



# 不同茶叶浸出液对小鼠皮肤创口愈合的影响

刘 欠 刘雅璇 肖 娟 罗 洁 谭 湘 周 意\* (长沙医学院 湖南长沙 410219)

**摘要:**目的 探讨茶叶对小鼠创口愈合的作用,比较发酵程度存在差异茶叶对小鼠创口愈合影响的差异。方法 选取各种茶叶对小鼠皮肤创口进行处理,按茶叶发酵程度高低分为绿茶、红茶、乌龙茶实验组,以不处理的自然愈合的创口作为对照组,以苯扎氯铵溶液处理创口作为苯扎氯铵组,一天处理2次,连续观察14d。每天记录各组的创口面积,分析创面色泽变化;通过圆形滤纸片扩散法,研究不同茶叶对创口致病菌金黄色葡萄球菌的抑菌活性。结果 各种茶叶组与苯扎氯铵组促进小鼠创口愈合作用较显著,其中绿茶组的小鼠创口在11天基本愈合,乌龙茶组小鼠创口在11天基本愈合,红茶组小鼠创口在12天基本愈合;苯扎氯铵组的小鼠创口在第9天全部愈合,而对照组的小鼠创口在第14天仍未愈合。结论 茶叶具有促进小鼠创口愈合的作用,但不同发酵类型茶叶对小鼠创口愈合作用存在差异。

**关键词:**不同茶叶 小鼠 创口愈合

**中图分类号:** R245.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-5187 (2019) 04-001-02

**基金项目:** 2017 湖南省大学生创新性课题 (No 湘教通[2017]205号)

在外科中,创口感染不愈合形成慢性溃疡是一种较为常见的疾病,其主要原因是创口被不健康的肉芽组织所填充,很难通过换药而排出和彻底清除,从而妨碍死腔的消灭和创口愈合<sup>[1]</sup>。这种肉芽组织血液循环差,会造成组织血流灌注不足及缺氧,局部抵抗力下降,可能与金黄色葡萄球菌及肺炎克雷伯杆菌、凝固酶阴性葡萄球菌、大肠埃希菌、肺炎链球菌、铜绿假单胞菌等<sup>[2]</sup>影响创面愈合的主要菌群有关。临床治疗创口愈合采用口服或注射给药治疗效果不佳,而采用外用药物的给药方式不仅操作简单易行,且不受体内因素的干扰,因此,研究一种新型的安全的促进创口愈合的外用溶液,具有重要意义。

茶叶对皮肤细菌有抑制作用。研究认为,茶叶浸出液可抑制各型痢疾杆菌,且亦对金黄色葡萄球菌、白喉杆菌、乙型溶血性链球菌、绿脓杆菌、沙门氏菌的抑制作用与黄连相类似<sup>[3]</sup>。茶叶中抑菌的主要成分是茶多酚。茶多酚<sup>[4]</sup>对创口致病菌具有较强的抑制作用,比如金黄色葡萄球菌、创口寒沙门氏杆菌、普通变形杆菌、志贺氏痢疾杆菌、铜绿色假单胞杆菌、口腔变异链球菌、大肠埃希氏杆菌等。近年来亦有文献报道,茶叶中的鞣酸也有抑菌作用<sup>[5]</sup>,还有些成分的作用和机制尚不清楚,这些成分同时存在于茶叶中,并协同发挥抑菌作用<sup>[6]</sup>。

目前市面上主要的促进创口愈合的外用制剂有苯扎氯铵溶液和创可贴等。苯扎氯铵溶液对细菌有抑制和杀灭作用,对治疗感染有一定的作用,同时有利于创口的愈合。但部分病人反复使用后易出现不良反应,使用过量时会引起心律失常、腹泻、呕吐、体重减轻、等类似苯扎氯铵功能亢进的症状。且苯扎氯铵溶液会危害环境,少量该产品渗入地下水也会造成饮用水被污染<sup>[7]</sup>。创可贴<sup>[8]</sup>主要是保护创面,避免碰触感染,促进创口愈合作用,其中含有苯扎溴铵有一定的抗菌作用,但由于其所用的胶布透气性差,导致人体局部正常分泌的水汽和汗液不能穿透这层胶布,从而对局部皮肤产生浸泡作用,局部皮肤不适。局部汗液过多也影响了皮肤的正常呼吸功能和生理功能,使创口皮肤的表面细胞再生能力退化,致使创口愈合时间延长<sup>[9]</sup>;所以研制一种加速创口愈合速度,更加有效的使机体正常的新型促进创口愈合的药物和医疗用具正适应时代发展的需要。

由于茶叶浸出液具有抑菌抗炎、促进创口愈合的效果,且茶叶浸出液的应用,与市面上已有的创可贴和苯扎氯铵溶液比较,还具有抗菌效果好、不担心耐药菌的产生等优点,加之通过茶叶浸出液清洗创面,可加快局部血液循环,改善局部供氧和营养的作用。因此,本课题主要研究茶叶对创口愈合作用的影响,为研制含有茶叶的促进创口愈合的新型制剂提供理论依据。

## 1 实验材料

### 1.1 实验仪器

#### 1.1.1 试剂

绿茶(批号:20160801,湘潭健有食品有限公司);红茶(色谱纯,

国药集团化学试剂有限公司);乌龙茶(批号:20170409,武夷山市桃源茗茶叶科学研究所有限公司);水(超纯水,实验室自制);金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, 26076,长沙医学院微生物实验室提供)。

#### 1.1.2 仪器与设备

HVE-50全自动立式高压灭菌锅;DXG-9101-3SA电热鼓风干燥箱;KQ500E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);759S紫外可见分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司);X4-1型固体样品粉碎机;

## 2 实验方法

### 2.1 小鼠创口愈合实验

2.1.1 茶叶浸出液的制备:取绿茶,红茶,乌龙茶各15g加入300mL水煮沸5min后用纱布进行第一次过滤,再用超速离心机进行第二次过滤,取二次滤液浓缩至200mL,所得的绿茶浸出液,红茶浸出液,乌龙茶浸出液用棕色广口瓶避光保存。

2.1.2 实验动物及分组:选取昆明种雄性小鼠40只(购自长沙市疾控中心),4周龄,体重为(18.0±2.0)g,适应培养7天后,按照体重大小的标准,将小鼠随机分成5组,每组7只,分别为对照组,绿茶组,乌龙茶组,红茶组和苯扎氯铵组。分组后分别建立小鼠创口模型,对照组对创口不进行任何处理;各种茶叶组造模后当天开始,在每天早上8:00用不同茶叶浸出液清洗创口5min,在下午6:00重复上述操作,共清洗7天(清洗时间由预实验确定);苯扎氯铵组造模后用苯扎氯铵溶液清洗。

2.1.3 小鼠创口模型建立:小鼠采用30mg/kg戊巴比妥腹腔注射的方法进行麻醉,将自制直径为0.5cm的塑料圆圈染上颜色,印在小鼠背部进行定位,用无菌镊子从圆圈中心将小鼠皮肤夹起,然后用无菌剪刀沿印迹剪除背部皮肤,得到大小,深浅基本一致的圆形创口。

#### 2.1.4 指标检测

2.1.4.1 创面形态及愈合程度:观察创后第1、3、7天的创面愈合情况,采用imageJ软件测定创面面积。以原始创面面积为 $S_0$ ,第1、3、7天时创口面积分别为 $S_1$ 、 $S_3$ 、 $S_7$ ,未愈合面积为 $S_n$ ,计算小鼠的创面愈合率。创面愈合率(%)=[ $(S_0-S_n)/S_0$ ]\*100%

2.1.4.2 创口色泽检测:观察创后第1、3、7天的创面色泽情况,参照国家有关标准,将创面色泽以鲜红为1分,淡红为2分,暗紫为3分进行记录。通过检测创口的色泽情况,计算其愈合时间。

2.1.4.3 组织细菌学培养:采用圆形滤纸片扩散法,取 $10^{-4}$ 稀释的金黄色葡萄球菌0.5mL,分别加入不同的培养基中混匀,将已杀菌烘干的圆滤纸片(直径为6mm)浸入茶叶浸出液中8~12h,捞出沥干,贴于含菌平板中。一平板贴3片滤纸片,呈正三角形,重复2个平板,倒置培养24h,测定各种茶叶浸出液抑菌圈大小,同时以苯扎氯铵处理的动物做苯扎氯铵组,以无菌水,生理盐水做对照组。

## 3 结果

\*通讯作者:周意,女,硕士,主要从事中药抗氧化和抗衰老活性研究。



## 3.1 检测指标结果

## 3.1.1 创面形态及愈合程度

各种茶叶组, 苯扎氯铵组与对照组比较从治疗后第 1、3、7 天均有差异 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。

表 1: 各组不同时间创口愈合率比较 ( $\bar{x} \pm s$ , %)

| 组别    | 第 1 天        | 第 3 天        | 第 7 天        |
|-------|--------------|--------------|--------------|
| 苯扎氯铵组 | 30.9 ± 11.8* | 77.7 ± 21.4* | 87.6 ± 17.8* |
| 绿茶组   | 28.4 ± 10.9* | 75.4 ± 20.8* | 85.2 ± 16.5* |
| 乌龙茶组  | 27.4 ± 11.3* | 73.6 ± 20.4* | 82.4 ± 16.8* |
| 红茶组   | 25.8 ± 9.4*  | 70.8 ± 19.9* | 79.7 ± 15.8* |
| 对照组   | 11.8 ± 8.2   | 55.5 ± 19.5  | 66.8 ± 15.6  |

注: 与对照组比较, \* $P < 0.05$

## 3.2.2 创口色泽检测

治疗后苯扎氯铵组, 各种茶叶组多数创面的色泽较治疗前有所好转, 对照组创面色泽亦有不同程度的好转, 但各种茶叶组及苯扎氯铵组与对照组比较从治疗后第 1、3、7 天均有差异 ( $P < 0.05$ ), 见表 2。

表 2: 各组不同时间创面色泽变化情况 (分)

| 组别    | 第 1 天                  | 第 3 天                  | 第 7 天                  |
|-------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 苯扎氯铵组 | 1.7 ± 0.4 <sup>#</sup> | 2.9 ± 0.7 <sup>#</sup> | 3.2 ± 0.8 <sup>#</sup> |
| 绿茶组   | 1.4 ± 0.3 <sup>#</sup> | 2.6 ± 0.6 <sup>#</sup> | 3.0 ± 0.8 <sup>#</sup> |
| 乌龙茶组  | 1.2 ± 0.3 <sup>#</sup> | 2.3 ± 0.5 <sup>#</sup> | 2.8 ± 0.7 <sup>#</sup> |
| 苯扎氯铵组 | 1.7 ± 0.4 <sup>#</sup> | 2.9 ± 0.7 <sup>#</sup> | 3.2 ± 0.8 <sup>#</sup> |
| 对照组   | 0.4 ± 0.1              | 1.3 ± 0.2              | 1.6 ± 0.4              |

注: 与对照组比较, <sup>#</sup> $P < 0.05$

## 3.2.3 组织细菌学培养

绿茶浸出液、红茶浸出液、乌龙茶浸出液、苯扎氯铵对创口致病菌金黄色葡萄球菌均有抑制作用, 其中苯扎氯铵对金黄色葡萄球菌的有较强烈的抑制作用, 其次是绿茶、乌龙茶和红茶; 而无菌水和生理盐水对金黄色葡萄球菌的作用为阴性。见表 3

表 3: 药物对创口致病菌的影响

| 组别    | 菌种组数 | 抑菌圈 (mm) |
|-------|------|----------|
| 苯扎氯铵组 | 6    | 45.5     |
| 绿茶组   | 6    | 30       |
| 乌龙茶组  | 6    | 21.5     |
| 红茶组   | 6    | 28.5     |
| 对照组   | 6    | -        |

注: “-”为阴性; 表中每个数据为 3 个圆纸片抑菌圈的平均值

## 4 讨论与结论

茶叶是一种天然、绿色、健康的饮品, 是世界三大无酒精饮料之一, 深受世人喜爱, 在日常生活中占有重要地位。许多国家对茶叶的抗炎抑菌作用进行了大量的研究, 茶叶的抗炎抑菌作用已成为目前茶学研究领域最受关注的课题, 茶叶中主要活性成分茶多酚、茶氨酸、茶黄素等已被证实具有抗氧化、抗肿瘤、改善心血管等疾病等保健功能, 其潜在功效机制除与抗氧化作用有关外, 还与其抗炎抑菌作用密切相关。本研究表明, 茶叶浸出液对小鼠创口愈合有一定的促进作用, 且其对创口致病菌有一定的抑制作用, 为研制含有茶叶的促进创口愈合的新型制剂奠定理论基础, 为临床用于治疗创口感染不愈合提供了实验依据。

创伤愈合<sup>[9]</sup>, 是医学研究中重要的研究课题, 常用的急性伤口愈合模型包括切开性伤口模型与切除性伤口模型。切开性伤口模型通常是用剪刀或刀片切割动物皮肤, 形成线形切口, 可深至皮下。这一模型可用于观察伤口愈合过程以及各种全身或局部使用的药物、敷料等对伤口愈合的影响作用。本课题研究采用小鼠切开性创口, 纵向观察 14d 中同一研究指标 (SD) 的变化, 整体分析了 SD 在 3 种发酵程度不同茶叶组及苯扎氯铵组之间的差异, 全面客观的分析了小鼠创口变

化的情况。结果显示, 苯扎氯铵组的小鼠创口在第 9 天完全愈合, 每天用绿茶浸出液, 乌龙茶浸出液, 红茶浸出液处理的小鼠创口分别在实验的第 11 天、第 11 天和第 12 天基本愈合; 而对照组处理的小鼠创口在第 14 天仍然没有好转。这说明茶叶浸出液能促进小鼠创口愈合, 且不同茶叶对小鼠创口愈合作用存在差异。

本研究的创面色泽结果显示, 经治疗后的小鼠创面色泽红润, 创面健康, 说明茶叶对创面色泽有调节作用, 从而发挥茶叶促进创口愈合的作用。

本研究通过测定不同茶叶对创口致病菌的抑制作用结果显示, 茶叶能抑制创口致病菌。已有研究表明, 茶叶浸出液可抑制创口致病菌<sup>[10]</sup>。而且茶叶中的茶多酚对创口致病菌有较强的抑制作用, 如金黄色葡萄球菌、普通变形杆菌、枯草杆菌、铜绿色假单胞杆菌、口腔变异链球菌、大肠埃氏杆菌等这些致病菌均有抑制作用<sup>[11]</sup>。茶色素的抑菌作用也已见报道<sup>[12]</sup>, 还有些成分的作用和机制尚不清楚, 这些成分同时存在于茶叶中, 并协同发挥抑菌作用<sup>[13]</sup>; 因此, 本课题组认为茶叶通过抑制创口致病菌, 尤其是金黄色葡萄球菌, 从而发挥着促进创口愈合起的作用。

综上所述, 将茶叶浸出液用于治疗创面感染不愈合, 可达到抑菌抗炎的效果, 本课题组结果显示, 对照组在 14d 暂未愈合, 而茶叶组在 11d 左右已愈合, 愈合时间与对照组相比较短; 各种茶叶浸出液组对创面换药 7d 左右, 创面色泽红润, 基本好转, 且恢复时间与对照组相比较短。茶叶浸出液应用于创口创面感染不愈合治疗, 具有取材方便、价抗菌效果好、不担心耐药菌的产生等优点, 加之通过温水清洗创面, 可加快局部血液循环, 改善局部供氧和营养。因此, 将茶叶浸出液用于治疗慢性感染性创面有一定的研究价值。

## 参考文献

- [1] Bedian I. Bio-based materials with novel characteristics for tissue engineering applications—A review[J]. Int J Biol Macromol, 2017, 98(15): 837–846.
- [2] Michopoulou A. How do epidermal matrix metalloproteinases support re-epithelialization during skin healing[J]. Eur J Dermatol, 2015, 25(11): 33–42.
- [3] 赵艳琳. 茶叶提取物的抑菌作用研究[J]. 包装工程, 2017, 38(11): 30–33.
- [4] 阴晨, 严钰璋. 艾叶提取物对大鼠口腔溃疡的治疗作用[J]. 中南大学学报, 2017, 42(7): 824–830.
- [5] Kim Y C, Choi S Y, Park E Y. Anti-melanogenic effect of black, green, and white tea extracts in immortalized melanocytes[J]. Journal of Veterinary Science, 2015, 16(2): 135–143.
- [6] Wang W X. Phytochemicals from Camellia nitidissima Chi inhibited the formation of advanced and glycation end-products by scavenging methylglyoxal[J]. Food Chemistry, 2016, 205: 204–211.
- [7] Ohba M. Antiviral effect of theaflavins against caliciviruses[J]. Antibiot (Tokyo), 2017, 70(4): 443–447.
- [8] 王天宇. 防水型液体创可贴的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2016, 25(4): 433–438.
- [9] Chiou YS, Wu, JC, Huang QR, et al. Metabolic and colonic microbiota transformation may enhance the bioactivities of dietary polyphenols[J]. Funct Foods, 2014, 7(3): 3–25.
- [10] 李丽贤, 雷艳红. 茶叶活性成分的化学和药理作用[J]. 中国茶叶, 2018, 15(2): 58–60.
- [11] 刘增辉. 茶多酚对不同植物病原菌抑制作用的研究[J]. 化学与生物工程, 2019, 36(3): 22–26.
- [12] 刘莉. 浅谈茶叶主要功效成分及其生物活性[J]. 南方农业, 2018, 12(24): 132–141.
- [13] 申雯. 茶叶主要活性成分的保健功能与作用机制研究进展[J]. 茶叶通讯, 2016, 43(1): 8–13.