بلافاصله پس از برداشت، تحت حرارت قرار می‌گیرند و مالش داده می‌شوند تا کاتچین‌های چای به مشتقات پلیمری از قبیل تیافلاوین و تیاریوجین تبدیل نشوند.^(۱) حرارت مستقیم باعث تجزیه کاتچین‌ها (اپی کاتچین، اپی گالوکاتچین اپی کاتچین گالات و اپی گالوکاتچین) گالات می‌شود ولی بخار دادن برگ‌ها باعث حفظ اپی گالوکاتچین می‌شود.^(۲) اولین گزارش‌ها در مورد اثر ضد میکروبی چای، به کارگیری آن جهت پیشگیری از تیفوئید بود.^(۳) در سال ۱۹۸۹ تودا و همکاران

عصاره‌گیری با استفاده از ۵ گرم نمونه مورد نظر در ۱۰۰ میلی‌لیتر مخلوط ۵۰ درصدی آب و متانول به عنوان حلال، در دستگاه عصاره‌گیر سوکسله انجام شد. در مرحله اول عصاره سبز تیره‌ای به دست آمد که دوباره توسط مرحله اتیل استات عصاره‌گیری شد. این عصاره‌ها پس از استریل شدن توسط فیلتر ۰/۴۴ میکرون تا زمان استفاده در یک فالکن در ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. سویه استاندارد هلیکوباکتر پیلوری ATCC 41653 تهیه شد. از پروتئوس ولگاریس ATCC 13315 تهیه شده از مرکز مرجع میکروبی‌شناسی ایران به عنوان شاهد اوره آز مثبت استفاده شد.

برای کشت هلیکوباکتر پیلوری از محیط‌های کشت بروسلا کسوتید و کلمبیا آگار اکسوتید، برای کشت پروتئوس ولگاریس از مک‌کانکی آگار (مرک، آلمان) و جهت سنجش حساسیت میکروبی از مولر هینتون برات (دیفکو، فرانسه) استفاده شد. جهت رشد مطلوب هلیکوباکتر پیلوری به محیط‌های کشت آن ۷ درصد خون دفیبرینه گوسفند اضافه شد و در شرایط میکروآئروفیلیک در انکوباتور حاوی دی‌اکسیدکربن نگه‌داری شد. جهت تعیین فعالیت اوره آزی از محیط اوره برات استفاده شد. برای جلوگیری از آلودگی و رشد ناخواسته سایر میکروارگانیسم‌ها ۱۰ میکروگرم وانکومایسین و ۵ میکروگرم آمفوتریسین B (سیگما، فرانسه) به محیط‌ها افزوده شدند.^(۱۶)

برای سنجش اثر ضد میکروبی عصاره‌ها از روش تهیه رقت در محیط مایع استفاده شد. محیط مولر هینتون برات به اضافه ۷ درصد خون دفیبرینه گوسفند تهیه شد و ۱۲ ساعت در انکوباتور دی‌اکسیدکربن‌دار ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. کشت ۷۲ ساعته هلیکوباکتر پیلوری به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد و از رسوب آن، سوسپانسیونی در آب پیتونه با $OD_{620}=1$ به کمک اسپکتروفتومتر شیمادزو UV 120-01 تهیه شد. ۱۰۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون به درون محیط‌های مولر هینتون برات حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌ها

چای، نظرهای مخالفی وجود دارد که می‌تواند از تغییر سویه‌ها و منابع چای مورد استفاده ناشی شود.^(۹) اپی‌گالوکاتچین موجود در چای همچنین فعالیت تتراسایکلین را بر روی استافیلوکوک‌ها افزایش می‌دهد.^(۱۰)

هلیکوباکتر پیلوری، باکتری گرم منفی ماریپیج و میکروآئروفیل است. تنها محل شناخته شده زندگی این باکتری بیماری‌زا مخاط معده است. و در ایجاد التهاب معده، بیماری زخم پپتیک، زخم معده و سرطان معده دخالت دارد.^(۱۳،۱۱) زمانی که هلیکوباکتر پیلوری وارد معده شود، به لایه مخاطی که pH ۴ تا ۶/۵ دارد، مهاجرت می‌کند.^(۱۳) این میکروارگانیسم اوره‌آز مثبت است و باعث تولید آمونیاک و بی‌کربنات قلیایی از اوره می‌شود. هلیکوباکتر پیلوری در مخاط جدار معده نیمی از افراد دنیا و در معده ۸۰ درصد افراد بزرگ سال کشورهای در حال توسعه وجود دارد و قادر است به سایر اعضای خانواده و تمام جمعیت در تماس منتقل شود.^(۱۴) اوره‌آز این باکتری به غشای خارجی متصل است و جزء آنزیم‌های خارج سلولی به شمار می‌رود. وزن مولکولی آن حدود ۵۸۰ کیلودالتون است که از ۶ زیر واحد ۶۶ کیلودالتونی Ure A و ۶ زیر واحد ۳۲ کیلودالتونی Ure B تشکیل شده است.^(۱۵) لذا، از آنجا که سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک (کلاریترومایسین) هلیکوباکتر پیلوری در حال افزایش است؛ یافتن مواد جدید مؤثر، به خصوص فرآورده‌های طبیعی، جهت حذف این میکروارگانیسم‌ها ضروری به نظر می‌رسد. این پژوهش به منظور تعیین اثر عصاره‌های چای سبز و سیاه در محیط آزمایشگاهی بر رشد هلیکوباکتر پیلوری و تولید و فعالیت اوره‌آزی آن انجام شد.

*مواد و روش‌ها:

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۷ در مجموعه آزمایشگاهی دانشگاه علوم و تحقیقات تهران انجام شد. چای سبز و چای سیاه درجه یک، تازه و بدون اسانس، بلافاصله پس از تولید از یک کارخانه چای‌سازی واقع در شهرستان لاهیجان در شمال ایران خریداری شد. نمونه‌ها پس از آسیاب شدن، به طور کامل خشک شدند.

از ۲۴ ساعت جهت استخراج باکتری‌ها و به دست آوردن پروتئین آنها به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰ هزار دور سانتریفیوژ شدند. پس از جدا سازی سلول‌ها و استخراج پروتئین‌های متصل به غشای سلولی و پروتئین تام باکتری، وجود آنزیم اوره‌آز روی ژل SDS PAGE بررسی شد. استخراج پروتئینی و الکتروفورز پروتئین‌ها روی ژل ۱۲ درصد پلی‌اکریلامید طبق دستور لاملی انجام شد.^(۱۸)

* یافته‌ها:

قطر منطقه ممانعت از رشد هلیکوباکتر پیلوری ATCC 41653 در غلظت ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره چای سبز به ۲۲/۵ میلی‌متر و در غلظت ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره چای سیاه به ۱۸ میلی‌متر رسید. این مقادیر از نظر فعالیت ضد باکتریایی در مقایسه با نمونه کنترل مثبت (۸ میکروگرم مترونیدازول) که هاله‌های عدم رشدی به اندازه ۲۱ میلی‌متر ایجاد کرد، قابل ملاحظه بود. در لوله‌های تا غلظت ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره چای سیاه، فعالیت اوره‌آزی هلیکوباکتر پیلوری مشهود بود و رنگ محیط اوره برات به آرامی صورتی شد، ولی در مورد ارلن‌های حاوی عصاره چای سبز تنها تا غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر فعالیت اوره‌آزی دیده شد. در غلظت ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره چای سبز، آنزیم اثر خود را از دست داد و با این‌که هنوز رشد باکتری‌ها دیده می‌شد، ولی با انتقال آنها به محیط اوره برات هیچ‌گونه تغییر رنگی حاصل نشد.

در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره چای سبز باند ۶۵ کیلودالتونی زیر واحد بزرگ اوره‌آز (Ure A) و زیر واحد ۳۲ کیلودالتونی زیر واحد کوچک (Ure B) به کلی محو شدند. در غلظت ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر هنوز این زیر واحدها دیده می‌شدند، ولی مقدار آنها نسبت به غلظت‌های پیشین و نمونه شاهد کاهش فوق‌العاده‌ای نشان داد (شکل شماره ۱).

تولید اوره‌آز هلیکوباکتر پیلوری در غلظت ۳/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره چای سیاه متوقف شد

تلقیح شد تا حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره‌ها تعیین شود. سوسپانسیون‌های باکتریایی روی محیط‌های آنتی‌بیوگرام توسط سوآب استریل، کشت پر داده شدند. سپس ۵۰ میکروگرم از عصاره‌های ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر چای سیاه و سبز جداگانه به چاهک‌های ۵ میلی‌متری روی محیط‌ها اضافه شدند و جهت تعیین هاله عدم رشد به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۱۰ درصد دی‌اکسیدکربن گرماگذاری شدند. برای شاهد مثبت از دیسک ۸ میکروگرم مترونیدازول و به عنوان شاهد منفی از سرم فیزیولوژی استریل استفاده شد.

جهت بررسی اثر عصاره‌های چای بر فعالیت اوره‌آزی هلیکوباکتر پیلوری از روش مک لارن استفاده شد.^(۱۷)

یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری به طور جداگانه به هر کدام از محیط‌های بروسلا برات اکسوئید حاوی ۱۷ درصد خون دفیبرینه گوسفند و صفر تا ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره‌های چای سیاه و سبز تلقیح شد. این محیط‌ها ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۱۰ درصد دی‌اکسیدکربن، گرماگذاری شدند و در آخرین رقتی که رشد باکتری‌ها مشهود بود فعالیت آنزیمی سنجیده شد. به این صورت که باکتری‌ها پس از سانتریفیوژ از محیط جدا شده و وارد محیط اوره برات شدند و جهت دیدن فعالیت اوره‌آزی به مدت ۱۰ دقیقه به آرامی ورتکس و بررسی شدند. در محیط‌هایی که تغییر رنگ دیده شد، آنزیم فعالیت خود را حفظ کرده بود و در صورت عدم تغییر رنگ در اوره برات این عمل یک بار دیگر تکرار شد. در صورت تکرار نتیجه (عدم تغییر رنگ) نتیجه فعالیت آنزیم اوره‌آز منفی گزارش شد. برای شاهد مثبت از کشت پروتئوس ولگاریس در محیط اوره برات استفاده شد.

جهت ارزیابی اثر عصاره‌های چای سیاه و سبز بر تولید اوره‌آز، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری به هر کدام از محیط‌های تیمار شده با صفر تا ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره‌های چای سیاه و سبز در بروسلا برات اکسوئید تلقیح شد. این محیط‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در حضور ۱۰ درصد دی‌اکسیدکربن گرماگذاری شدند و پس

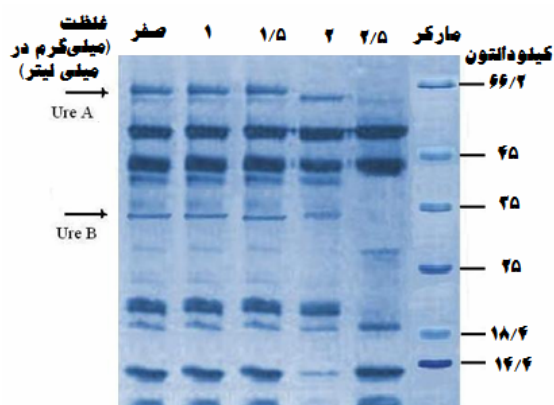
نظر مؤسسه ملی ارزیابی و استانداردهای آزمایشگاهی مرکز بیماری‌ها در ولز، تشکیل هاله عدم رشد به اندازه ۱۸ میلی‌متر و بیش از آن در غلظت ۸ میکروگرم از مترونیدازول نشان‌دهنده حساس بودن سویه هلیکوباکتری پیلوری است^(۱۶) که در آزمایش ما این موضوع کاملاً مشخص بود.

دانشمندان نشان داده‌اند، که عصاره‌های چای باعث مرگ یا ممانعت از رشد باکتری‌های بیماری‌زایی مانند استافیلوکوک طلایی، استافیلوکوک اپیدرمیدیس، سالمونلا تیفی، شیگلا فلکسنری، شیگلا دیسانتری و گونه‌های ویبریو مانند ویبریوکلرا شده است.^(۴) در سال ۲۰۰۸ شعاع حسنی و همکاران نشان دادند که اجزای فرار عصاره‌های چای سبز و سیاه از تشکیل بیوفیلم استرپتوکوک‌های دهانی جلوگیری می‌کند و در غلظت‌های بالاتر اثر باکتری کشی روی آنها دارد.^(۸)

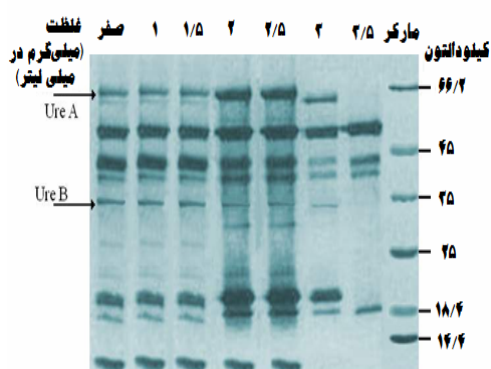
در این مطالعه غلظت ۴/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره چای سیاه و ۳/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره چای سبز باعث توقف رشد این باکتری در شرایط آزمایشگاهی شد. دلیل این اختلاف، می‌تواند وجود مقدار زیادتری از کاتچین‌ها در چای سبز نسبت به چای سیاه است. مولکول‌های کاتچینی از قبیل اپی‌کاتچین، اپی‌گالوکاتچین، اپی‌کاتچین گالات و اپی‌گالوکاتچین گالات از مواد مؤثر ممانعت‌کننده از رشد هلیکوباکتری پیلوری بوده و از طرفی قادر به مهار اوره‌آز توسط آن هستند.^(۱۹)

در غلظت ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره چای سبز و ۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره چای سیاه باندهای اوره‌آزی در ژل الکتروفورز دیده شد، ولی با انتقال باکتری‌های زنده این محیط‌ها به محیط اوره براث، هیچ‌گونه تغییر رنگی دیده نشد و نتیجه آزمایش مک لارن منفی بود. از بین رفتن فعالیت اوره‌آز می‌تواند به علت اثر مستقیم عصاره‌ها بر روی ساختار آنزیم و تخریب آنزیمی یا تغییر ساختار پلی‌پپتیدی آن باشد. محققان نشان داده‌اند که وجود اوره‌آز و تولید آمونیاک در زنده

و باندهای پروتئینی زیرواحدهای اوره‌آز در الکتروفورز روی ژل پلی‌اکریلامید دیده نشدند. در غلظت ۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر هنوز این زیر واحدها دیده می‌شدند، ولی مقدار آنها نسبت به غلظت‌های پیشین و نمونه شاهد کاهش قابل توجهی نشان داشت (شکل شماره ۲).



شکل ۱- اثر ممانعت‌کنندگی عصاره چای سبز در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بر تولید اوره‌آز هلیکوباکتری پیلوری



شکل ۲- اثر ممانعت‌کنندگی عصاره چای سیاه در غلظت ۳/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بر تولید اوره‌آز هلیکوباکتری پیلوری

*بحث و نتیجه‌گیری:

مطالعه حاضر اثر مهارکنندگی عصاره‌های چای از رشد هلیکوباکتری پیلوری را ثابت می‌کند و کاربرد چای به هر دو صورت چای سیاه و سبز، باعث مهار رشد هلیکوباکتری پیلوری و ممانعت از فعالیت و تولید اوره‌آز توسط آن شد. برای سنجش حداقل غلظت مهارکنندگی این عصاره‌ها از روش تهیه رقت در محیط مایع استفاده شد که یک روش ساده و مقرون به صرفه است. طبق

داشت. این عصاره‌ها در غلظت‌های پایین باعث غیرفعال نمودن آنزیم اوره‌آز و سپس مهار تولید این آنزیم شدند و با افزایش غلظت باعث جلوگیری از رشد هلیکوباکتر پیلوری شدند. همچنین در غلظت‌های بالاتر اثر باکتری کشی روی این میکروارگانیسم داشتند.

*سپاس‌گزاری:

این پژوهش با حمایت‌های باشگاه پژوهشگران جوان (YRC) دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات انجام شده است.

*مراجع:

- Balentine DA, Wiseman SA, Bouwens LC. The chemistry of tea flavonoids. *Crit Rev Food Sci Nut* 1997 Dec; 37(8): 693-704
- Graham HN. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev Med* 1992 May; 21(3): 334-50
- Hamilton-Miller JM. Antimicrobial properties of tea (*Camellia sinensis* L). *Antimicrob Agents Chemother* 1995 Nov; 39(11): 2375-7
- Toda M, Okubo S, Hara Y, Shimamura T. Antibacterial and bactericidal activities of tea extracts and catechins against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Nippon Saikingaku Zasshi* 1991 Sep; 46(5): 839-45
- An BJ, Kwak JH, Son JH et al. Biological and antimicrobial activity of irradiated green tea polyphenols. *Food Chem J* 2004; 88(4): 549-55
- Shoae Hassani A, Amirmozafari N, Ordouzadeh N, et al. Volatile components of *Camellia sinensis* inhibits growth and biofilm formation of oral streptococci in vitro. *Pak J Biol Sci* 2008; 11(10): 1336-41 [In Persian]
- Su P, Henriksson A, Nilsson C, Mitchell H. Synergistic effect of green tea extract and

ماندن و کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری در pH پایین مؤثر بوده و جهت بیماری‌زایی هلیکوباکتر پیلوری ضروری است.^(۲۰،۲۱) لذا، می‌توان نتیجه گرفت که با عدم تولید آمونیاک، هلیکوباکتر پیلوری قادر به مقاومت در مقابل شیره معده و pH اسیدی آن نیست و تکثیر و بیماری‌زایی تا حد زیادی متوقف می‌شود.

در مطالعه حاضر غلظت ۲/۵ و ۳/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره‌های چای سبز و سیاه بازدارنده کامل تولید زیر واحدهای آنزیم اوره‌آز بودند. سوچی و همکاران در سال ۱۹۹۲ نشان دادند که آمونیاک ایجاد شده از اوره توسط آنزیم اوره‌آز برای جلوگیری از هضم باکتری‌ها در شیره معده ضرورت دارد.^(۲۲) پس با رسیدن این غلظت از مواد مؤثر ضد میکروبی موجود در چای به خصوص کاتچین‌ها به مخاط جدار معده که پناهگاه هلیکوباکتر پیلوری است، می‌توان رشد این میکروارگانیسم را در موجود زنده نیز متوقف ساخت. چون این باکتری از عوامل اصلی التهاب و زخم معده و مهم‌تر از آن سرطان معده و لنفوم گوارشی است، اثر ممانعت‌کنندگی چای از سرطان معده، با اثر آن بر ممانعت از رشد هلیکوباکتر پیلوری و مهار تولید و فعالیت اوره‌آز توسط این باکتری رابطه مستقیم دارد. گائو و ناکاچی نشان داده‌اند که افزایش مصرف چای خطر سرطان معده را کاهش می‌دهد.^(۲۳) برخی محققین اثبات کرده‌اند که چای سبز از التهاب فعال و مزمن دستگاه گوارشی جلوگیری می‌کند و از خطر سرطان‌های تحتانی معده می‌کاهد.^(۲۴)

از آنجا که سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری مقاوم به کلاریترومایسین و سایر آنتی‌بیوتیک‌ها گسترش روز افزونی دارند، استخراج کاتچین‌های گیاه کاملیا سیننسیس و به‌کارگیری آن جهت مهار این میکروارگانیسم‌ها موضوع با اهمیتی خواهد بود و مطالعه بر روی موجود زنده جهت این امر ضروری به نظر می‌رسد.

در مطالعه حاضر عصاره اتیل استاتی برگ‌های کاملیا سیننسیس L به هر دو صورت چای سبز و سیاه اثرات خوبی بر هلیکوباکتر پیلوری عامل عمده سرطان معده

- probiotics on the pathogenic bacteria, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. *World J Microbiol Biotechnol* 2008; 21(2):186-90
8. Shoae Hassani A, Ordouzadeh N, Ghaemi A, et al. Comparing Black and Green Tea extracts effect on the growth inhibition and biofilm formation of enterobacteriaceae. *J Arak Uni Medic Sci* 2008; 11(2): 64-73 [In Persian]
9. Sasaki H, Matsumoto M, Tanaka T, et al. Antibacterial activity of polyphenol components in oolong tea extract against *Streptococcus mutans*. *Caries Res* 2004 Jan-Feb; 38(1): 2-8
10. Sudano Roccaro A, Blanco AR, Giuliano F, et al. Epigallocatechin-gallate enhances the activity of tetracycline in staphylococci by inhibiting its efflux from bacterial cells. *Antimicrob Agents Chemother* 2004 Jun; 48(6):1968-73
11. Blaser MJ. An endangered species in the stomach. *Sci Am* 2005 Feb; 292(2): 38-45
12. Roszczenko P, Jagusztyn- Krynicka EK. Immunoproteomics of *Helicobacter pylori* strategy for improvement of diagnostic tests and vaccine development. *Postepy Biochem* 2006; 52(4): 424-34
13. Bijlsma JJ, Waidner B, Vliet AHL, et al. The *Helicobacter pylori* homologue of the ferric uptake regulator is involved in acid resistance. *Infect Immun* 2002 Feb; 70(2): 606-11
14. Logan RP, Walker MM. Clinical review: ABC of the upper gastrointestinal tract: Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *BMJ* 2001 Oct 20; 323(7318): 920-2
15. Evans JD Jr, Evans DG, Engstrand L, Graham DY. Urease associated heat shock protein of *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 1992 May; 60 (5): 2125-27
16. BSAC, Susceptibility Testing Working Party. BSAC standardized disc testing method. Available at: <http://www.BSAC.org.uk>. Accessed in: 2006
17. Perez- Perez GI, Olivares AZ, Cover TL, Blaser MJ. Characteristic of *Helicobacter pylori* variants selected for urease deficiency. *Infect Immun* 1992 Sep; 60(9): 3658-63
18. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970 Aug 15; 227 (5259): 680-5
19. Matsubara S, Shibata H, Ishikawa F, et al. Suppression of *Helicobacter pylori*- induced gastritis by green tea extract in Mongolian gerbils. *Biochem Biophys Res Commun* 2003 Oct 24; 310(3): 715-9
20. Eaton KA, Brooks CL, Morgan DR, Krakowka S. Essential role of urease in pathogenesis of gastritis induced by *Helicobacter pylori* in gnotobiotic piglets. *Infect Immun* 1991 Jul; 59(7): 2470-5
21. Andrutis KA, Fox JG, Chauer DB, et al. Inability of an isogenic urease negative mutant strain of *Helicobacter mustelae* to colonize the ferret stomach. *Infect Immun* 1995; 63: 3722- 5
22. Tsujii M, Kawano S, Tsuju S, et al. Mechanism of gastric mucosal damage induced by ammonia. *Gastroenterology* 1992 Jun; 102(6): 1881-8
23. Gao YT, McLaughlin JK, Blot WJ, et al. Reduced risk of esophageal cancer associated with green tea consumption. *J Natl Cancer Ins* 1994; 86: 855-8
24. Koo MWL, Cho CH. Pharmacological effects of green tea on the gastrointestinal system. *Eur J Pharma* 2004; 500: 177-85