

两性霉素 B 联合利福平复方溶液治疗耳真菌病临床疗效研究*

罗红强 邓林强[#]

(江西省人民医院 南昌 330006)

摘要:目的:观察两性霉素 B 联合利福平复方溶液治疗耳真菌病的临床疗效,进而探讨有效的治疗方法。方法:(1)运用棋盘式微量液基稀释法测定两性霉素 B 联合利福平对白色念珠菌标准菌株(编号 ATCC90028)的体外 MIC 值,在此基础上计算部分抑菌浓度指数(FIC);依据 FIC 值判断两药联用是否有协同作用;(2)经真菌培养及鉴定确定为耳真菌病 60 例患者中,根据临床症状与体征轻重的得分标准,随机分为三组,分别用两性霉素 B(A 组)、两性霉素 B 联合利福平复方溶液(B 组)、3%水杨酸酒精滴耳液(C 组)外耳道局部治疗 1 周、2 周后,观察三组愈显率;并随访 1 年。结果:(1)两药联用的 FIC 指数小于 0.5;(2)三组愈显率比较,第 1 周:B 组愈显率最高,较其他两组有显著性差异($P < 0.05$),第 2 周:A、B 组愈显率相比,无显著性差异($P > 0.05$),A、B 组分别与 C 组愈显率相比,有显著性差异($P < 0.05$)。随访 1 年,C 组复发率比其它两组高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:(1)两性霉素 B 联合利福平对真菌有协同作用;(2)两性霉素 B 联合利福平复方溶液外用制剂是治疗耳真菌病较理想的外用药物,且具有便于取材、配制简单、使用方便、起效快等优点,值得向基层医院推广。

关键词:耳真菌病;两性霉素 B;利福平

中图分类号:R764.11

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2016.09.019

耳真菌病在耳鼻喉科的相关诊断中是一种比较常见的耳部疾病,主要是由于感染了相关霉菌导致在外耳道皮肤、鼓膜及中耳出现了弥漫性炎症等情况^[1]。抗生素、糖皮质激素及免疫抑制剂在我国的广泛应用,致使真菌病感染的机会增多,同样发生在耳部的真菌病更呈日渐增多的趋势。其致病菌种以曲霉菌、白念珠菌和桔青霉菌为主^[2-4]。但临床上因真菌病有多发性、耐药性、复发性的特点,加之治疗上无高效以及低毒的外用滴耳药物,耳真菌病治疗效果不佳一直是一个困扰医患的棘手问题。以前国内曾有两性霉素 B 和利福平联合运用,增加抗真菌疗效的报道^[5-6],却未有明确的实验数据证明。为核实协同治疗效果,我们于 2010 年 1 月~2015 年 1 月进行两药协同试验之后,分别选择两性霉素 B 溶液、两性霉素 B 联合利福平复方溶液、3%水杨酸酒精滴耳液治疗耳真菌病患者,对照观察疗效。现报告如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料 门诊病人中,选择真菌培养及菌种鉴定确定为外耳道真菌患者 60 例(73 耳),男 25 例(30 耳),女 35 例(43 耳);左耳 33 例,右耳 40 例;年龄 18~68 岁,平均 41.4 岁。本组病例女性多于男性,单侧发病多见,左、右耳发病无明显差异。

1.2 临床表现 所有病例均有不同程度的外耳道瘙痒感,以夜间为甚;部分有耳闷塞感或听力下降(54/73)、流少量稀薄分泌物(33/73)。检查外耳道内 1/3 段有灰白色、灰黄色或烟黑色干痂样膜状物(44/73),或附有粉状、绒毛状灰色或黑色霉苔(30/73),或少量黄色脓性分泌物(11/73),2 例穿孔,

5 例部分累及耳廓。清理后可见外耳道皮肤充血肿胀,皮肤糜烂。累及鼓膜者可见鼓膜充血、糜烂。

1.3 研究方法

1.3.1 病原学检测 治疗前后全部病例均进行耳道皮屑痂块直接涂片镜检和真菌培养,找到真菌菌丝或孢子和培养生长真菌为确诊。

1.3.2 两药协同试验 采用棋盘式设计的微量液基稀释法。即利福平和两性霉素 B 于 96 孔板上以二维棋盘的纵(A~H)和横(2~11)两方向分别进行倍比稀释。96 孔板上两性霉素 B 浓度分别为 4、2、1、0.5、0.25、0.125、0.062 5、0.031 3、0.015 6、0.007 8、0.003 9 $\mu\text{g/ml}$,与两性霉素 B 合用的利福平的浓度分别为 200、100、50、25、12.5、6.25、3.13 $\mu\text{g/ml}$ 。试验操作步骤同 CLSI 推荐的液量液基稀释法^[7]。结果的判读:FIC 指数 < 0.5 为协同作用,0.5~1 为相加作用,1~2 为无关作用, > 2 为拮抗作用。两性霉素 B 和利福平标准品购自江西省食品药品检验所(江西宏康医药科技有限公司)。

1.3.3 溶液制备 (1)两性霉素 B 溶液:两性霉素 B 25 mg 溶于注射用水 5 ml。(2)两性霉素 B 联合利福平复方溶液:两性霉素 B 25 mg 溶于注射用水 10 ml 中,从利福平滴眼液中取出两片利福平共 10 mg 加入配制。两性霉素 B 溶液为等渗透明液体,复方两性霉素 B 溶液为橙红色等渗透明液体,刺激性甚微,稳定性较差,4 $^{\circ}\text{C}$ 可存放 20 d,室温下一般应在 1 周内使用。(3)3%水杨酸酒精液购自河南新乡卫生用品有限公司。

1.3.4 症状评分及分组标准 临床症状与体征观察包括闷胀、耳漏、瘙痒、绒毛状物、皮肤肿胀、糜烂 6

* 基金项目:江西省卫生厅科研课题(编号:20143003)

[#] 通讯作者:邓林强,E-mail:109151927@qq.com

项,分别按无(0分)、轻(1分)、中(2分)、重(3分)计分。大于12分为重度真菌病,小于6分为轻度真菌病。

1.3.5 给药方法 根据真菌病人轻重得分随机分为三组,三组患者性别、年龄及病情经统计学检验差异无统计学意义 ($P>0.05$)。三组均外耳道局部滴药:(1)两性霉素 B 溶液(A组);(2)两性霉素 B 联合利福平复方溶液(B组);(3)3%水杨酸酒精液(C组)。用药前由固定医生仔细清理外耳道,清除痂块或污秽糊状物,外用制剂每天滴耳3次,浸泡10~15 min。疗程最短7d,最长14d,用药1周开始观察记录外耳道体征和临床症状的变化,2周后再复诊1次,并作真菌培养,检查培养是否阴性。

1.3.6 疗效评判标准 治愈:症状消退,真菌培养转阴性;显效:用药后症状与体征明显改善,真菌培养转阴;弱效:症状与体征有所改善;无效:用药后症状与体征无改善,真菌培养阳性或因毒副作用被迫停药。愈显率 = 治愈率 + 显效率。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计学处理,计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组比较采用 t 检验和单因素方差分析方法,计数资料用 χ^2 检验, Ridit 分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 耳真菌病患者中真菌分布 60例患者(73耳)分离出的致病真菌73株,其中曲霉菌53株(包括黄曲霉菌16株,黑曲霉菌13株,烟曲霉菌5株,白曲霉菌5株,杂色曲霉菌6株,构巢曲霉菌3株,棒曲霉菌2株,土曲霉菌3株),占72.60%;白色念珠菌8株,占10.96%;其它真菌12株(桔青霉菌6株,尖端单孢霉菌4株,球孢子菌1株,芽生菌1株),占16.44%。详见表1。

表1 耳真菌病患者中真菌分布

真菌种类	数量(株)	构成比(%)		
曲霉菌	黄曲霉菌	16	21.92	
	黑曲霉菌	13	17.81	
	烟曲霉菌	5	6.85	
	白曲霉菌	5	6.85	
	杂色曲霉菌	6	8.22	
	构巢曲霉菌	3	4.11	
	棒曲霉菌	2	2.74	
	土曲霉菌	3	4.11	
	念珠菌	白色念珠菌	8	10.96
		其它真菌	6	8.22
其它真菌	桔青霉菌	6	8.22	
	尖端单孢霉菌	4	5.48	
	球孢子菌	1	1.37	
	芽生菌	1	1.37	
共计	73	100.01		

2.2 两药协同试验 单独两性霉素 B 的体外最低抑菌浓度为 0.25 $\mu\text{g/ml}$, 加入浓度 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 的利福平使两性霉素 B 的体外最低抑菌浓度降低到

0.0313 $\mu\text{g/ml}$ 。FIC 值小于 0.05,两药有协同作用。

2.3 三组患者疗效比较 治疗后第1周,B组分别与A组、C组愈显率相比,有显著性差异 ($P<0.05$); 治疗后第2周,A、B组愈显率相比,无显著性差异 ($P>0.05$),A、B组分别与C组愈显率相比,有显著性差异 ($P<0.05$)。见表2。治愈患者经随访1年,B组无复发,A组复发1例,C组复发6例,A、B组与C组比较,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

表2 三组患者治疗后1、2周临床疗效比较(耳)

组别	耳数	治愈(耳)		显效(耳)		弱效(耳)		无效(耳)		愈显率(%)	
		1周	2周	1周	2周	1周	2周	1周	2周	1周	2周
A组	25	7	8	6	12	8	3	4	2	52.0	80.0
B组	24	10	12	9	8	2	3	3	1	79.2	83.3
C组	24	4	7	3	5	10	8	7	4	29.2	50.0

3 讨论

临床上常见抗真菌药物有三唑类:酮康唑、氟康唑、伊曲康唑等;多烯类:主要是两性霉素 B。酮康唑、氟康唑对主要的曲霉菌不敏感,伊曲康唑对曲霉菌、白念珠菌和桔青霉菌均敏感,但伊曲康唑不溶于盐水,作为悬浊液,滴耳治疗过程中容易粘附在鼓膜表面,造成部分患者耳闷感觉,故不适应外用滴耳。而两性霉素 B,几乎对所有致病真菌包括念珠菌、隐球菌、毛霉、曲霉、组织胞浆菌、芽生菌、球孢子菌等均有强大的抗菌活性,且溶于水^[3]。故两性霉素 B 是目前最重要的抗真菌药。目前,耳真菌病的治疗以局部治疗为主。有三种给药方式:粉剂喷用、外耳道涂药,制成滴剂滴耳。真菌药物的粉剂局部外耳道喷用或真菌外耳道涂药治疗复杂,效果难以保证。与上述药物剂型相比,外用滴耳剂简单,操作性强。目前临床多采用外用滴耳剂中效果较好的水杨酸酒精滴耳^[4],故本研究选用两性霉素 B 溶液、两性霉素 B 联合利福平复方溶液治疗耳真菌病的同时,将其作为参照,进行临床观察。

在体外两药的协同试验中,我们发现两性霉素 B 合用利福平能提高体外抗真菌效价。这和国内两性霉素 B 和利福平联合用于真菌性眼炎具有明显的疗效的报道^[5-6]是一致的。探究机理,我们认为两性霉素 B 和利福平联合使用,增强抗真菌效应,在体内、外均具有显著的协同作用^[5-6,8-9]。其机制:与敏感真菌细胞膜上的甾醇结合导致真菌细胞内重要物质外漏,使真菌死亡。同时由于两性霉素 B 嵌入细胞膜的脂质双层结构中,改变了细胞膜的结构及膜的流动性以及膜蛋白的位置及功能,从而使利福平能顺利进入胞体发挥其抑制真菌 RNA 合成,从而使细胞合成蛋白质与复制 DNA 受阻,加速真菌死

亡^[7,10-11]。

本临床研究结果显示:三组耳真菌病治疗 1 周后,B 组愈显率最高,相比其余两组有显著差异($P < 0.05$)。充分说明两性霉素 B 联合利福平复方溶液治疗耳真菌感染,临床起效最快,愈显时间约 1 周。其起效快与两药协同试验是一致的。图 1 为 1 例外耳道及中耳真菌感染患者的 CT 影像(其症状与体征评分为 15 分),图 2 为两性霉素 B 和利福平复方溶液治疗 1 周,症状明显改善后的复查 CT 影像,可见外耳及中耳高密度影已消失。2 周治疗后观察:A 组愈显率较第 1 周明显提高,与 B 组愈显率相比无明显差异($P > 0.05$),均优于 C 组治疗效果。说明 A 组起效时间慢于 B 组,亦说明 B 组在治疗的第 1 周即能取得较好的疗效。其后 1 年随访观察,C 组复发率最高,A、B 组差异不大。表明在外用滴耳液中,两性霉素 B 联合利福平复方溶液起效快,用药时间短,复发率低,优于目前临床常用的外用滴耳药物。对于在 A 组、B 组中 3 例无效者,其真菌培养为单孢霉菌。我们考虑两性霉素 B 对其敏感性较对曲霉菌、白念珠菌稍弱^[3],故临床效果不佳。

在制剂配比中,我们选择利福平滴眼液中的已进行预先配制的利福平片加入两性霉素 B 溶液中外用滴耳。所配液体为橙红色等渗透明液体,刺激性甚微,给患者造成的不适最轻,而且配制简单。省去了药剂科为配置可溶性液体,加入抗坏血酸、硼酸、硼砂、亚硫酸氢钠、尼泊金乙酯一系列化合物的复杂性,有利于药品配制及推广。虽然本课题样本数不多,有待增加例数,但经三年多的临床使用及 1 年的随访观察,笔者认为:两性霉素 B 联合利福平复方溶液外用制剂是治疗耳真菌病较理想的外用药物,且本方法具有便于取材、配制简单、使用方便、起效快等优点,值得向基层医院推广。

参考文献

[1]黄选兆,汪吉宝,孔维佳.实用耳鼻咽喉头颈外科学[M].第 2 版.北京:人民卫生出版社,2008.1169-1170
 [2]Stern JC,Shah MK,Lucente FE.In vitro effectiveness 13 agents in otomycosis and review of the literature [J].Laryngoscope,1988,98(11):1173-1176
 [3]范静平,陈争明.耳鼻咽喉真菌性疾病[J].中国真菌学杂志,2012,7(2):65-69
 [4]JIA X,LIANG Q,CHI F,et al.Otomycosis in Shanghai:aetiology, clinical features and therapy[J].Mycoses,2012,55(5):404-409
 [5]吴伟,何梅凤,唐细兰,等.复方两性霉素 B 滴眼液在兔角膜中的药代动力学[J].中国临床药理学杂志,2010,26(6):424-426
 [6]刘立春.真菌性角膜炎的实验室诊断及药物敏感试验分析[J].中国现代药物应用,2008,2(20):75
 [7]Lass-Florl C,Perkhofer S,Mayr A. In vitro susceptibility testing in fungi: a global perspective on a variety of methods [J].Mycoses, 2010,53(1):1-11
 [8]徐稚萍,张敏,陈欢,等.碘酊烧灼联合氟康唑和二性霉素 B 治疗真菌性角膜炎的效果观察[J].中国当代医药,2015,22(27):110-114
 [9]林跃生,叶广坚.复方咪康唑与复方二性霉素 B 滴眼液的研制与临床观察[J].眼科新进展,1995,15(3):201-211
 [10]El-Azizi M.Enhancement of the in vitro activity of amphotericin B against the biofilms of non-albicans Candida spp.by rifampicin and doxycycline[J].J Med Microbiol,2007,56(5):645-649
 [11]Edwards JE Jr, Morrison J, Henderson DK,et al.Combined effect of amphotericin B and rifampin on candida species [J].Antimicrob Agents Chemother,1980,17(3):484-487

(收稿日期: 2016-08-30)



图 1

图 2

(上接第 6 页)肢上举、旋转、后伸外展等功能障碍,喙肱肌和肱二头肌短头附着处有一条索状痛性反应物,肩峰下、岗上肌抵止端压痛明显,X 线片示骨质无异常,诊断为肩周炎粘连期,经针刀、局封、手法治疗 1 次后疼痛大减,夜间能入睡,以后每间隔 7 d 行针刀松解术 1 次,共行 3 次,手法治疗每周 5 次,1 个月后,患者疼痛完全消失,肩关节和三解肌活动功能恢复正常。1 年后随访无异常。

4 讨论

针刀疗法可直接松解粘连组织,解除肌肉韧带、神经血管之间粘连,改善局部血液循环,达到通而不

痛恢复功能之效果。利多卡因可使创伤疼痛减轻,阻断疼痛,减轻炎性刺激^[2]。曲安奈德具有抗炎作用,配合使用可避免软组织松解后再次粘连,有利于炎症吸收,改善微循环,纠正缺血、缺氧,从而恢复局部组织的动态平衡。再配合手法治疗达到疏通经络、活血化瘀的效果。手法将严重的粘连组织弹拨开,针刀、药物、手法三者综合治疗,能起到事半功倍的效果,是临床肩周炎粘连期最理想的综合方法。

参考文献

[1]田纪钧.刃针微创治疗术[M].北京:中国中医药出版社,2005.22-38
 [2]孙国睿,丛日明.推拿联合针刀疗法治疗肩周炎临床研究[J].亚太传统医药,2015,11(16):109-110

(收稿日期: 2016-07-14)