

两性霉素 B 联合阿奇霉素及其他抗真菌药对烟曲霉体外抗菌活性研究

邓洁华, 王刚生, 佟盼琢, 杨晓亮, 田 珂

(河北医科大学第二医院, 河北 石家庄 050000)

[摘要] **目的** 探讨两性霉素 B(AMB)联合阿奇霉素(AZI)及其他常用抗真菌药对临床分离的 30 株烟曲霉体外抗菌活性,以指导临床治疗侵袭性曲霉病合理用药。**方法** 药敏试验采用美国临床实验室标准化研究所(CLSI)制定的 M38-A 方案。**结果** 抗真菌药体外抗菌活性依次为伏立康唑(VRC)0.29 $\mu\text{g}/\text{mL}$,卡泊芬净(CBF)0.45 $\mu\text{g}/\text{mL}$,伊曲康唑(ICZ)0.52 $\mu\text{g}/\text{mL}$,AMB 0.55 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。烟曲霉对特比萘芬(TBF)、5-氟胞嘧啶(5-FC)、氟康唑(FCZ)、AZI 均显示耐药。联合用药有协同作用的为:AMB+ICZ(96.67%)、AMB+VRC(90.00%)、AMB+CBF(83.33%)、AMB+5-FC(50.00%)。**结论** 单独用药时,AMB、ICZ、VRC、CBF 有很强的抗烟曲霉作用,烟曲霉对 FCZ 耐药,AZI 无对抗烟曲霉作用;联合用药时,AMB 与 ICZ、VRC、CBF、5-FC 有协同抗菌作用。对于侵袭性曲霉病,可选择 AMB 联合用药。

[关键词] 烟曲霉;真菌感染;抗真菌药物;两性霉素 B;阿奇霉素;抗菌活性

[中图分类号] R379.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2010)01-0040-03

In vitro antifungal activities of amphotericin B combined with azithromycin and other antifungal agents against *Aspergillus fumigatus*

DENG Jie-hua, WANG Gang-sheng, TONG Pan-zhuo, YANG Xiao-liang, TIAN Ke (The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the antifungal activities of amphotericin B (AMB) combination with azithromycin (AZI) and other antifungal agents against 30 strains of *Aspergillus fumigatus* in vitro, so as to guide rational use of antifungals against invasive aspergillosis. **Methods** The M38-A method recommended by Clinical and Laboratory Standards Institute was used to detect antifungal activity of the combination application of antifungal drugs. **Results** The minimum inhibitory concentration (MIC) of voriconazole (VRC), caspofungin (CBF), itraconazole (ICZ) and AMB against *Aspergillus fumigatus* was 0.29 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.45 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.52 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 0.55 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively. *Aspergillus fumigatus* were all resistant to terbinafine, fluorocytosin-5 (5-FC), fluconazole (FCZ) and AZI. The total percentages of synergistic activity for AMB+ICZ, AMB+VRC, AMB+CBF, and AMB+5-FC was 96.67%, 90.00%, 83.33% and 50.00% respectively. **Conclusion** *Aspergillus fumigatus* were highly sensitive to AMB, ICZ, VRC and CBF, but resistant to AZI and FCZ; The combination of AMB+ICZ, AMB+VRC, AMB+CBF and AMB+5-FC displayed a synergistic activity. The combination of AMB and other antifungals can be chosen for invasive aspergillosis.

[Key words] *Aspergillus fumigatus*; fungal infection; antifungals; amphotericin B; azithromycin; antibacterial activity

[Chin Infect Control, 2010, 9(1): 40-42]

两性霉素 B 是多烯类抗真菌药,对大部分真菌具有抗菌活性,特别是治疗侵袭性真菌感染,疗效肯定,耐药菌株少,仍是目前抗真菌药物中疗效最佳者^[1-3]。由于烟曲霉感染的治疗时间长,故为了提

高药物疗效,降低毒副作用,国内外学者多采用抗真菌药物联合应用。有研究表明^[4],阿奇霉素和两性霉素 B 在体外联合可产生协同抗菌活性。我们对临床送检痰标本中分离出的 30 株烟曲霉进行了 7

[收稿日期] 2009-03-12

[基金项目] 河北省科技厅资助项目(072761788)

[作者简介] 邓洁华(1971-),女(汉族),河北省石家庄市人,主管技师,主要从事真菌及性病实验研究。

[通讯作者] 王刚生 E-mail: djh092@163.com

种抗真菌药及阿奇霉素单独药敏试验,同时进行两性霉素 B 与其他抗真菌药物及阿奇霉素的联合药敏试验,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 30 株烟曲霉均为本院真菌室自临床送检标本中分离。质控菌株近平滑假丝酵母菌 ATCC 2019,参考菌株烟曲霉 ATCC 204305 均购自中科院微生物所。

1.2 抗真菌药物及试验用品 两性霉素 B(AMB)药物原粉由华北制药集团提供,产品批号 080302;伊曲康唑(ICZ)产品由比利时杨森制药公司提供,批号 7073402;伏立康唑(VRC)产品由爱尔兰辉瑞制药有限公司提供,批号 7110001;氟康唑(FCZ)产品由法国辉瑞制药有限公司提供,批号 7073402;卡泊芬净(CBF)产品由美国默沙东制药有限公司提供,批号 J6253;特比萘芬(TBF)产品由北京诺华制药有限公司提供,批号 20073;5-氟胞嘧啶(5-FC)产品由中国药科大学制药有限公司提供,批号 070807;阿奇霉素(AZI)药物原粉由华北制药集团提供,批号 080106。96 孔细胞培养板,德国 Greiner bio-one 产品;RPMI-1640 液体培养基,美国 GIBCO 公司产品。

1.3 药敏试验及结果判定 各种药物的单独最低抑菌浓度(MIC)检测与联合药敏结果判断均参照美国临床实验室标准化研究所(CLSI-2003)制定的 M38-A 方案及相关文献^[5-6]进行。联合药敏试验:采用移液器将药物加入 96 孔培养板中,每行的第 1 孔至第 10 孔为两药联合时的倍比稀释液各 50 μL,第 11 列(孔)、第 12 列(孔)加入 100 μL RPMI-1640 液体培养基,接种时除阴性对照孔(第 12 列)外,其余各孔均加入 100 μL 的 2 倍终浓度菌悬液,35℃培养 48 h 后观察结果。联合用药结果判断:抑菌指数(FIC)<1 有协同作用,1≤FIC<2 有相加作用,2≤FIC 有拮抗作用。

1.4 统计分析 应用 SPSS 10.0 统计分析软件,不同抗真菌药物 MIC 值均数间、不同联合方案 FIC 值均数间比较采用 *Kruskalwallis* 检验,进一步两两比较采用 *Wilcoxon signed Ranks* 检验。

2 结果

2.1 7 种抗真菌药及 AZI 对 30 株烟曲霉体外药敏试验结果 见表 1。TBF、5-FC、FCZ、AZI 均耐药。

AMB 与 VRC 的 MIC 值均数间比较,差异有显著性($Z = -4.09, P < 0.05$);而 AMB 与 ICZ、CBF 的 MIC 值均数间比较,差异无显著性(Z 分别为 $-0.11, -1.52$,均 $P > 0.05$)。

表 1 抗真菌药及 AZI 对 30 株烟曲霉体外药敏 MIC 结果
Table 1 The MICs of antifungals and AZI against 30 strains of *Aspergillus fumigatus*

抗菌药物	MIC 范围(μg/mL)	几何均数(μg/mL)
AMB ^a	0.25~1.00	0.55
ICZ ^b	0.25~1.00	0.52
FCZ ^c	32.00~>64.00	62.59
VRC ^d	0.06~1.00	0.29
CBF ^e	0.13~1.00	0.45
TBF ^f	1.00~8.00	3.10
5-FC ^g	2.00~16.00	5.66
AZI ^h	256.00~1 024.00	812.25

统计时去除 FCZ(MIC>64 μg/mL);a 与 b、d 比较, $P > 0.05$;b 与 d 比较, $P > 0.05$;余任意两两比较,均 $P < 0.05$

2.2 AMB 联合抗真菌药物及 AZI 对烟曲霉体外药敏试验结果 联合用药有协同作用的为:AMB+ICZ(96.67%)、AMB+VRC(90.00%)、AMB+CBF(83.33%)、AMB+5-FC(50.00%)。AMB+ICZ 组分别与 AMB+VRC、AMB+TBF、AMB+AZI 组均数间比较,差异有显著性(Z 分别为 $-2.17, -4.49, -4.58$,均 $P < 0.05$);AMB+CBF 组分别与 AMB+ICZ、AMB+VRC 组均数间比较,差异无显著性(Z 分别为 $-1.79, -0.45$,均 $P > 0.05$);AMB+VRC 组、AMB+CBF 组分别与 AMB+AZI 组均数间比较,差异有显著性(Z 分别为 $-4.06, -4.21$,均 $P < 0.05$)。见表 2。

表 2 AMB 联合抗真菌药物及 AZI 对 30 株烟曲霉 FIC 范围及百分指数

Table 2 The range of FIC and percentage of AMB combined antifungals and AZI against 30 strains of *Aspergillus fumigatus*

联合药物	FIC 范围	FIC<1 (%,n)	1≤FIC<2 (%,n)	FIC≥2 (%,n)
AMB+ICZ ^a	0.19~1.00	96.67(29)	3.33(1)	-
AMB+FCZ ^b	0.57~16.25	3.33(1)	30.00(9)	66.67(20)
AMB+VRC ^c	0.25~1.25	90.00(27)	10.00(3)	-
AMB+CBF ^d	0.06~1.50	83.33(25)	16.67(5)	-
AMB+TBF ^e	0.31~2.50	33.33(10)	50.00(15)	16.67(5)
AMB+5-FC ^f	0.38~3.0	50.00(15)	43.33(13)	6.67(2)
AMB+AZI ^g	0.27~8.13	20.00(6)	43.33(13)	36.67(11)

a 与 c、f、e、g 比较, $P < 0.05$;d 与 a、c 比较, $P > 0.05$;c 与 f、e、g 比较, $P < 0.05$;d 与 f、e、g 比较, $P < 0.05$;f 与 g 比较, $P < 0.05$;e 与 f、g 比较, $P > 0.05$

3 讨论

近年来,新型抗真菌药伏立康唑、卡泊芬净等被推荐用于侵袭性曲霉病的首选药物^[7-8]。国内樊新等^[8]报道,在伏立康唑、卡泊芬净、伊曲康唑和两性霉素 B 4 种抗真菌药中,卡泊芬净对烟曲霉敏感性最高。本研究以临床送检痰标本中分离的 30 株烟曲霉作为受试对象,在单独应用抗真菌药物时,AMB、ICZ、CBF、VRC 在体外均有很强的抗曲霉作用,以 VRC 效果最好,但烟曲霉对 FCZ 耐药,AZI 单独应用无直接抗曲霉菌的作用。结果的不同可能与地域以及标本来源不同等有关,尚需要大样本进一步验证。

联合用药就是同时应用不同作用靶位的药物,药物之间可产生协同抗菌、相加作用或拮抗作用。FIC 值作为联合用药时各药相互作用的指标,已被国内外多数学者采用^[9-11],其实验结果与体内治疗效果有非常好的一致性^[12]。本研究结果显示,AZI 单独应用对烟曲霉无抗菌作用,但与 AMB 联合使用时可产生协同和相加的抗菌作用。AMB 分别与 ICZ、VRC 及 CBF 联合,也产生协同抗菌作用,其联合之间前两者差异有显著性($P < 0.05$),后两者差异无显著性($P > 0.05$)。但 AMB 分别与 ICZ、VRC 及 CBF 联合均优于 AMB 和 AZI 联合,差异有显著性($P < 0.05$)。因此,对烟曲霉引起的肺部或系统性感染,选择药物应根据患者个体差异、病情发展以及药敏试验结果综合考虑,严格掌握适应证。若采取联合用药,建议首选 AMB 与 ICZ、VRC 及 CBF 联合。若患者由于经济原因不能承受时,可考虑 AMB 与 AZI 联合,可提高疗效,还可治疗和预防细菌感染,其机制可能是通过抑制真菌蛋白合成达到抗真菌作用。三唑类的 VRC、棘白菌素类的 CBF 联合应用时,因两者抗菌作用的靶位不同,临床治疗曲霉感染可产生协同抗菌作用,同时也有很好的治疗效果^[13],也可用于治疗侵袭性曲霉的感染。CBF 联合 VRC 国外已有报道^[14],两者联合体外抗烟曲

霉菌有协同相加作用,但二者临床联合应用较少,本研究尚未做,今后将进一步研究。

[参考文献]

- [1] 马小军,李桂萍,周炯,等. 两性霉素 B 治疗侵袭性真菌感染回顾性研究[J]. 中华内科杂志,2007,46(9):718-720.
- [2] 肖毅,周剑峰,张义成,等. 两性霉素 B 治疗免疫功能低下患者侵袭性真菌感染[J]. 内科急危重症杂志,2008,14(1):29-31.
- [3] 秦启贤. 临床真菌学[M]. 上海:复旦大学出版社,上海医科大学出版社,2001:364-375.
- [4] 王端礼. 医学真菌学[M]. 北京:人民卫生出版社,2004:100-102.
- [5] 孙志坚,李若瑜,李东明,等. 产孢丝状真菌 NCCLS 药敏试验方法的应用[J]. 中华检验医学杂志,2001,24(1):43-44.
- [6] 郑玮清,王文莉,李若瑜,等. 微量法检测曲霉对六种抗真菌药物的敏感性[J]. 中华医学检验杂志,1999,22(6):377-378.
- [7] Moore C B, Walls C M, Denning D W. In vitro activities of terbinafine against *Aspergillus* species in comparison with those of itraconazole and amphotericin B[J]. Antimicrob Agents Chemother,2001,45(6):1882-1885.
- [8] 樊新,徐修礼,白庆咸,等. 抗真菌药物单独与联合应用对烟曲霉的体外抗菌活性研究[J]. 中国感染控制杂志,2007,6(2):90-92.
- [9] Verweij P E, an den Bergh M F, Rath P M, et al. Invasive aspergillosis caused by *Aspergillus ustus*; case report and review [J]. Clin Microbiol,1999,37(5):1606-1609.
- [10] Ryder N S, Leitner L. Synergistic interaction of terbinafine with triazoles or amphotericin B against *Aspergillus* species [J]. Med Mycol,2001,39(1):91-95.
- [11] Kontoyiannis P, Lewis R E, Sagar N, et al. Itraconazole amphotericin B antagonism in *Aspergillus fumigatus*; an E-test based strategy[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44 (10): 2915-2918.
- [12] 董平,万喆,李若瑜. 抗真菌药单独及联合应用对曲霉菌的体外药敏试验研究[J]. 中华检验医学杂志,2003,26(9):527-529.
- [13] 钱锡峰,沈云峰,蒋元强,等. 卡泊芬净、伏立康唑序贯疗法与伊曲康唑完整疗程治疗 52 例恶性血液病患者继发侵袭性真菌感染的疗效比较[J]. 复旦学报(医学版),2008,35(6):902-907.
- [14] Sofia P, Gloria G, Annette W F, et al. In vitro interaction of caspofungin acetate with voriconazole against clinical isolates of *Aspergillus spp.* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002,46(9):3039-3041.

欢迎投稿

欢迎订阅