



被忽视的生物污染物：环境中的耐药性真菌及其抗性基因

王星烁¹, 常致远¹, 王天乐¹, 罗义², 高彦征³, 陈则友^{1*}

1. 南开大学环境科学与工程学院, 环境污染过程与基准教育部重点实验室, 天津 300071

2. 南京大学环境学院, 水污染控制与资源绿色循环全国重点实验室, 南京 210093

3. 南京农业大学土壤有机污染控制与修复研究所, 南京 210095

* 联系人, E-mail: zeyou@nankai.edu.cn

2025-12-07 收稿, 2026-01-15 修回, 2026-02-02 接受, 2026-02-05 网络版发表

国家自然科学基金(42277386)和天津市自然科学基金(24JCYBJC01900)资助

摘要 耐药性真菌(antifungal-resistant fungi, ARF)及其抗性基因(antifungal resistance genes, AFRGs)在环境中广泛存在, 正成为日益严峻的全球公共卫生威胁, 对免疫功能低下人群尤其存在风险. 然而, 文献计量学分析显示, 自本世纪以来, 环境领域中关于真菌耐药性的研究数量仅约为细菌耐药性研究的3%, 在全部微生物耐药性相关研究中所占比例亦不足6%, 表明科学界长期以来对真菌耐药问题的系统性关注和研究明显不足. 作为被忽视的生物污染物, ARF与AFRG的环境赋存特征、传播途径及其健康风险亟需系统梳理. 本文全面阐述了ARF与AFRG的环境分布、重点关注类别及检测技术, 总结了ARF的多种复杂耐药机制及其形成驱动力, 并基于“One Health”理念分析了ARF和AFRG在环境介质、动植物和人类间的跨介质传播路径、影响因素以及潜在生态与健康风险. 论文旨在响应国家遏制微生物耐药行动计划, 呼吁加强对环境真菌耐药性问题的关注, 推动跨学科研究, 以制定更为有效的防控策略, 应对这一日益严峻的全球性挑战.

关键词 真菌耐药, 抗性基因, 健康风险, 抗性机制, 生物污染物

真菌作为一类以腐生、共生或寄生方式生存的真核微生物, 广泛存在于自然环境中, 尤其常见于植物残体、腐朽木材及与之紧密接触的土壤、水体等^[1], 其中的一些种类可以通过真菌孢子的形式, 借助空气传播被人体所摄入. 据估计, 人体每天都会吸入成千上万的真菌孢子^[2], 其中包括具有致病性的真菌病原体. 尽管大多数情况下这些摄入的孢子并不会引起明显的生理疾病, 但对于免疫力低下或处于非健康状态下的人群, 这些真菌孢子可能引起过敏、感染乃至侵袭性真菌病等一系列疾病, 影响正常生活, 情况严重的甚至危及生命^[3]. 然而与每年进入临床试验及上市申请阶段的用于细菌性感染治疗的抗生素就有近百种相比^[4], 目前可用

于治疗真菌感染的常用临床药物仅有五类(丙烯胺类、唑类、多烯类、棘白菌素类、嘧啶类似物)^[5], 因此在关键时刻用于拯救患者生命的抗真菌药物十分有限. 据统计, 每年约有650万例侵袭性真菌感染发生, 死亡人数约为380万例^[6]. 与此同时, 真菌耐药性的持续进化会进一步削弱现有抗真菌药物的疗效, 使临床治疗面临更大的挑战.

然而, 与细菌耐药性广受关注相比, 真菌耐药性的威胁却长期处于被忽视的边缘, 在环境领域的研究中这一偏颇则更为明显(图1(a), (c)). 利用Web of Science检索SCIE(Science Citation Index Expanded)数据库自1998年至今与微生物耐药相关研究的所有收录文本,

引用格式: 王星烁, 常致远, 王天乐, 等. 被忽视的生物污染物: 环境中的耐药性真菌及其抗性基因. 科学通报

Wang X, Chang Z, Wang T, et al. Neglected biological contaminants: antifungal-resistant fungi and antifungal resistance genes in the environment (in Chinese). Chin Sci Bull, doi: 10.1360/CSB-2025-5880

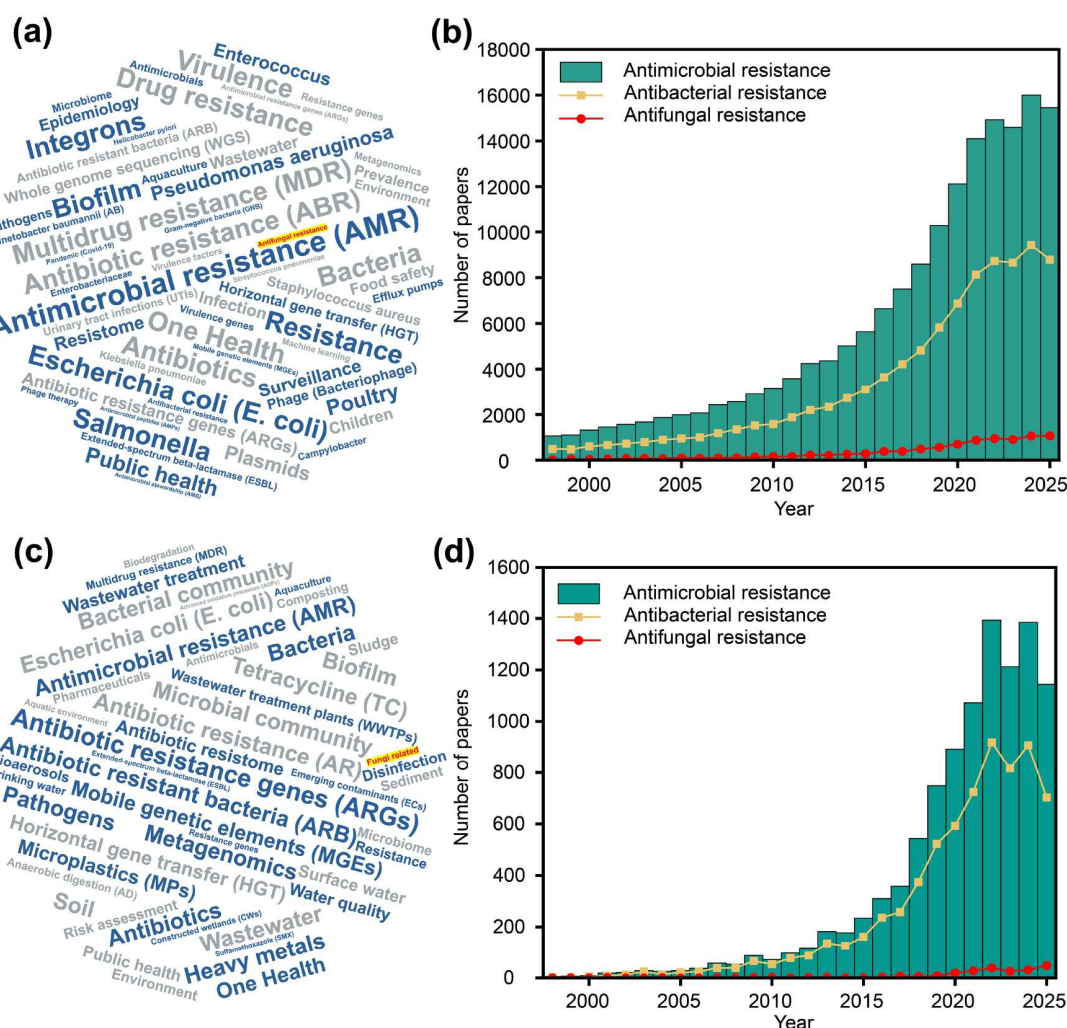


图 1 (网络版彩色)微生物耐药研究现状总结。(a) 所有微生物耐药相关研究中关键词出现频次(真菌耐药研究使用黄色高亮展示); (b) 所有微生物耐药性及其中真菌耐药性、细菌耐药性相关研究每年的发文量; (c) 环境领域微生物耐药相关研究中关键词出现频次, (真菌耐药研究使用黄色高亮展示); (d) 环境领域微生物耐药性及其中真菌耐药性、细菌耐药性相关研究每年的发文量

Figure 1 (Color online) Overview of antimicrobial resistance (AMR) research. (a) Keyword frequencies in AMR research across all research fields, keyword “antifungal resistance” was highlighted in yellow. (b) Annual publication counts for AMR, antifungal resistance, and antibacterial resistance across all research fields. (c) Keyword frequencies in environmental AMR research, keyword “antifungal resistance” was highlighted in yellow. (d) Annual publication counts for AMR, antifungal resistance, and antibacterial resistance within environmental research

在这些文本中分别检索与细菌及真菌耐药有关的研究并进行统计。结果发现抗细菌药物耐药性(抗生素抗性)在所有的微生物耐药研究中受到高度关注(图1(a)), 相关研究占比超过所有研究的55%(图1(b)); 而即使我们采取理论上会导致对真菌耐药研究占比过高估计的策略进行检索, 与抗真菌药物耐药性相关的研究仍仅占所有研究的不足6%, 约为细菌耐药研究的十分之一(表1, 图1(b))。将检索结果限定在环境领域(Environmental Sciences & Environmental Studies)后, 抗细菌药物耐药性研究在所有的微生物耐药研究中的占比上升至约

67%; 与抗真菌药物耐药性相关的研究则骤降至接近2%, 约为抗细菌药物耐药性相关研究的3%(表1, 图1(d))。过去我们对真菌耐药关注不足可能主要源于两方面原因: 一是大多数真菌的最适生长温度普遍低于人体体温, 人体较高体温与完善的免疫系统能够有效防御真菌^[7], 此前发现的十余种主要致病真菌^[8]多仅引起表层或皮下浅层感染, 较少直接威胁生命, 从而在一定程度上降低了对其潜在风险的重视; 二是针对真菌感染的诊断测试技术尚不成熟^[9], 加之真菌基因组的复杂性、遗传多样性高, 使环境耐药研究难度较大^[10], 同

时真菌疾病长期未被纳入公共卫生常规监测与报告体系^[1],进一步导致其在科研和防控层面受到忽视。伴随着新冠疫情的影响、艾滋病感染人群的增加以及全球人口老龄化的加剧,免疫功能受损人群比例显著上升,使得通过空气孢子传播的真菌感染发生频率不断增加^[3],与此同时气候变化显著改变了真菌分布及耐药模式^[10],真菌耐药问题逐渐成为现代医疗系统的重大挑战。本文旨在对环境中耐药性真菌(antifungal-resistant fungi, ARF)及抗性基因(antifungal resistance genes, AFRGs)的种类、分布、耐药机制、生态与健康风险进行系统梳理,并从“One Health”的整体视角出发,探讨当前在检测、评估与控制方面的最新技术进展与未来方向,旨在推动相关领域对环境真菌耐药性问题的重视,为全面认识并有效应对这一日益严峻的全球健康挑战提供科学依据与技术支撑。

1 环境中ARF及AFRG的种类、分布及临床危害性

1.1 环境是ARF及AFRG的重要储存库

环境是ARF和AFRG的重要来源与天然储存库。真菌几乎存在于地球上的每一个栖息地,包括土壤、空气、海洋环境、裸露的岩石表面、动植物体表和体内等^[1]。这些真菌在各类环境选择压力下演化出多种耐受与解毒机制,如外排泵、膜通透性调节及靶标蛋白修饰等^[12]。当前,ARF和AFRG已在土壤、水体、空气、物体表面、动植物等多种环境介质中被检出^[1]。空气中广泛存在真菌孢子,可在长时间内保持活性并进行远距离输送。耐药真菌及其孢子能够通过气溶胶形式在区域乃至洲际尺度传播^[2],是连接环境与人体暴露的重要媒介,因此大气被认为是耐药真菌高度活跃且流动性极强的储存库。土壤是最重要的真菌生态位之一,富含多样化的腐生、共生和致病真菌群落。长期施用含抗真菌活性物质的农药、粪污还田等行为,会对土壤真菌产生持续选择压力,使其成为ARF和AFRG的重要富集与演化场所^[1]。河流、湖泊和海洋沉积物同样可作为耐药真菌的稳定储存库。医院废水、养殖废水和城市污水中常同时含有抗真菌药物残留和ARF^[13,14],污水处理厂虽能去除部分微生物,但仍可能成为ARF和AFRG的“反应器”和扩散源,经出水和污泥向自然水体和土壤释放^[15]。农业生态系统如设施农业和开放农田中长期使用杀真菌剂和农药,对土壤、作物表面和

根际微生物群落产生选择压力,使作物、基质和农田空气成为ARF和AFRG的重要栖息与扩散环境^[2,16]。医院空气、空调系统、湿润表面和医疗废弃物中可检出多种ARF(如耐唑类的曲霉属、念珠菌属)^[17],是ARF和AFRG向患者和社区传播的重要环境储存库。居民建筑、潮湿墙体和通风系统同样可能富集并释放耐药孢子^[18,19]。此外,野生动物、家禽和家畜的皮肤、呼吸道和肠道微生物群中可携带ARF和AFRG^[20,21],其粪便及栖息地土壤、水体构成ARF和AFRG在自然界中的重要循环库。

烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)因其广泛的唑类耐药性、全球分布的普遍性以及临床耐药性起源于环境的巨大可能性受到世界各地研究者的广泛关注^[22]。我们基于文献总结了环境中耐药烟曲霉的分布及相应抗性基因型(表S1)。统计显示耐药烟曲霉在亚洲、欧洲、非洲、北美洲、南美洲均有发现。耐药烟曲霉的最重要来源是空气样本,占有样本的64.87%,且在各类空气样本中均有大量分离株;其次为土壤样本,占有样本的23.27%,其中主要来自农业环境及人类开发环境(人类活动区域,例如城市房屋、医院、学校等);另外,在植物或其残体及堆肥产物中也分离出一定的唑耐药烟曲霉,占有样本的约10%。基因型方面,南美洲最常见的突变基因型为TR₄₆/Y121F/T289A,除南美洲之外的几大洲最常见的均为TR₃₄/L98H。需要说明的是,本次统计中纳入了数项来自欧洲的、基于公民科学计划的研究(表S1),这些研究获得了数量可观的空气耐药烟曲霉分离株,因而可能在一定程度上对总体数据分布产生采样偏倚。基于现有统计结果,我们仅能得到如下初步结论:大气环境中广泛存在可长期存活并远距离传播的真菌及孢子,是耐药真菌及其耐药性状的重要储存与扩散介质,在耐药真菌的环境归趋、区域传播及人群暴露过程中发挥关键作用,因此应被视为亟需重点关注的耐药真菌重要环境存储库。

此外,虽然针对其他种类耐药真菌在环境中的分布研究较少,但依然能够在世界各地的各类环境中发现各种唑耐药真菌(表S1)。一项在博茨瓦纳开展的针对当地树木的采样调查发现新生隐球菌(*Cryptococcus neoformans*)在各类树木中广泛存在且普遍耐药;在巴西南部沿海水域和意大利重症监护室的物品表面均分离出了耐药近平滑念珠菌(*Candida parapsilosis*);在尼日利亚和坦桑尼亚沙滩的微塑料残留中则发现了耐药白色念珠菌(*Candida albicans*)和热带念珠菌(*Candida*

表1 文献检索关键词及结果统计^{a)}

Table 1 Summary of literature search keywords and results

序号	检索目标	检索式	全部相关研究文本数量 (篇)	环境领域相关研究文本数量 (篇)
1	微生物耐药性研究	TS=("antimicrob* resist*") OR TS=("antibiotic resist*") OR TS=("antibacter* resist*") OR TS=("antifung* resist*") OR (TS=("drug resist*") AND (TS=(microb*) OR TS=(bacter*) OR TS=(fung*)))	168349	10436
2	细菌耐药性研究	#1 AND (TS=(bacter*) NOT (TS=(fung*) OR TS=(mycol*) OR TS=(viral) OR TS=(virus) OR TS=(parasi*)))	93603(占微生物耐药相关研究的55.6%)	7036(占微生物耐药相关研究的67.4%)
3	真菌耐药性研究	#1 AND ((TS=(fung*) OR TS=(mycol*)) NOT KP=(bacter*))	9629(占微生物耐药相关研究的5.7%, 占细菌耐药相关研究的10.3%)	234(占微生物耐药相关研究的2.2%, 占细菌耐药相关研究的3.3%)

a) 首先检索与微生物耐药相关的所有研究, 在此检索下的结果中筛选与细菌耐药及真菌耐药相关的研究. 在检索过程中, 采取如下策略: 针对细菌耐药, 检索时排除主题中出现与真菌、病毒、寄生虫等相关微生物的所有研究; 而针对真菌研究进行检索时只排除关键词中存在细菌的研究以保证文本不是同时针对细菌和真菌耐药进行的研究. 在此策略下, 序号2所对应的检索结果中绝大多数文本都只与细菌相关, 而序号3所对应的检索结果中将包含那些同时针对多种微生物的研究, 如纳米颗粒抗微生物效应的相关研究, 所以获得的统计结果在理论上会导致对真菌耐药研究占比的过高估计

tropicalis). 众多实例都说明了环境ARF和AFRG的普遍的、全球性的存在.

1.2 重点关注的ARF及AFRG类型

1.2.1 需优先关注的ARF

世界卫生组织(World Health Organization, WHO)在2017年发布了第一份细菌病原体优先研究清单^[23], 而直到2022年才发布了第一份真菌病原体优先研究清单^[9]. 该清单包括导致急性、亚急性系统性感染且存在耐药性或其他治疗或管控挑战的真菌(图2), 这些真菌是环境中的重要生物污染物. 除足真菌瘤病原体包含跨越各个分类单元的69种真菌外^[24], 还包括属于不同层级分类单元的18类真菌. 其中, 只有毛霉目(Mucorales)病原体属于毛霉门(Mucoromycota); 同属于新型隐球菌属(*Cryptococcus*)的新生隐球菌和格特隐球菌(*Cryptococcus gattii*)被分类为担子菌门(Basidiomycota); 其余15类真菌均属于子囊菌门(Ascomycota).

足真菌瘤病原体从土壤或水体中通过皮肤破损处侵入人体, 感染病例中报告最频繁的病原体是足马杜拉分枝菌(*Madurella mycetomatis*), 其次是塞内加尔镰状孢(*Falciformispora senegalensis*)^[24]. 毛霉目真菌被列为需高度优先关注的病原真菌类别, 其广泛分布在世界各地, 包括最少39种可能引起致死率极高的毛霉病的真菌^[28]. 新生隐球菌和格特隐球菌常见于鸽子粪便、土壤、植物残渣及腐朽木材等场所^[25], 其孢子可随空气被动物和人吸入并造成肺部感染^[2], 因前者在公共卫生领域造成的重大负担而被列为最优先关注的病原真菌. 耳念珠菌(*Candidozyma auris*)、光滑念珠菌(*Na-*

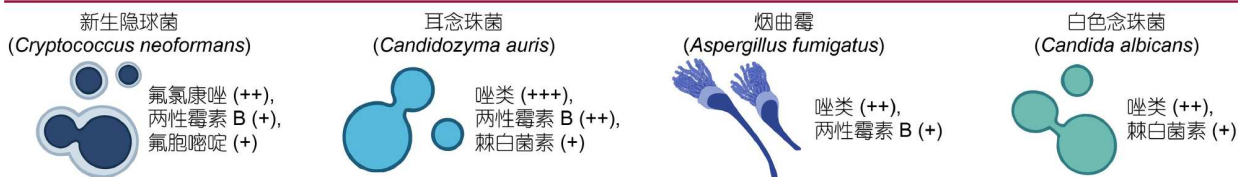
kaseomyces glabrata)、克柔念珠菌(*Pichia kudriavzevii*)与白色念珠菌、热带念珠菌、近平滑念珠菌等存在于健康人菌群中的真菌^[29]处于不同的系统发育分支, 均可引起致死率极高的侵袭性念珠菌病. 烟曲霉是一种广泛分布于全球环境中的常见霉菌, 具有致病性, 可引发侵袭性曲霉病, 近年来, 因唑类耐药烟曲霉感染病例持续增加而受到广泛关注. 研究表明, 农业领域为防止作物减产而广泛使用唑类杀菌剂, 正是导致其耐药率不断攀升重要原因^[22]. 除烟曲霉外, 清单中列明的其他真菌病原体也均有耐药性案例的发生^[24-26,28,29].

1.2.2 AFRG的主要种类

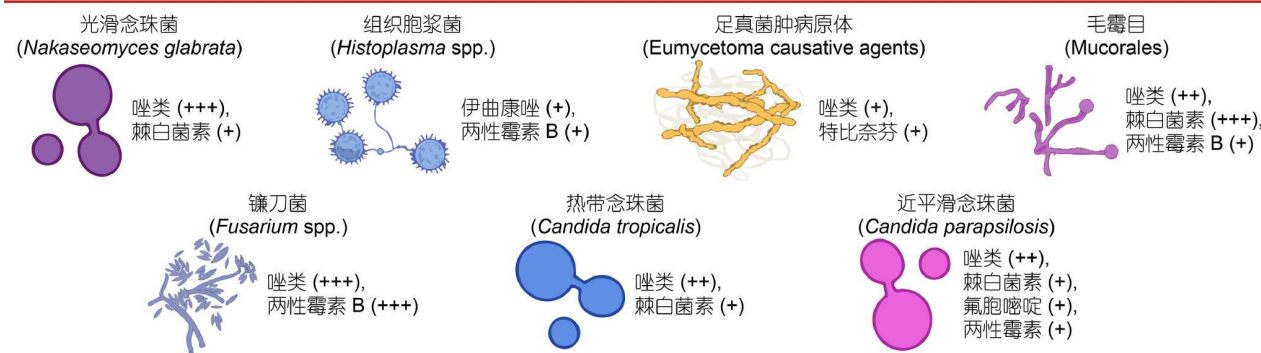
当前使用的临床抗真菌药物主要有五类(表S2), 作用靶点涉及真菌细胞膜、细胞壁以及核酸合成过程(图3(a)), 这与抗细菌药物种类繁多、作用机制多样^[4]形成了鲜明对比. 这主要是因为真菌是真核生物, 其细胞结构与人类宿主更为相似^[5], 因此药物能安全攻击的靶点非常有限. 然而, 当前可用的所有抗真菌药物种类均可能在抗真菌治疗中失效, 与之相关的最主要AFRG类型是药物相关靶标突变.

麦角固醇是真菌细胞膜中的主要甾醇, 丙烯胺类和唑类药物分别靶向麦角固醇合成过程中的角鲨烯环氧化酶(*SOLE*基因编码)和甾醇14 α -去甲基化酶(*ERG11/CYP51*基因编码)^[30], 因此阻断麦角固醇的产生并导致有毒甾醇中间体的积累. 其中唑类药物对多种真菌具有活性, 几十年来一直是使用最广泛的抗真菌药物之一. 多烯类药物, 其中包括一种已经在临床上应用了50多年的经典药物两性霉素 B, 则直接作用于麦角固醇(合成过程涉及多个ERG基因). 然而, 两性霉

最高优先级



高优先级



中优先级

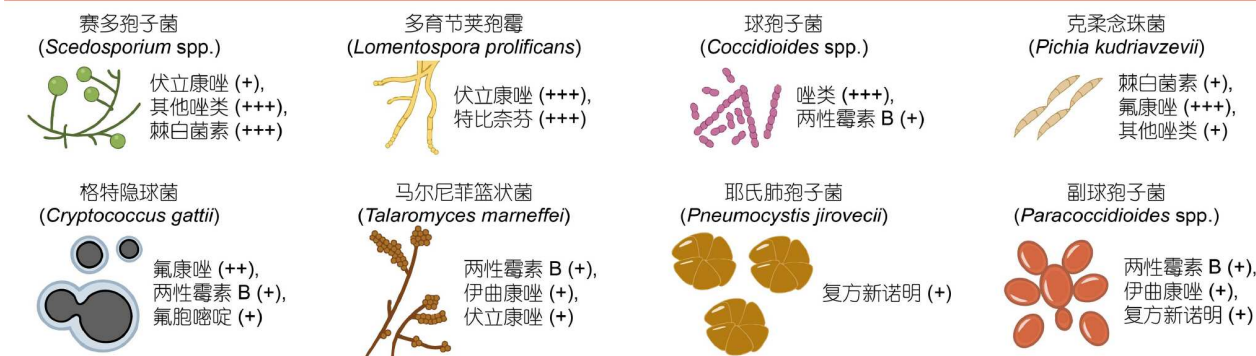


图 2 (网络版彩色)高风险真菌病原体清单及其对当前治疗用药的耐药性状况。针对特定真菌种类的常用治疗药物及其耐药性水平等级: 高(+++), 中(++)和低(+). 耐药性估计依据相关研究数据或语言叙述^[9,24-27]

Figure 2 (Color online) High-risk fungal pathogens and their resistance to clinical antifungal agents. Antifungal resistance profiles of the indicated fungal species, with resistance level depicted as high (+++); intermediate (++) or low (+). Estimates are based on data and descriptions reported in related research^[9,24-27]

素 B 对人类同样存在毒性, 这可能是由于对含胆固醇的细胞膜的潜在影响^[31]. (1,3)- β -葡聚糖是真菌细胞壁的重要组分, 棘白菌素通过抑制(1,3)- β -葡聚糖合酶(*FKS1*和*FKS2*基因编码)来阻断真菌细胞壁的合成^[30]. 该类物质相比于唑类化合物具有更好的安全性, 且同样具有广泛的抗真菌活性, 是近几十年来临床使用的另一类重要药物. 最后, 嘧啶类似物, 则直接抑制核酸(DNA/RNA)合成(涉及*FCY1*、*FCY2*、*FUR1*等多个基因), 发挥抗真菌作用^[3].

截至目前, 共有四个数据库针对AFRG进行统计(表2), 其中最新最全面的真菌耐药数据库为Fun-

gAMR^[32], 涵盖95种真菌的246个基因的35792条突变记录, 可产生对208种药物的抗性, 并对每条记录做置信度评判以提高数据可靠性. 该数据库经由多专家手动检索、整理与交叉验证, 为环境中AFRG的检测与监控提供了准确、全面的目标对象. 我们在数据库中检索并整理了出现在重要ARF中的AFRG(表S3), 由插入缺失、基因重复等造成的耐药突变同样纳入统计^[32]. *CYP51(ERG11)*基因上的132、143、311、447-450、464、471、505、507、510号点突变和*PDR1*基因上的251、278、446号点突变贡献了最多的唑类耐药性; *CYP51(ERG11)*基因上的46、89、98、132、172、

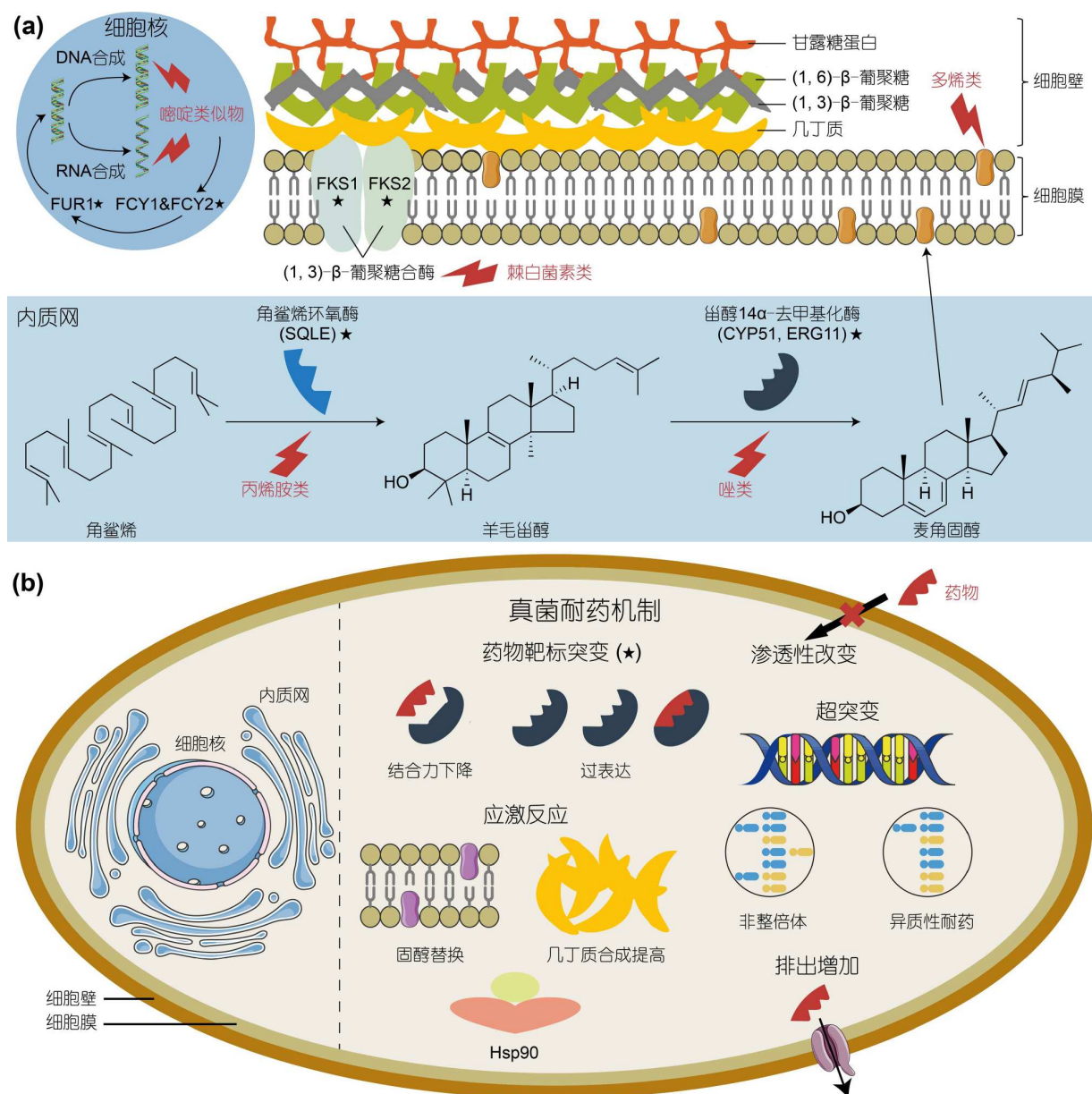


图3 (网络版彩色) 抗真菌药物的作用机理及真菌抗药性机制。(a) 抗真菌药物作用于真菌的细胞膜、细胞壁及核酸合成, 药物作用位置使用闪电符号注明, 突变导致耐药性产生的药物靶标位置使用黑色星号注明; (b) 真菌抗药性机制示意图

Figure 3 (Color online) Antifungal mode-of-action and mechanisms of resistance. (a) Antifungal drugs target the fungal cell membrane, cell wall, and nucleic acid synthesis. Drug action sites are indicated by lightning symbols, while mutation-induced drug resistance sites are marked with black asterisks. (b) Mechanisms of antifungal resistance

248、255、297、358、427、454、495号点位突变和 *ERG6* 基因上的86、177、234、318、329号点位突变贡献了最多的多烯类耐药性; *SQL* 基因上的84、86、108、118、145、267、269号点位突变贡献了最多的丙烯胺类耐药性; *FKS* 基因上的635、641、645、647-649、697、1358、1361号点位突变贡献了最多的棘白菌素类耐药性; *FCY1* 基因上的7、18、22、23、36、

59、71、91、94、97、106、137号点位突变贡献了最多的棘白菌素类耐药性。

1.3 环境ARF及AFRG的高度临床危害性

当前证据显示众多易感患者直接从环境中感染耐药药曲霉而非由于临床治疗过程产生ARF。据推测, 至少三分之二的唑耐药药曲霉感染患者未接受过唑类药

表2 AFRG数据库对比表

Table 2 Comparison of AFRG databases

数据库	发布时间	更新状态	当前版本资源内容	特色工具	数据来源	数据获取	备注
FunResDB	2017	发布后无更新	烟曲霉CYP51A基因唑类耐药突变	在线序列分析工具	人工收集	开放获取(https://funresdb.hki-jena.de/)	数据范围过窄
MARDy	2018	保持更新目前为2.0版本	92种真菌, 212个基因, 187种药物	在线数据库检索及本地比对工具	人工收集+社区支持	开放获取(https://mardy.net/)	完整数据库获取不便
AFRbase	2023	发布后无更新	32种真菌, 29个基因, 37种药物	在线蛋白结构可视化工具	文本挖掘+人工审阅	开放获取(http://proteininformatics.org/mkumar/afibase/)	不全面的人工审阅, 部分条目可能存在信息错误
FungAMR	2025	发布后无更新	95种真菌, 246个基因, 208种药物	基因组耐药突变筛查工具 ChroQueTas	人工收集+人工审阅	开放获取(https://card.mcmaster.ca/)	当前最优

物治疗^[33], 表明其来源可能为环境获得. 赋予唑类抗性的最显著多态性TR₃₄/L98H既在临床样本中也在环境中发现: Kang等人^[34]证明, 临床分离的烟曲霉携带对苯并咪唑和甲氧基丙烯酸酯等农业杀菌剂具有抗性的等位基因; Rhodes等人^[22]的研究显示多个具有唑类耐药基因型的临床分离株与环境分离株高度相似. 以上临床分离株对农业杀菌剂的抗性及其与环境菌株基因组的高度相似性均支持耐药烟曲霉的环境获得途径. 同时, 尚无有力证据表明患者会将唑耐药烟曲霉传播到环境中, 这进一步凸显了环境唑耐药烟曲霉在临床中的高度危害性. 大量研究表明, 环境中检出的唑类耐药烟曲霉与农业生产中长期、大规模使用唑类杀真菌剂密切相关^[1,2,22,35]. 由于唑类化合物同时也是临床治疗侵袭性真菌病的一线抗真菌药物, 农业用唑类农药在环境中形成的持续选择压力可诱导烟曲霉产生与临床药物交叉耐药的突变型, 使农业生态系统成为唑类耐药烟曲霉的重要起源和扩散源^[22,33,35].

除烟曲霉外的其他真菌病原体也已被证明是从环境中获得的. 针对球孢子菌属(*Coccidioides*)多位点基因型的分析证实患者可能通过在旅行途中吸入真菌孢子感染^[36]; 赞比亚地区的新生隐球菌感染疫情则最初起源于米翁波林地和莫帕内林地^[37]. 这些真菌同样可能在环境中发展出耐药性并成为临床治疗的巨大阻碍.

2 环境真菌的耐药机制、形成过程、影响因素及传播风险

2.1 真菌耐药的主要机制

2.1.1 药物靶标突变导致的真菌耐药

药物靶标改变是真菌获得耐药性的常见机制(图3(b)). *ERG11*/*CYP51*突变是各类真菌中发生唑耐药的主

要突变类型^[38,39]; 棘白菌素耐药突变则优先发生于编码(1,3)- β -葡聚糖合酶复合物催化亚基的必要基因*FKS1*和*FKS2*^[40]; 多烯类药物两性霉素B耐药与多个麦角固醇生物合成基因的突变相关, 包括*ERG2*、*ERG3*、*ERG6*和*ERG11*等, 然而这些赋予多烯类耐药性的突变会同时引发严重的细胞应激, 导致生物体对氧化应激、发热温度及中性粒细胞杀伤作用的敏感性增强^[41]; 胞嘧啶渗透酶(*FCY2*编码)、胞嘧啶脱氨酶(*FCY1*编码)、尿嘧啶磷酸核糖基转移酶(uracil phosphoribosyl transferase, *UPRT*, *FUR1*编码)等相关蛋白的突变则可带来对以5-氟胞嘧啶为代表的嘧啶类似物类抗真菌药的抗性^[42,43]. 丙烯胺类药物的耐药性研究尚有所缺失, 有证据显示印度毛藓菌(*Trichophyton indotineae*)对该类药物的耐药性突变主要来自角鲨烯环氧酶在393或397位的氨基酸取代^[44]. 值得注意的是, 观察到*SOLE*基因突变不仅可能影响角鲨烯环氧酶, 还可能影响麦角固醇合成的其他步骤, 导致真菌耐药性增加^[44], 针对相应机制的研究还需进一步深入.

2.1.2 药物靶标过表达导致的真菌耐药

药物靶标表达增加是获得唑类耐药性的另一种普遍模式(图3). 在耐唑类药物的白色念珠菌临床分离株中, 锌簇转录因子基因*UPC2*的功能获得性突变可导致*ERG11*的组成型过表达^[45]. 在烟曲霉和新生隐球菌中, *CYP51A*/*ERG11*基因响应唑类药物暴露的表达分别受固醇调节元件结合蛋白(sterol regulatory element-binding protein, SREBP)*SrbA*和*SreI*的调控^[46,47]. 另外, 值得注意的是, 与表达上调有关的突变通常和与靶标结合力有关的突变同时出现, 导致烟曲霉出现泛唑耐药性^[22]. 最后需要说明, 尽管目前尚未发现真菌通过表达上调获得对其他种类抗真菌药物的抗性, 该机制仍是一种可能的耐药途径, 不能被我们忽视.

2.1.3 通过应激反应获得耐药性

细胞应激反应对于病原体应对各种环境扰动至关重要, 因此其在缓解抗真菌药物诱导的应激过程中发挥着核心作用(图3)。Hsp90是介导真菌耐药性的关键细胞枢纽, 它通过稳定多种信号转导因子来协助念珠菌、曲霉菌和隐球菌应对抗真菌药物应激。

在白色念珠菌中, Hsp90的关键“客户蛋白”包括钙调磷酸酶以及PKC-MAPK细胞壁完整性级联反应的多个成员(PKC1、BCK1、MKK2和MKC1), 因此抑制Hsp90会阻断钙调磷酸酶依赖性应激反应和PKC信号通路的激活, 从而消除对唑类和棘白菌素类药物的耐药性^[48]。此外, 念珠菌中多烯类耐药性的出现也依赖于Hsp90, 这凸显了该蛋白在获得不同种类抗真菌药物耐药性中的作用^[41]。最近的研究还揭示了Hsp90在新生隐球菌介导唑类应激反应中的重要性。通过构建可利用铜抑制型启动子调控Hsp90表达水平的菌株, 研究者发现降低Hsp90表达会增强该病原体对唑类药物及其他细胞应激因子的敏感性^[49]。

对于棘白菌素类药物, 细胞壁补救反应在抵抗葡聚糖合酶抑制所引发的应激中也发挥着关键作用。在白色念珠菌和烟曲霉中, 核心机制之一涉及几丁质的代偿性上调^[50]。在卡泊芬净胁迫时, 细胞壁几丁质含量的升高会导致高浓度药物下的抗真菌活性减弱, 通过被称为“反常生长效应”(eagle effect)的现象部分恢复菌体生长^[50]。

2.1.4 通过减少胞内药物浓度获得耐药性

增加药物的外排或通过改变药物的渗透性使其更少进入细胞是真菌获得耐药性的又一重要途径(图3)。通过质膜外排泵的上调降低细胞内药物积累通常只针对唑类和丙烯胺类药物而与其他积累药物的耐药现象无关, 这可能是因为这些药物不易被外排泵识别^[51]。在白色念珠菌中, ATP结合盒(ABC)转运蛋白*CDR1*和*CDR2*以及主要易化转运蛋白*MDR1*的上调与唑类耐药相关^[52,53]。多药外排转运蛋白的过表达同样介导其他病原真菌的唑类耐药, 其中主要作用因子包括新生隐球菌的*AFR1*和烟曲霉的*AtrF*等ABC转运蛋白^[54,55]。外排介导的耐药机制在多种病原真菌中均存在, 这提示靶向药物外排过程有望成为克服真菌耐药性的新策略。

除了增加药物外排, 微生物还可通过减少药物摄取来降低细胞内药物积累。在白色念珠菌和新生隐球菌中, 唑类药物通过不依赖能量的易化扩散机制进入细胞^[56]。最近在烟曲霉中的研究同样发现存在负责唑

类药物摄取的、不依赖pH和ATP的易化扩散机制^[57]。对负责药物摄取蛋白的鉴定将有助于更深入地研究药物摄取对真菌耐药性形成的临床影响。

2.1.5 其他耐药性机制

非整倍体(aneuploid)突变, 包括节段性非整倍体和全染色体的非整倍体, 是导致真菌获得耐药性的另一种可能方式。在二倍体生物白色念珠菌中, 唑类耐药临床分离株及实验室诱导耐药株中均可观察到5号染色体左臂复制形成等臂染色体[i(5L)]的现象^[58]。这种非整倍性导致编码唑类靶点*ERG11*的基因和调控药物外排的转录因子*TAC1*的基因剂量增加。类似地, 耳念珠菌的进化实验研究表明5号染色体的额外拷贝(携带多个耐药相关基因)有助于该病原体发展出氟康唑耐药性^[59]。全染色体拷贝数变化则可在多种应激条件下发生, 并使真菌在无预先药物暴露的情况下获得对抗真菌药物的耐受性。最近在白色念珠菌中的研究表明, 暴露于癌症化疗药物羟基脲或内质网应激诱导剂衣霉素会筛选出2号染色体三体性, 这种变异同时赋予了对棘白菌素类药物卡泊芬净的耐受性^[60]。鉴于非整倍性可同时改变众多基因的拷贝数, 它有可能赋予对不相关药物的交叉耐受性。

超突变(hypermuation)是驱动多重耐药表型出现的另一重要机制。研究人员证明了模型菌酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中的多倍体现象能够显著加速其在贫碳环境中的适应过程, 这主要得益于具有显著适应度效应的有益突变发生率更高^[61]。更为重要的是, 与经常遭受严重适应性缺陷的细菌超突变谱系不同, 真菌超突变谱系仅产生适度的适应性成本^[3]。

异质耐药(heteroresistance)现象是群体内不同个体药物敏感性差异的一个特殊现象。在新生隐球菌、格特隐球菌及白色念珠菌中, 单个细胞能够产生具有异质性耐药表型的后代群体, 其中一小部分但稳定存在的亚群对唑类药物呈现高度耐药^[62]。该现象使微生物群体能逐步适应浓度递增的唑类药物环境, 且在无药环境下传代后即可恢复原始敏感性。

表观遗传调控同样可以介导获得性真菌耐药。组蛋白修饰是一种明确的机制: 例如, 赖氨酸脱乙酰化酶*HDA1*和*RPD3*的表达在耐氟康唑白色念珠菌分离株中上调, 特别是在耐药性获得的早期阶段^[63]。染色质重塑复合物也与真菌耐药性有关: 在白色念珠菌中, SWI/SNF染色质重塑复合物是氟康唑耐药性相关转录因子*MRR1*的关键共激活因子^[64]。此外, 真菌还表现出基于

RNA的耐药模式:在卷枝毛霉菌(*Mucor circinelloides*)中, RNAi(RNA干扰)介导的表现突变可以通过降解药物靶基因的mRNA来赋予其耐药性^[65];并且,在毛霉感染的全身性小鼠模型中,表现突变介导的耐药性可以在感染过程中迅速诱导和恢复^[66]。

最后,表型异质性也可以改变抗真菌药物敏感性。例如,生物膜形成——一种多态细胞形成的附着性生理状态——是实现耐药性的非遗传途径。生物膜中的真菌细胞产生胞外基质,其可作为药物聚集处降低生物膜内部细胞可及的实际药物浓度^[67]。

2.2 真菌耐药性的形成:自然进化与人为驱动

在数百万年的漫长进化过程中,真菌不断积累并塑造了庞大而多样的耐药性基因库,每一次DNA复制都可能发生基因突变,为种群提供潜在的耐药变异^[68]。虽然这些突变在缺乏外界选择压力时往往难以在种群中占据优势,但它们却构成了种群基因多样性和长期稳定性的基础。在外部环境相对稳定的情况下,这些隐性的突变通常保持隐性;然而,当真菌突然遭遇新的选择压力,如自然产生的抗真菌物质、宿主免疫反应或外源抗真菌药物时,这些潜在变异能够迅速显现,推动种群在短时间内产生明显的适应性变化^[69]。由此可见,真菌耐药性的形成本质上是一种典型的进化过程,即在药物压力的筛选下,具有更高生存力与繁殖力的基因型被快速固定,以确保整个真菌种群的延续。在这一过程中,真菌不仅面临种群内部个体之间的竞争,还需应对来自环境的多重选择压力,包括自然生态中微生物间竞争产生的抗真菌物质,以及人类活动带来的临床抗真菌药物、农业杀菌剂、重金属污染物、抗生素与消毒剂等^[3,69]。多种环境压力共同作用,加速了耐药基因型在真菌种群中的出现与扩散,使耐药性在进化过程中得以持续累积和巩固。

2.2.1 自然进化驱动的真菌耐药性

自然界的土壤、植物根际及微生物群落中本就包含来自细菌、放线菌和真菌自身产生的多种天然抗生素、毒素和竞争性抑制物^[70]。因此,真菌在漫长进化过程中一直处于强烈的天然选择压力之下,被迫发展出多层次的防御系统,包括排出外源化合物的外排泵系统、能解毒或转化药物的代谢酶,以及通过改变膜脂成分来降低化合物进入效率的能力^[3]。临床和农业使用的许多抗真菌药物在结构或作用靶点上与天然化合物存在一定相似性,从而使自然界长期积累产生的耐

药性能够直接或部分地提升真菌对现代临床药物的耐药性^[1,2,22,35]。

此外,水平基因转移(horizontal gene transfer, HGT)虽然在真菌中发生频率低于细菌,但近年来大量基因组研究显示,它在真菌自然耐药性的形成中具有不可忽视的作用。真菌之间可以通过寄生关系、菌丝融合、外源DNA摄取甚至病毒介导的方式获得新的功能基因^[71]。在烟曲霉的研究中发现,其部分三唑类耐药相关基因可能通过HGT途径在不同菌株之间传播,使其耐药性更迅速地扩散^[72]。另一个典型案例是一些早期分化真菌(early-diverging fungi),其基因组中携带大量来源于细菌的外排泵、氧化还原酶与毒素降解酶基因,研究认为这些基因增强了它们在富含微生物抑制物的环境中的生存能力^[73]。

2.2.2 人为驱动的真菌耐药性

相比于自然进化过程,人为因素驱动的真菌耐药性往往在更短时间内形成,并伴随更强烈、更持续的选择压力,从而促使耐药性以更快的速度积累,并呈现出更为显著和稳固的表现^[74]。在人为干预下,真菌所处的环境不再是自然界中多变且间歇性的多重压力,而是人类施加的稳定持续的选择压力,这种持久的定向压力显著提高了特定耐药突变被保留、积累和扩散的概率。由于长期处于高强度选择压力下,真菌种群中的敏感个体被快速淘汰,而携带耐药突变的少数个体则能够迅速扩张,从而推动耐药表型在短时间内扩散形成。在这种情况下,一旦某处产生耐药株,它会在自然环境中更容易扩散到新的环境并建立种群。此外,人类活动往往能够消除空间上的隔离,使不同种或不同生态来源的真菌更容易接触与混合,从而促进耐药基因型在更大范围内的传播,加速耐药性的扩散和区域定殖^[75]。

人为驱动的真菌耐药性压力具有高度的集中性,主要出现在医院、公共交通等人员密集区域,以及农业和畜牧业等长期使用抗真菌剂的生产环境中^[2,16,76]。在这些生态系统中,临床抗真菌药物和农用杀真菌剂的频繁使用,构成了持续而强烈的选择压力,因此成为当前真菌耐药性研究的重点场景。一些非抗真菌物质如广谱杀菌剂、重金属与抗生素等化学物质,同样可能直接影响或通过改变群落相互作用诱使真菌产生耐药性^[3,69],因此有必要将环境中非抗真菌化学物质的长期暴露纳入考量。此外,自然生态系统同样会受到人类活动的间接影响,例如环境污染所带来的长期压力,也

能促使耐药性在自然界中逐步积累^[15]。总体而言, 这些人为因素不仅加速了真菌耐药性的产生与扩散, 也扩大了其在不同生态系统中的影响范围, 对公共健康构成了愈加严峻的威胁。

2.3 “One Health”视角下真菌耐药性的影响因素

“One Health”是由世界卫生组织、联合国粮食及农业组织、世界动物卫生组织和联合国环境规划署等国际机构共同提出的一种平衡和优化人类、动物和生态系统健康的综合统一方法, 强调人类、家养动物和野生动物、植物以及更广泛环境(包括生态系统)的健康密切相关且相互依存, 因此需动员社会不同层面的多个部门、学科和社区, 共同应对健康和生态系统威胁。该理念强调从系统视角理解疾病发生、传播与控制机制, 而非孤立地处理单一健康问题^[77]。

“One Health”理念指出, 人类健康与动物健康及其共同生存的环境密切相关, 三者相互影响、相互制约^[77]。基于这一视角, 真菌耐药性的产生与传播不仅是医学问题, 更是生态系统层面的挑战。比起细菌, 真菌易产生孢子, 其在自然环境、动植物与人类之间的跨介质传播更为常见, 将其影响因素与生态健康风险放在“One Health”这一整体框架下加以研究则更为必要。

2.3.1 环境中真菌耐药性的影响因素

环境污染、生物多样性丢失与气候变化, 作为联合国提出的“三重行星危机”(triple planetary crisis), 正以复杂且相互关联的方式, 逐步影响自然环境中真菌耐药性的形成与演变。环境污染所带来的持续化学选择压力, 为耐药性状和AFRG的出现与保留提供了条件; 生物多样性丧失削弱了生态系统的稳定性与调控能力, 使ARF及AFRG更容易在部分环境中维持和累积; 气候变化改变了真菌的地理分布、繁殖规律及群落结构, 使部分耐药真菌在更广泛区域内获得生存优势。三者相互叠加并共同作用, 使自然环境很大程度上参与到真菌耐药性的产生与传播过程中, 其生态与健康影响需要持续关注与研究(图4)。

环境污染对真菌施加额外选择压力会推动真菌种群发生快速进化, 筛选出适应能力更强、耐受水平更高的个体(图4)。工农业生产过程中排放的污染物例如防腐剂、消毒剂及农业化学品残留等, 为真菌施加了额外的环境胁迫^[13,14]。处于亚抑制浓度污染物胁迫下的真菌往往通过增强外排泵活性、修饰细胞膜成分或激活抗氧化应激通路等方式提高生存能力, 从而在城

市生态系统中维持耐药优势^[69]。例如某些金属离子如铜、锌和镉能诱导真菌表达多重耐受机制, 这些机制与药物外排泵调控或氧化应激反应存在交叉, 从而提升其对抗真菌药物的耐受水平^[78,79]。三唑类、甲氧基丙烯酸酯类和苯并咪唑类等化学品同样可以筛选真菌耐药性且抗性种群似乎可以稳定保持, 在1~2年内可以持续检测到^[80]。更为重要的是, 自然环境例如水体、土壤、大气等体系中往往同时存在种类多样、来源复杂且浓度水平不一的化合物污染^[81], 这些物质可能通过改变真菌的生理状态、群落结构及选择压力, 对耐药性产生影响。然而, 目前关于此类复合污染背景下真菌耐药性形成与演变机制的认识仍较为有限, 其实际作用和生态意义尚不清晰。因此有必要通过更贴近环境真实情境的综合实验设计, 为全面理解环境污染与真菌耐药性之间的关系提供更加可靠的科学依据。

生物多样性的丢失会削弱生态系统的稳定性, 可能有利于真菌耐药性的发展(图4)。当作为“入侵者”的ARF或AFRG进入新的自然环境群落时, 必须克服对栖息地入侵的“生物抵抗力”^[82]。研究表明, 微生物多样性可以通过缩短耐药微生物及其抗性基因的持续时间, 是抑制微生物耐药性的天然屏障^[83]。因此, 在物种多样性下降、群落结构简化的环境中, 竞争压力减少, 有利于具备耐受性状的真菌定植及扩张甚至主导生态位。伴随着当今人类社会的持续扩张, 生态系统中的生物多样性丧失问题日益加剧。我们对于由此可能引发的一系列生态连锁反应及其长期影响的重视程度仍显不足。

气候变化如全球变暖和自然灾害的频发同样可能有利于真菌耐药性(图4)。气候变暖可能导致真菌进化出在更高温度条件下生长繁殖的能力, 获得热耐受能力并成功适应人类宿主体温^[84]; 气温上升带来的压力还可能有助于真菌超突变的发生, 使得真菌能够在几周内即发展出耐药能力^[85]。此外, 在较温和的气候中更成功地越冬的真菌作物病原体也可能导致在农业上使用抗真菌剂的增加, 同样会推动真菌耐药性的发展^[10]。自然灾害的发生影响真菌的耐药性与感染, 其会对自然栖息地和城市地区造成广泛的破坏, 从而创造原本所不具有的利于真菌生长或提供真菌暴露机会的条件, 又会对人造成严重的创伤, 例如撕裂伤、擦伤或挫伤, 这些损伤会破坏皮肤屏障, 为真菌病原体提供入侵途径。例如, 2011年日本大地震引发海啸后, 有报道称出现由曲霉属真菌引起的严重感染病例^[86]。



图4 (网络版彩色)“同一健康”体系下真菌耐药性的传播风险与驱动因素

Figure 4 (Color online) Transmission risks and driving factors of antifungal resistance under the One Health framework

2.3.2 动植物中真菌耐药性的影响因素

农业生产中通常需要大量使用杀真菌剂以防控植物病害, 以避免各种真菌感染造成的严重产量和经济损失。这些措施在短期内能够有效抑制感染、保障作物产量, 但同时也对环境真菌群落施加了持续的药物选择压力, 促使其产生耐药突变(图4)。三唑类、甲氧基丙烯酸酯类和苯并咪唑类等化学品因其广谱高效而被广泛使用, 然而这些药物可能促使主要病原真菌产生抗药性甚至抗性拓展现象。在一项长期田间实验中, 当试验地块接种低丰度的甲霜灵抗性小麦基腐病菌(*Oculimacula yallundae*)分离株时, 连续两个喷药季使用卡苯达唑后, 几乎100%的菌群都获得了甲霜灵抗性^[87]。这一抗性拓展现象是烟曲霉临床耐药现象可能起源于农业环境的另一侧面证据。

作为可以直接接触人类的动物, 家畜和宠物均可感染多种致病真菌。例如, 烟曲霉在奶牛犊中可经空气孢子或霉变饲料侵入呼吸系统, 引发肺炎或支气管真菌感染^[76]; 猫狗等家养宠物易感染皮肤癣菌(*Microsporum canis*), 这是宠物中最常见的真菌感染, 具有高度人畜共患性^[88]。与农业类似, 畜牧业中为防治真菌病也存在一定程度的药物过度使用, 这种持续的药物压力促使ARF的产生与传播, 增加了潜在的致病性与交

叉感染风险(图4)。在一项采集禽舍内空气样本的研究中, 53.3%的样本中的真菌至少对一种抗真菌药物具有耐药性, 包括健康风险较高的曲霉菌种^[20]。由于近年来饲养宠物的数量增加以及宠物治疗中大量抗真菌药物的使用, 家养宠物中的真菌耐药情况也不容乐观: 研究人员采集了136只犬和43只猫的405份皮肤、毛发等样本, 鉴定出的所有真菌分离株均对氟康唑表现出100%的耐药性^[89]。

与家养动物相比, 野生动物暴露于多样且复杂的环境中, 同样容易受到环境中ARF的影响。野生动物感染的真菌耐药性主要由上述提及的自然环境中的多种生态干扰因素所驱动, 包括气候变化、污染物暴露及生态系统失衡等; 此外, 来自其他环境的ARF也可能通过传播途径感染野生动物群体。以荷兰对多种动物来源的烟曲霉临床分离株进行的回顾性耐药监测为例, 研究发现野生鼠海豚(Porpoise)中耐唑类菌株的检出率高达33%, 显著高于部分家养动物。这些耐药分离株均携带CYP51A基因相关突变, 包括TR₃₄/L98H和TR₄₆/Y121F/T289A等耐药突变, 其耐药性更可能来源于环境中的选择压力^[21]。研究显示, 北美地区已有数百万只冬眠蝙蝠因白鼻综合征(white-nose syndrome, WNS)死亡, 该疾病由嗜冷性真菌白鼻真菌(*Pseudogymnoascus*

destructans)侵入皮肤所致, 已造成部分蝙蝠物种种群规模下降超过 95%, 并使多个物种濒临灭绝, 成为野生动物真菌病暴发的典型案例^[27].

2.3.3 人类社会中真菌耐药性的影响因素

人类的生活与医疗活动构成了真菌耐药性产生与维持的重要驱动力. 在现代社会中, 人类日常生活与工业生产过程中大量使用抗真菌药物、防腐剂及消毒剂, 这些化学物质在多种环境中形成了长期而广泛的药物选择压力, 为ARF和AFRG的积累提供了条件(图4). 长期暴露促使真菌产生适应性变化, 通过基因突变、代谢通路重塑和细胞膜结构改变等机制, 逐步形成稳定的耐药表型^[3,12,75].

在医疗领域, 抗真菌药物的使用量和种类持续增长, 尤其是在免疫抑制患者、肿瘤化疗及器官移植受者中, 三唑类、多烯类和棘白菌素类药物的应用极为广泛^[3]. 随着使用频率的上升, 部分真菌如曲霉属、念珠菌属等已表现出多重耐药性, 严重削弱了临床治疗效果^[9]. 药物的不规范使用, 包括剂量不足、疗程不全及滥用广谱抗真菌药物, 进一步加剧了耐药菌株的筛选与扩散, 使真菌感染的治疗变得更加困难.

人类工业活动同样推动了ARF的产生. 食品加工、木材防腐、化妆品和医药产品中广泛使用的防腐剂(如苯甲酸盐、对羟基苯甲酸酯类、山梨酸盐等)具有显著的抗微生物活性^[90], 长期接触这些化学物质可诱导环境真菌产生耐受反应, 甚至形成与临床药物耐药相似的防御机制. 随着城市化进程加快, 公共卫生领域频繁使用的消毒剂(如季铵盐、过氧化物及酒精类物质)也对环境真菌群落产生持续影响^[91].

2.4 ARF及AFRG的“One Health”传播风险

环境不只是ARF和AFRG产生与积累的场所, 还是真菌耐药性的重要传播介质. 农业生产中杀真菌剂的长期使用, 使农田土壤、农作物以及灌溉水体中ARF逐渐富集, 并可通过风力扩散、雨水径流或农产品流通进入更广泛的生态系统^[2,92]. 耐药孢子可在大气、水体及土壤系统间循环, 并通过气溶胶、降水及生态迁移跨越区域传播, 最终与人类生活环境发生交汇^[2,15]. 以唑类耐药烟曲霉为例, 其从环境向人的跨介质传播过程可概括为“土壤/植被—空气—呼吸道—肺部”的连续路径. 农业生产中长期施用唑类杀真菌剂使土壤、堆肥和作物残体中富集耐药烟曲霉, 这些环境基质在翻耕、收割、堆肥翻动或自然风蚀作用下可释放大

量耐药突变的分生孢子进入空气^[2], 形成携带ARF及AFRG的生物气溶胶. 由于烟曲霉孢子粒径小、耐干燥、可长时间悬浮并远距离传播^[93], 人群在户外或室内通风条件下均可能吸入这些孢子; 当其进入易感人群(如免疫功能低下者)的呼吸道后, 可在肺部定植并引发侵袭性曲霉病, 而此时病原体已对临床常用唑类抗真菌药物耐药, 导致治疗困难和死亡风险升高. 该过程清晰展示了耐药烟曲霉由农业土壤等环境介质经大气跨介质迁移, 最终造成人体暴露和健康危害的典型“One Health”传播链条. 总的来说, 环境不仅是耐药真菌的源头, 也是其在不同生态系统之间迁移与再分布的关键节点.

动物在耐药真菌的传播扩散中起着推动作用, 家畜与宠物可直接暴露于受污染的饲料、空气或环境中, 感染并携带耐药真菌. 例如, 牛、禽类、猫、狗体内均检测到对三唑类药物耐药的烟曲霉与念珠菌菌株^[20,76,88], 这些动物可能进一步将相关真菌传递至人类. 此外, 野生动物由于活动范围广、生态联系复杂, 可在更大地理尺度上传播耐药菌群, 成为连接自然环境、农业区域及人类聚居区的纽带. 鸟类和蝙蝠以及小型哺乳动物的空间移动或迁移可能有助于传播组织荚膜组织胞浆菌(*Histoplasma*)和新生隐球菌, 一些啮齿动物可能成为球孢子菌和其他病原体的宿主, 一定程度上扩大这些真菌在环境中存在的范围^[94]. 气候变化对野生动物迁徙模式的影响也可能影响某些真菌病原体的地理传播, 但其在多大程度上改变了迁徙趋势尚不明确. ARF及AFRG由动植物向人类社会的跨界传播, 会逐步影响人类生活环境, 并最终演变为更为复杂且难以控制的公共卫生问题, 给感染防控、临床治疗及风险评估带来持续挑战.

人类既是真菌耐药性暴露的最终受体, 也是传播网络的重要驱动力. 人类社会中的污水处理系统、废弃物流通环节与医疗废水排放, 也可能成为ARF的城市热点, 加剧AFRG在城市环境与人群间的流动^[15]. 此外, 全球旅行、国际贸易、人口流动、跨境物流等全球化人类活动同样可能促进ARF和AFRG的区域间迁移, 从而放大其生态与健康风险, 使真菌耐药性的控制更具复杂性^[74]. 此外, 源于人类的选择压力并不会仅局限于人类社会本身而是通过废水排放、农业径流、固体废弃物扩散及空气沉降等途径持续输入自然环境, 在土壤、水体和植被中形成长期的选择压力. 人类社会活动、自然环境与动植物之间可能通过共享的选择

压力和多种环境介质产生关联,共同影响真菌耐药性的出现与扩散。

综合来看,人类与自然环境及动物形成了复杂的交互网络:一方面,农业和畜牧业中产生的ARF及其孢子可通过空气传播、食品链输入或动物接触等途径回流至人类社会,引发呼吸道、皮肤或系统性真菌感染;另一方面,来自人类医疗与工业环境的抗真菌药物残留、废水及化学防腐剂可进入土壤与水体,进一步影响环境微生物群落结构,加速环境真菌的耐药进化过程。然而,现有研究多聚焦于单一介质或单一传播途径(如仅关注医院感染、农田土壤),缺乏对“One Health”全链条的系统性追踪与量化评估。因此,亟需在“One Health”框架下,加强跨介质、跨学科的研究,整合基因组学、环境科学与流行病学方法,以阐明ARF及AFRG在多介质中的完整传播动力学,从而制定更有效的源头控制与风险干预策略。

3 环境ARF及AFRG的检测技术、风险评估方法及控制策略

上述在“One Health”框架下揭示的生态与健康风险,清晰地勾勒出ARF及AFRG作为一种跨界威胁的传播路径与严峻态势。高效、精准的检测、评估与控制技术,便成为了我们进行有效预警、干预和管理的必然选择与核心需求。

3.1 环境ARF和AFRG检测技术

环境ARF及AFRG的检测随时间的演进而不断发展,并且各类检测技术的运用各具特色(图5,表S4)。微生物培养检测作为传统微生物分析的基础方法,早在现代分子生物学技术兴起前便已广泛应用。进入20世纪后,随着分子生物学技术的突破,检测手段迎来革新:Sanger测序及后续的高通量测序技术、聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)等关键技术的出现,逐步突破了传统检测在时间与空间上的限制,实现了对目标微生物及相关基因的高灵敏、高精度与高效率解析。近年来,基于上述分子生物学技术的深化与集成,进一步衍生出等温扩增、CRISPR/Cas检测以及基于微型化传感器的快速检测法等新兴技术,它们凭借其独特优势正受到日益广泛的关注。目前,在ARF及AFRG检测领域,PCR及其衍生技术和基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-

TOF MS)因其技术成熟、普及度高,是应用比较广泛的技术。同时,高通量测序技术发展迅速,在解决复杂环境问题中正发挥着日益重要的作用。

3.1.1 基于药敏试验的ARF检测

微生物培养检测是通过在特定培养基上分离培养样本中的微生物,观察其对不同药物的响应来调查微生物对药物的耐药情况。欧洲抗菌药物敏感性试验委员会(European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST)开发了针对真菌的标准化微量稀释法以客观测定抗真菌药物的最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC),还推出琼脂筛选法实现ARF的快速筛查^[95]。该体系的突出特点是“低门槛获得表型证据”:无需复杂实验条件与昂贵设备即可获得耐药表型数据并为后续机制研究提供可培养分离株;同时,其获得的表型信息可与测序结果互补,用于支持新AFRG及耐药机制的确定。需要强调的是,该方法的有效性受两项前提约束:其一,必须从环境样本中成功分离并纯化出菌落;其二,药敏结果需建立在精准鉴定基础上,否则不同真菌类群固有耐药谱系差异会显著削弱其在环境流行病学中的解释价值(表S4)。

对环境分离真菌株进行药敏试验的前提是实现了对真菌菌落的精准鉴定,未经鉴定的药敏数据在环境流行病学中价值有限,因为不同真菌类群固有的耐药谱系与生态适应性截然不同^[96]。从环境样本中分离真菌后,其鉴定技术遵循一个严谨的层级体系。传统的形态学鉴定是基础方法,通过观察菌落形态、颜色及产孢结构等进行初步归类,但其精度常止于属级,且高度依赖分类学专业知识。当前,MALDI-TOF MS正日益成为环境微生物实验室深化鉴定的核心工具,它能高效地将大量环境分离株快速鉴定到种级水平,从而极大地促进了环境真菌资源的开发与耐药谱数据库的构建^[97]。对于MALDI-TOF MS数据库无法覆盖的稀有物种或需要最终确认的真菌菌株,基于核糖体DNA内部转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)的分子测序则成为更具分辨力的权威验证方案。

因此,基于分离培养方法的ARF检测实质上构成了一个以“可培养真菌菌株”为核心的多层次分析流程,即从环境样本中成功分离并纯化出真菌菌落是一切分析的起点;继而综合运用形态学、MALDI-TOF MS及必要的分子测序技术,实现对真菌的精准鉴定;最终,对经过明确鉴定的活体菌株进行标准的体外药敏试验,才可获得具有明确表型意义的耐药性数据。这一完整



图5 (网络版彩色)真菌耐药性检测方法、风险评估技术、控制策略及环境真菌耐药性研究亟待发展的关键领域

Figure 5 (Color online) Detection methods, risk assessment techniques, and control strategies for antifungal resistance. Key areas requiring urgent development on environmental antifungal resistance were summarized

的“分离培养-鉴定-药敏试验”链条，不仅是确认环境真菌耐药表型的直接证据，更是连接环境菌株与临床耐药性、评估其潜在传播风险不可或缺的关键环节。

3.1.2 基于测序方法的ARF及AFRG检测

测序技术是除药敏试验外的另一常用耐药性探查手段，能够直接获取微生物与耐药有关的碱基序列，在AFRG筛查方面具有明显的技术优势。1977年诞生的Sanger双脱氧链终止技术为DNA测序技术的迅速发展奠定了基础，后来也被称作一代测序。Sanger测序准确度高、读长相对较长，可用于靶基因与关键位点的精确测序及突变确认。其体系成熟、结果直观，适合小规模样本或少量位点的快速核验。Chowdhary等人^[39]通过对耳念珠菌临床菌株*ERG11*基因进行测序，分析其与

唑类耐药的关系，鉴定出多个独特的*ERG11*突变，为耳念珠菌对氟康唑等唑类药物的耐药机制提供了遗传证据。然而，Sanger测序的通量与覆盖范围相对有限，单次通常仅测单一DNA片段或少量位点，不适于大规模并行筛查，且读长上限约800~1000 bp，难以覆盖更长片段或复杂结构信息。此外，在混合模板背景下对低频变异检出能力有限，常需突变占输入DNA约15%~20%才可稳定检出(表S4)。

二代测序(next generation sequencing, NGS)技术的发展弥补了一代测序通量低的缺点，通过dNTP的可逆修饰实现了边合成边测序，大大提高了测序通量^[98]。NGS的核心优势在于高通量，可实现对大规模基因和样本的并行分析。基于NGS的全基因组测序(whole gen-

ome sequencing, WGS)能够对未知基因组序列的物种进行完整测序,系统捕获基因组层面的变异并提供较为全面的耐药相关基因组信息;同时其灵敏度较高,可在复杂混合样本背景下识别低丰度变异,从而提升环境耐药性解析的分辨率^[98]。因此其对于研究耐药基因变异或重组产生的新型ARF有较高的实用价值,在解析环境微生物组中的ARF和AFRG方面具有巨大潜力。Rhodes等人^[22]对多种来源的烟曲霉进行Illumina全基因组二代测序,结合SNP分析系统识别了环境菌株中重要的耐药突变位点;Etienne等人^[38]采用全基因组测序技术识别出两个主要烟曲霉支系并发现环境中产生的ARF及AFRG可传播至人体。需要指出的是,NGS在环境应用中也存在一定约束:整体成本仍相对较高,尤其数据分析环节对计算资源投入较大;数据处理流程复杂,对生物信息学分析能力要求较高;复杂混合样本的解析仍具挑战,低丰度目标的检出与准确解析在一定程度上受测序深度限制(表S4)。

第三代测序技术(third-generation sequencing, TGS)实现了长读长测序(long-read sequencing, LRS),与NGS相比具有通量高、速度快、读长长、成本低、实时测序等多种优点,可跨越复杂基因组区域实现AFRG的精准定位,同时无需PCR扩增即可检测表观遗传修饰^[99]。总体而言,TGS的关键技术优势集中体现在读长长、测序速度快且支持实时测序。长读长特性使其能够跨越复杂区域实现AFRG的精准定位,并可在长读长基础上结合分子一致性校正,在单次测序中分辨多种耐药等位基因的结构与突变组合(表S4)。Samils等人^[100]利用PacBio三代测序技术对田间的叶枯病菌(*Zymoseptoria tritici*)进行靶基因水平的高一致性长读段解析,从而在单次测序中获得完整的杀菌剂耐药相关基因序列及其单倍型结构;Zulak等人^[101]利用Oxford Nanopore三代测序对田间的圆核腔菌(*Pyrenophora teres*)进行靶基因级别的高精度长片段测序,完整解析CYP51A基因的所有已知及潜在唑类药物耐药突变。然而,三代测序技术结果准确率较低,且单分子测序特性导致的信号弱、噪音高等问题仍待解决。

基于NGS和TGS的整合宏基因组分析为复杂环境中真菌的高通量解析提供了关键支持,可能在不久的将来成为主流的真菌耐药性研究技术。混合组装可借助短读长的高准确性与长读长的结构解析能力提升组装连续性,而长读长的引入也被用于改善群落组装与MAG质量,从而提高后续基因组注释的完整性^[102]。此

外,无组装的基因中心策略可作为补充路线,针对耐药基因开展直接的检索与解析^[102]。

3.1.3 PCR及其衍生技术在AFRG检测中的应用

PCR及其衍生技术在AFRG检测领域已成为重要的技术手段。目前普通PCR技术已在实际研究中广泛使用:Zvezdanova等人^[16]针对农业环境的烟曲霉,通过PCR扩增CYP51A基因关键区域获取覆盖主要唑类耐药突变位点的目标片段来解析环境真菌中的AFRG变异,准确识别了TR₃₄/L98H、TR₄₆/Y121F/T289A等典型耐药基因型。普通PCR的优势在于方法体系成熟、应用普及度高,且能够围绕已知靶位点实现对环境真菌AFRG变异的快速解析并识别典型耐药基因型。不过传统PCR技术仅能确认目标序列的存在,无法直接区分染色体或质粒来源的基因,定量单独检测的难度极大,需要与其他技术结合使用,才能更有的放矢地分析(表S4)。

实时定量PCR(quantitative real-time PCR, qPCR)克服了传统PCR技术的局限,基于双标记荧光(TaqMan)探针或荧光染料(SYBR Green)实时定量PCR,通过监测PCR过程中荧光信号的积累实现基因拷贝数的精准定量。Fraaije等人^[103]利用基于SYBR Green的定量实时PCR识别并量化小麦白粉病菌(*Blumeria graminis*)中导致耐药性的G143A突变。qPCR技术无需PCR后处理,避免了产物污染,提高了检测速度和通量,动态范围至少达五个数量级,且具有高准确性和可重复性。需要指出的是,qPCR的定量结果通常依赖Ct值与标准曲线,标准品准确性及扩增效率差异可能影响定量精度与跨实验可比性;同时环境样本常含PCR抑制物,易导致扩增效率下降与Ct偏移,从而影响定量准确性。此外,该方法对引物和探针特异性与扩增效率评估等质控环节依赖较高,控制不足时可能引入系统偏差(表S4)。

数字PCR(digital PCR, dPCR)、微滴式数字PCR(droplet digital PCR, ddPCR)等新型PCR衍生技术也逐渐在AFRG的检测中发挥作用。dPCR通过对反应体系进行高度数字化划分,使环境样本中极低丰度的耐药真菌DNA或关键耐药突变得以被准确地绝对定量,从而提高了环境耐药性监测的分辨率。但需要注意的是,dPCR的动态范围与定量精度在一定程度上受反应分区数及阳性分区比例的限制,当阳性分区比例处于极低或接近饱和区间时,统计不确定性可能上升,从而影响定量稳定性。ddPCR在复杂基质中的优势主要体现在微滴分隔可降低环境抑制剂干扰,能够在土壤、

堆肥、空气沉降物等复杂基质中稳定捕捉并量化微量AFRG, 从而提升微量靶标检出与定量的稳健性, 因而更适用于早期扩增信号的捕捉与预警监测; 但其平台与耗材成本门槛相对较高, 且在复杂环境样本中可能出现阴阳性微滴“云”分离不清、阈值判定困难等情况, 从而影响定量可靠性(表S4)。Zulak等人^[104]使用dPCR技术定量检测大麦农田中禾本科布氏白粉菌(*Blumeria graminis*)的CYP51点突变, 实现对唑类杀菌剂抗性的早期监测; Arendrup等人^[105]利用ddPCR技术, 通过设计特异性引物和探针靶向烟曲霉的CYP51A基因启动子区, 实现了对环境样本中唑类耐药突变的高通量定量检测。这些技术的应用正在推动环境真菌耐药监测从定性走向高精度定量, 未来有望成为环境AFRG流行趋势追踪、风险评估与干预策略制定的重要技术支柱。

综上所述, PCR及其衍生技术通过实现对AFRG的快速、高灵敏度检测, 正推动真菌耐药诊断从依赖传统培养向精准分子分型转变, 将为真菌耐药监测、个体化治疗及精准公共卫生干预提供核心支撑, 优化感染性疾病的诊疗路径。

3.1.4 用于ARF和AFRG的新型检测方法

目前检测AFRG的方法还有等温扩增、CRISPR/Cas检测, 基于微型化传感器的电化学快速检测技术也得到了发展, 这些现有的分析技术正逐渐从传统分子检测向高灵敏度、可现场化和多机制并行识别的方向发展。

等温扩增技术在恒温条件下即可完成快速、灵敏的核酸扩增, 特别适用于资源有限或需要原位检测的场景, 其操作简便、检测快速的特性使其成为环境真菌耐药性监测的潜在工具。Duan等人^[106]利用等温扩增技术针对禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*) β_2 微管蛋白基因F167Y耐药突变设计特异引物集, 实现了对耐药基因型的快速识别。不过, 等温扩增通常依赖多引物体系, 在序列相似性背景下非特异扩增与假阳性风险相对较, 同时引物设计与多重化实现相对困难, 对方法学优化与质控提出较高要求(表S4)。整体来看, 等温扩增技术在环境ARF的早期监测和大规模样本筛查中具有良好应用前景, 尤其适用于需要快速决策与田间实时预警的抗性治理场景。

CRISPR/Cas体系作为一种依赖crRNA靶向识别的核酸检测工具, 具有高度特异性和信号放大能力, 尤其适合在复杂环境样本中追踪低丰度基因突变。Hu等人^[107]利用Cas12a实现了对耐苯并咪唑真菌桃疮痂病

菌(*Venturia carpophila*)中TUB2基因E198K耐药突变的快速、直观判定。该技术无需复杂仪器, 可适配田间粗提DNA样本, 为环境中ARF群体的快速筛查与抗性演化监测提供了精准高效的分子工具。然而, 在极低丰度靶标的检测场景中, CRISPR/Cas体系的灵敏度往往仍需与前置扩增步骤耦合以获得稳定信号, 而样品前处理与扩增过程可能引入污染, 从而带来假阳性风险, 因此在环境样本应用中需配套严格的流程控制与质控策略(表S4)。

电化学检测技术依靠将核酸扩增产生的离子变化实时转化为电信号, 实现对目标核酸的快速、便携式检测, 尤其适合在复杂或资源受限的环境样本中开展现场监测。Yu等人^[108]利用互补金属氧化物半导体(complementary metal-oxide-semiconductor, CMOS)集成的离子敏感场效应晶体管(ion-sensitive field-effect transistor, ISFET)电化学传感阵列检测唑类耐药相关的串联重复突变, 准确识别来自多个国家的临床及环境来源的耐药烟曲霉, 这一电化学平台在30分钟内即可完成AFRG的定量判读, 展示出电化学传感在ARF监测中的高灵敏度与现场化应用潜力。但是电化学传感在复杂环境样本应用中易受基质效应以及非特异吸附和界面污损影响, 从而造成信号干扰并降低重复性。此外, 电位型与ISFET类传感通常依赖稳定参考电极与校准体系, 且存在信号漂移问题, 因而在长期或现场应用中需配套漂移补偿与质量控制流程以保障定量可靠性。

3.2 环境真菌耐药性风险评估方法

危害识别-危害定性-暴露评估-风险表征是微生物风险评估的通用流程, 微生物耐药性风险评估同样遵循这一流程。危害识别即定性的描述环境中值得关注的微生物耐药性的危害; 危害定性即确定暴露于耐药微生物可带来的感染、疾病和不利的健康影响等; 暴露评估涉及动物性和植物性的食物、饮用水、空气以及各类物体的表面等暴露途径中耐药微生物在环境、动物和人类之间传播的可能性; 最后结合前三步对整体风险进行表征^[109]。目前对于微生物耐药性的风险评估尚处于探索阶段, 常用的方法包括定性、半定量和定量风险评估^[109](图5)。

定性风险评估是风险评估过程的初级阶段, 通过矩阵法和非矩阵法来整合定性的概率和参数, 使用高、中、低和可忽略等语句描述风险的等级, 节省时间和资源, 可以为定量风险评估做准备。尽管能快速识别传

播热点区域,但存在主观性强、结果不可比等局限。Doughty等人^[110]采用定性风险评估框架,将农业环境中唑类使用引发耐药烟曲霉选择与扩增的风险按“hot-spot与coldspot”进行情境分级,其风险判定依赖三项关键条件:场景是否提供可支持烟曲霉高生物量增长与繁殖的有机底物及适宜温湿度;底物中是否存在达到野生型MIC以上、对耐药具有选择性的农药残留;是否会导致耐药孢子的优先繁殖并大量释放进入空气,从而提高人群暴露。同时进一步以MIC与残留水平的相对关系解释选择窗口,并通过系统汇总不同基质与场景的环境监测研究证据,将风险更一致地指向废弃物堆与堆肥管理环节而非单纯田间土壤检测。然而当前主要用于高风险清单制定、监测资源分配和应急响应,未来将向机器学习辅助决策和定性-半定量混合评估方向发展。

半定量风险评估通过整合基因丰度、可移动遗传元件(mobile genetic elements, MGEs)及宿主致病性等关键指标,对风险途径中的每一个模型进行评分(1~10分),构建科学的风险分级体系。在信息不足,无法进行系统、完整的定量风险评估时可以使用半定量风险评估进行风险评价。Gisi等人^[111]采用半定量风险评估来评估唑类耐药真菌,把“耐药产生热点(hotspot)”定义为病原体在该环境中能积极繁殖,且暴露于具有杀真菌效力、足以筛选耐药个体的唑类有效浓度,并强调热点需要按“特定病原体×特定生境×特定地区”识别。在此框架下,他们用两个风险要素构建“假定选择风险(assumed selection risk, ASR)”矩阵:① 最大暴露浓度(maximum exposure concentration, MEC,按推荐施用量估算);② 病原暴露风险(pathogen exposure risk, PER,即病原体在该基质中出现并活跃繁殖的可能性),并将两者相乘得到 $ASR = MEC \times PER$;给每个要素赋予1~4级分值后,ASR落在1~16之间,用于分级从低到高的耐药选择风险并定位潜在热点。该研究为烟曲霉等病原体在不同用药与环境情景下建立风险矩阵,并指出烟曲霉在医疗用唑及某些环境场景中的选择风险较高。该评估方法得到的结果更加全面、科学,但是需要大量毒性数据支持,数据缺乏或不一致时会增加结果的不确定性。

定量风险评估是一种基于概率方法,通过构建不同模型量化暴露途径中风险的评估方法。暴露评估中常用概率分布来量化分析,常用到泊松、泊松对数正态、负二项式、泊松逆高斯、泊松广义逆高斯分布;

剂量反应评估中则常用指数、贝塔-泊松和log-probit模型,最后在风险表征中使用蒙特卡罗方法进行迭代计算用于对风险进行定量^[112,113]。Leleu等人^[112]以免疫抑制小鼠气溶胶暴露模型为基础,构建了烟曲霉的半定量风险评估模块:将暴露剂量由“雾化液孢子浓度”进一步参数化为更具生物学意义的吸入可存活孢子量,从而把环境暴露与感染风险用数值联系起来。随后采用贝叶斯方法拟合指数与 β -Poisson剂量-反应模型,输出侵袭性曲霉病发生概率曲线的后验分布并量化不确定性,同时给出Af 293的半数感染量作为气溶胶感染力基线参数。Weiskerger等人^[113]采用定量微生物风险评估(quantitative microbiological risk assessment, QMRA)框架,运用实测真菌浓度、暴露情景与剂量-反应模型对水体与沙滩环境中真菌暴露的感染概率进行了量化估计,从而为休闲水风险管理提供了科学的风险量化依据。由于真菌剂量-反应参数及相关流行病学数据匮乏,现阶段的QMRA面临显著不确定性,这也进一步凸显未来完善真菌健康风险量化所需的关键研究方向。此外,概率生态风险评估法(probabilistic ecological risk assessment, PERA)为复杂环境中多种污染物相互作用下的生态风险评估提供了有效的分析框架,此方法基于概率统计原理,将不同污染物的暴露浓度与其对应的生态效应数据视为独立观测值进行建模,并在风险推断过程中纳入其统计分布特征与显著性分析,对数据质量和样本量要求较高,分析结果更具科学性和解释力。

综上所述,三种风险评估方法可贯通微生物耐药研究“危害识别-危害定性-暴露评估-风险表征”全链条,定性风险评估可协同锁定关键靶标,半定量风险评估则能锚定高优先级区域,最后通过定量风险评估可精准测算特定干预措施的实际成效。四者融合能够突破单一方法的局限性,为包括真菌耐药在内的微生物耐药防控策略优化、药物研发靶点筛选及公共卫生资源精准配置提供系统性科学支撑。

3.3 ARF和AFRG的控制策略

ARF和AFRG作为新兴环境污染物,在多种环境介质中普遍存在,其控制已成为全球健康与可持续发展的重大挑战。基于“One Health”理念,遏制耐药性蔓延需采取多维度、跨领域的综合治理策略,同时做好源头控制-传播阻断-末端强化(图5)。鉴于ARF及AFRG的广布性与生态系统的复杂性,应优先针对WHO所界定

的高风险真菌及其相关耐药机制, 聚焦高排放、高暴露、高污染的热点环境与关键污染源, 做好源头控制; 针对热点场景中的空气、水体等多介质传播途径进行阻断; 最后, 强化末端的污染环境治理与修复. 此外, 还需做好人群健康保障措施, 通过开发新型疗法应对真菌耐药性问题.

源头控制旨在减少关键污染源中ARF及AFRG的产生与释放, 环境中ARF及AFRG的治理应优先聚焦于降低抗真菌剂选择压力也即减少源头的排放输入. 首先, 在医疗与公共卫生端应强化抗真菌药物管理, 减少不必要或不规范用药, 并将关键耐药真菌与耐药谱变化纳入持续监测, 以降低临床端对环境的输入压力. 其次, 在农业端应推进抗真菌剂减量与精准使用, 通过限定适用场景、控制用量与频次、实施作用机制轮换并优先采用综合病害管理(integrated pest management, IPM)、生物防治和抗病品种等替代措施, 减少长期重复施用导致的耐药; 同时, 对与临床关键唑类药物可能存在交叉耐药风险的农业用唑类杀菌剂应开展分级风险评估, 必要时实施限用或更严格的登记管理, 以降低环境来源耐药曲霉等风险. 最后, 应完善重点排放源(医院排水、制药与发酵相关行业废水)的预处理与达标排放要求, 并将抗真菌药物残留与ARF及AFRG补充为监管指标之一; 现有研究亦提示多国对药物残留等“新兴污染物”的法规约束仍不充分, 强化排放规范与监管可作为源头控制的重要抓手. 此外, WHO发布的真菌优先病原体清单也强调了抗真菌耐药对公共卫生的紧迫性, 为上述源头控制措施提供了政策背景与风险管理依据.

针对ARF及AFRG在环境中的迁移、扩散与暴露过程进行阻断同样是重要的有效方法. 在医院及其他高风险暴露环境中, 空气途径是 ARF 孢子暴露的主要介质, 其气溶胶化、悬浮与再沉降过程共同构成持续的环境传播链^[2]. 因此在此类场景中, 改善空气动力学条件成为削弱 ARF 扩散能力的关键干预点, 包括通过优化通风与压力梯度、增强高效过滤系统、结合局部空气净化技术以及在关键操作区域实施周期性的空气与表面消毒干预, 从而降低空气中活性孢子的负荷并扰动可能的传播路径. 此外, 针对废水处理流程、农业类排放和城市径流等可能帮助ARF及AFRG在广泛环境中进一步传播扩散的体系建立长效监测体系并强化监管, 同样有助于抑制ARF及AFRG在不同生态界面间的再扩散与重分布.

利用化学及生物调控等手段对污染环境中的ARF及AFRG进行降解消除是末端治理的主要方法. 化学阻控手段中, 排水区的埋置式生物炭屏障可截留农田径流中的抗真菌剂残留, 从源头上削弱环境中相关残留对真菌的选择压力, 从而减少ARF及AFRG在土壤与水体中的出现^[75], 是潜在的生态工程干预措施; 纳米TiO₂为代表的光催化材料在可见光下生成 ROS, 通过破坏真菌孢子的细胞壁与胞内结构完成快速灭活, 并同步氧化降解泄漏出的核酸与蛋白等大分子^[114], 若进一步开发自然光条件下仍具高效性的光催化体系, 有望在复杂环境中同时实现真菌灭活及遗传物质降解的协同控制. 生物阻控策略则侧重于利用天然或人工构建的微生物对生态系统中的目标进行精确打击, 例如用无毒或低毒的 *Aspergillus* 菌株进行“以菌制菌”, 通过营养与空间竞争、产生挥发性或可溶性抑菌物质等手段减少环境中的ARF和AFRG^[115], 未来若能构建更稳定、可持续的微生物调控体系, 或可显著提升环境端阻控的长期效能.

人群健康防控措施则是应对真菌耐药性问题的最终保障. 在适宜情境下调整抗真菌药物的组合与使用策略, 有助于缓和持续药物暴露可能带来的选择压力; 新作用机制药物的研发可拓展治疗选择, 为应对不断出现的耐药表型提供更多可能路径; 预防性的探索也在持续推进, 包括面向特定高风险人群的疫苗研发, 以及以免疫调节治疗策略等为代表的新型生物治疗策略^[116]. 面向公众和专业群体的教育与培训也可能在促进合理用药和环境管理行为方面发挥积极作用, 从而推动形成更具协作性的治理实践. 它们共同构成了多元化应对真菌耐药性问题的强力后盾.

4 总结与展望

本文系统梳理了环境中ARF及AFRG的种类与分布及其形成机制、影响因素和风险状况, 并总结了现存检测技术与未来可用风险评估方法, 最后提出有效的真菌耐药性控制策略. 总体看来, 环境科学领域对真菌耐药性的研究严重不足(图5), 未来可针对以下方向做出改进:

(1) 当前对环境中ARF及AFRG的认识严重不足, 未来需推动真菌耐药性机制和环境真菌临床感染能力的基础性研究. 本文提出了值得关注的环境ARF及AFRG, 阐述了真菌通过多样化且可能相互交互的耐药机制对临床现存的五类药物出现抗性的客观现实. 然

而,烟曲霉中最常见的唑类抗性相关机制TR₃₄/L98H和TR₄₆/Y121F/T289A尚无法在实验室中从敏感菌株中重新产生^[22],这凸显了抗性发展的复杂性。事实上,由于我们对真菌耐药机制的了解尚处于起步阶段,仍未全面上市投入使用的针对新型作用机制的药物仍无法阻止真菌快速获得耐药性(如Olorofim^[117])。此外,过去认为主要存在于动物宿主中的印度毛癣菌溢出至人类中的现象^[44]提示我们,那些当前未造成公共卫生事件的环境ARF同样值得关注,过去只关注临床感染真菌的策略存在严重弊端。以上基础性研究的开展将为真菌耐药性的控制提供坚实的理论基础。

(2) 完善顶层设计,强调“One Health”在真菌耐药性研究中的重要意义,强调真菌耐药性是一个传播性极强的跨越人类、动物和环境的综合性挑战。农业中广泛使用的杀菌剂是驱动环境真菌产生耐药性的重要选择压力;自然环境和动物是ARF和AFRG的天然储库与传播媒介;人类社会中的医疗实践和工业活动进一步加剧了真菌耐药性的发生与扩散。ARF及AFRG在环境-动物-人之间形成了复杂的传播网络。需要特别强调的是,真菌相对细菌来说更容易存在广泛的传播,这主要是因为真菌产生的孢子随空气流动的能力极强^[2]。过去我们以孤立的视角看待环境真菌与临床真菌感染的策略需要被纠正。

(3) ARF及AFRG的检测技术不足以满足环境研究,应大力发展适用于环境科学研究的高通量、高灵敏度、高分辨率的先进检测技术。在抗生素耐药细菌(antibiotic-resistant bacteria, ARB)及抗生素抗性基因(antibiotic resistance genes, ARGs)检测中成熟应用的高通量实时定量PCR(high-throughput quantitative real-time PCR, HT-qPCR)技术在ARF及AFRG的检测中尚未有应用实例;表面增强拉曼光谱(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)与表面等离子体共振(surface plasmon resonance, SPR)等在ARB及ARGs检测中展现出高灵敏度与无标记实时分析等优势的技术在真菌耐药性检测应用中同样有待发展。高通量测序方面,近些年在真菌研究中的陆续发展^[118,119]也使得其在可预见的未来用于环境真菌研究的潜力。此外,迄今为止我们对新的真菌

耐药基因型的发现手段也严重缺失,结合机器学习与现有数据库发现新型AFRG同样是一个重要的研究方向。大力发展以上在ARB及ARGs研究中发挥了重要作用的各类技术将有助于我们进一步阐明环境中ARF及AFRG这些被忽视的生物污染物的危害性。

(4) 环境ARF及AFRG的高度临床风险尚未明确,可通过整合基因组流行病学与传统流行病学调查手段进一步完善真菌耐药性的风险评估。目前,通过基因组流行病学手段发现临床耐药烟曲霉有可能源自环境,然而仍缺乏最终的切实证据,需进一步结合传统流行病学调查绘制流行传播事件的宏观地图。针对其他临床感染真菌的来源分析也需不断深入。此外,现有的真菌耐药性风险评估方法多借鉴细菌耐药性研究案例,在实际应用过程中的适用性与准确性有待检验,发展针对ARF和AFRG的定量化风险评估体系也是日后研究中的重中之重。

(5) 不断推进环境ARF及AFRG的持续监测与控制消除。当前应积极构建覆盖人类-动物-环境的“One Health”监测网络,通过整合环境监测结果、临床与流行病学资料以及基因组学信息,提升对真菌耐药性动态的感知能力,并促进跨部门的信息交流与早期识别。通过建立生态环境、农业农村与卫生健康等部门参与的监测与数据共享网络,在污水、土壤等关键场景设置哨点并统一监测指标与预警机制,实现风险早发现与可追踪管理;同时在农业端加强杀菌剂规范使用与减量管理(控制杀菌剂用量与频次、作用机制轮换与综合病虫害治理、完善台账追溯),以降低环境选择压力。与此同时,针对ARF及AFRG的化学与生物消除手段的效率与经济性还需进行系统性评估;持续改进抗真菌药物的使用方式、加强处方规范与减少不必要暴露也应受到足够的重视。

总之,真菌耐药性已成为一个不容忽视的公共卫生和生态系统安全议题。唯有通过跨学科、跨部门、跨国界的协同努力,在“One Health”框架下整合研究、监测、防控与政策制定,做好源头-过程-末端综合治理,我们才能有效遏制其发展,保护人类和生态系统的健康免受侵袭。

参考文献

- 1 Burks C, Darby A, Gómez Londoño L, et al. Azole-resistant *Aspergillus fumigatus* in the environment: identifying key reservoirs and hotspots of antifungal resistance. *PLoS Pathog*, 2021, 17: e1009711

- 2 Shelton J M G, Rhodes J, Uzzell C B, et al. Citizen science reveals landscape-scale exposures to multiazole-resistant *Aspergillus fumigatus* bioaerosols. [Sci Adv](#), 2023, 9: eadh8839
- 3 Fisher M C, Alastruey-Izquierdo A, Berman J, et al. Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health. [Nat Rev Microbiol](#), 2022, 20: 557–571
- 4 World Health Organization. Analysis of Antibacterial Agents in Clinical and Preclinical Development. Geneva: World Health Organization, 2025
- 5 Morse M P. Preparing biologists for the 21st century. [BioScience](#), 2003, 53: 10–15
- 6 Casadevall A, Kontoyiannis D P, Robert V, et al. On the emergence of *Candida auris*: climate change, azoles, swamps, and birds. [mBio](#), 2019, 10: e01397-19
- 7 Kohler J R, Casadevall A, Perfect J. The spectrum of fungi that infects humans. [Cold Spring Harb Perspect Med](#), 2015, 5: a019273
- 8 Denham S T, Wambaugh M A, Brown J C S. How environmental fungi cause a range of clinical outcomes in susceptible hosts. [J Mol Biol](#), 2019, 431: 2982–3009
- 9 World Health Organization. WHO Fungal Priority Pathogens List to Guide Research, Development and Public Health Action. Geneva: World Health Organization, 2022
- 10 Konkel Neabore L. Wake-up call: rapid increase in human fungal diseases under climate change. [Environ Health Perspect](#), 2024, 132: 042001
- 11 Smith D J, Gold J A W, Benedict K, et al. Public health research priorities for fungal diseases: a multidisciplinary approach to save lives. [JoF](#), 2023, 9: 820
- 12 Lee Y, Robbins N, Cowen L E. Molecular mechanisms governing antifungal drug resistance. [npj Antimicrob Resist](#), 2023, 1: 5
- 13 Mataraci-Kara E, Ataman M, Yilmaz G, et al. Evaluation of antifungal and disinfectant-resistant *Candida* species isolated from hospital wastewater. [Arch Microbiol](#), 2020, 202: 2543–2550
- 14 Monapathi M E, Oguegbulu J C, Adogo L, et al. Pharmaceutical pollution: azole antifungal drugs and resistance of opportunistic pathogenic yeasts in wastewater and environmental water. [Appl Environ Soil Sci](#), 2021, 2021: 1–11
- 15 Ghanadi M, Milke M, Larcher S, et al. Critical review of antimicrobials, antimicrobial resistance, and their associated genes in decentralized wastewater treatment systems. [J Environ Chem Eng](#), 2026, 14: 121039
- 16 Zvezdanova M E, Arroyo M J, Méndez G, et al. Detection of azole resistance in *Aspergillus fumigatus* complex isolates using MALDI-TOF mass spectrometry. [Clin Microbiol Infect](#), 2022, 28: 260–266
- 17 Spagnolo A M. *Aspergillus* contamination in healthcare facilities: an ever-present issue—Prevention and control measures. [Hygiene](#), 2025, 5: 3
- 18 Loukou E, Jensen N F, Rohde L, et al. Damp buildings: associated fungi and how to find them. [JoF](#), 2024, 10: 108
- 19 Liu Z, Niu H, Rong R, et al. An experiment and numerical study of resuspension of fungal spore particles from HVAC ducts. [Sci Total Environ](#), 2020, 708: 134742
- 20 Gomes B, Dias M, Cervantes R, et al. Poultry farms as reservoirs of azole-resistant fungi: occupational health risks in agricultural facilities. [One Health](#), 2025, 21: 101230
- 21 van Dijk M A M, Buil J B, Tehupeiory-Kooreman M, et al. Azole resistance in veterinary clinical *aspergillus fumigatus* isolates in the Netherlands. [Mycopathologia](#), 2024, 189: 50
- 22 Rhodes J, Abdolrasouli A, Dunne K, et al. Population genomics confirms acquisition of drug-resistant *Aspergillus fumigatus* infection by humans from the environment. [Nat Microbiol](#), 2022, 7: 663–674
- 23 World Health Organization. Prioritization of Pathogens to Guide Discovery, Research and Development of New Antibiotics for Drug-resistant Bacterial Infections, Including Tuberculosis. Geneva: World Health Organization, 2017
- 24 van de Sande W W J, Fahal A H, Forrest G N, et al. An updated list of eumycetoma causative agents and their differences in grain formation and treatment response. [Clin Microbiol Rev](#), 2024, 37: e00034-23
- 25 Taha M, Tartor Y H, Elaziz R M A, et al. Genetic diversity and antifungal susceptibilities of environmental *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* species complexes. [IMA Fungus](#), 2024, 15: 21
- 26 Yang F, Berman J. Beyond resistance: antifungal heteroresistance and antifungal tolerance in fungal pathogens. [Curr Opin Microbiol](#), 2024, 78: 102439
- 27 Iliev I D, Brown G D, Bacher P, et al. Focus on fungi. [Cell](#), 2024, 187: 5121–5127
- 28 Lax C, Nicolás F E, Navarro E, et al. Molecular mechanisms that govern infection and antifungal resistance in Mucorales. [Microbiol Mol Biol Rev](#), 2024, 88: e00188
- 29 Meng L, Li J, Wang D, et al. Epidemiology, risk factors, and antifungal susceptibility analysis of *Candida tropicalis* and non-*C. tropicalis* candidemia. [BMC Infect Dis](#), 2025, 25: 1089
- 30 Odds F C, Brown A J P, Gow N A R. Antifungal agents: mechanisms of action. [Trends Microbiol](#), 2003, 11: 272–279
- 31 Cowen L E. The evolution of fungal drug resistance: modulating the trajectory from genotype to phenotype. [Nat Rev Microbiol](#), 2008, 6: 187–198
- 32 Bédard C, Pageau A, Fijarczyk A, et al. FungAMR: a comprehensive database for investigating fungal mutations associated with antimicrobial

- resistance. [Nat Microbiol](#), 2025, 10: 2338–2352
- 33 Snelders E, Huis in't Veld R A G, Rijs A J M M, et al. Possible environmental origin of resistance of *Aspergillus fumigatus* to medical triazoles. [Appl Environ Microbiol](#), 2009, 75: 4053–4057
 - 34 Kang S E, Sumabat L G, Melie T, et al. Evidence for the agricultural origin of resistance to multiple antimicrobials in *Aspergillus fumigatus*, a fungal pathogen of humans. [G3](#), 2022, 12: jkab427
 - 35 Rivelli Zea S M, Toyotome T. Azole-resistant *Aspergillus fumigatus* as an emerging worldwide pathogen. [Microbiol Immunol](#), 2022, 66: 135–144
 - 36 Fisher M C, Rannala B, Chaturvedi V, et al. Disease surveillance in recombining pathogens: multilocus genotypes identify sources of human *Coccidioides* infections. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2002, 99: 9067–9071
 - 37 Vanhove M, Beale M A, Rhodes J, et al. Genomic epidemiology of *Cryptococcus* yeasts identifies adaptation to environmental niches underpinning infection across an African HIV/AIDS cohort. [Mol Ecol](#), 2017, 26: 1991–2005
 - 38 Etienne K A, Berkow E L, Gade L, et al. Genomic diversity of azole-resistant *Aspergillus fumigatus* in the United States. [mBio](#), 2021, 12: e01803
 - 39 Chowdhary A, Anil Kumar V, Sharma C, et al. Multidrug-resistant endemic clonal strain of *Candida auris* in India. [Eur J Clin Microbiol Infect Dis](#), 2014, 33: 919–926
 - 40 Ksiezopolska E, Schikora-Tamarit M À, Beyer R, et al. Narrow mutational signatures drive acquisition of multidrug resistance in the fungal pathogen *Candida glabrata*. [Curr Biol](#), 2021, 31: 5314–5326.e10
 - 41 Vincent B M, Lancaster A K, Scherz-Shouval R, et al. Fitness trade-offs restrict the evolution of resistance to amphotericin B. [PLoS Biol](#), 2013, 11: e1001692
 - 42 Pujol C, Pfaller M A, Soll D R. Flucytosine resistance is restricted to a single genetic clade of *Candida albicans*. [Antimicrob Agents Chemother](#), 2004, 48: 262–266
 - 43 Chapeland-Leclerc F, Hennequin C, Papon N, et al. Acquisition of flucytosine, azole, and caspofungin resistance in *Candida glabrata* bloodstream isolates serially obtained from a hematopoietic stem cell transplant recipient. [Antimicrob Agents Chemother](#), 2010, 54: 1360–1362
 - 44 De Paep R, Normand A C, Uhrlaß S, et al. Resistance profile, terbinafine resistance screening and MALDI-TOF MS identification of the emerging pathogen *Trichophyton indotineae*. [Mycopathologia](#), 2024, 189: 29
 - 45 Silver P M, Oliver B G, White T C. Role of *Candida albicans* transcription factor Upc2p in drug resistance and sterol metabolism. [Eukaryot Cell](#), 2004, 3: 1391–1397
 - 46 Willger S D, Puttikamonkul S, Kim K H, et al. A sterol-regulatory element binding protein is required for cell polarity, hypoxia adaptation, azole drug resistance, and virulence in *Aspergillus fumigatus*. [PLoS Pathog](#), 2008, 4: e1000200
 - 47 Chang Y C, Bien C M, Lee H, et al. Sre1p, a regulator of oxygen sensing and sterol homeostasis, is required for virulence in *Cryptococcus neoformans*. [Mol Microbiol](#), 2007, 64: 614–629
 - 48 LaFayette S L, Collins C, Zaas A K, et al. PKC signaling regulates drug resistance of the fungal pathogen *Candida albicans* via circuitry comprised of Mkc1, calcineurin, and Hsp90. [PLoS Pathog](#), 2010, 6: e1001069
 - 49 Fu C, Beattie S R, Jezewski A J, et al. Genetic analysis of Hsp90 function in *Cryptococcus neoformans* highlights key roles in stress tolerance and virulence. [Genetics](#), 2022, 220: iyab164
 - 50 Walker L A, Gow N A R, Munro C A. Fungal echinocandin resistance. [Fungal Genet Biol](#), 2010, 47: 117–126
 - 51 Cannon R D, Lamping E, Holmes A R, et al. Efflux-mediated antifungal drug resistance. [Clin Microbiol Rev](#), 2009, 22: 291–321
 - 52 Sanglard D, Kuchler K, Ischer F, et al. Mechanisms of resistance to azole antifungal agents in *Candida albicans* isolates from AIDS patients involve specific multidrug transporters. [Antimicrob Agents Chemother](#), 1995, 39: 2378–2386
 - 53 Sanglard D, Ischer F, Monod M, et al. Cloning of *Candida albicans* genes conferring resistance to azole antifungal agents: characterization of CDR2, a new multidrug ABC transporter gene. [Microbiology](#), 1997, 143: 405–416
 - 54 Slaven J W, Anderson M J, Sanglard D, et al. Increased expression of a novel *Aspergillus fumigatus* ABC transporter gene, *atrF*, in the presence of itraconazole in an itraconazole resistant clinical isolate. [Fungal Genet Biol](#), 2002, 36: 199–206
 - 55 Posteraro B, Sanguinetti M, Sanglard D, et al. Identification and characterization of a *Cryptococcus neoformans* ATP binding cassette (ABC) transporter-encoding gene, *CnAFR1*, involved in the resistance to fluconazole. [Mol Microbiol](#), 2003, 47: 357–371
 - 56 Mansfield B E, Oltean H N, Oliver B G, et al. Azole drugs are imported by facilitated diffusion in *Candida albicans* and other pathogenic fungi. [PLoS Pathog](#), 2010, 6: e1001126
 - 57 Esquivel B D, Smith A R, Zavrel M, et al. Azole drug import into the pathogenic fungus *Aspergillus fumigatus*. [Antimicrob Agents Chemother](#), 2015, 59: 3390–3398
 - 58 Selmecki A, Forche A, Berman J. Aneuploidy and isochromosome formation in drug-resistant *Candida albicans*. [Science](#), 2006, 313: 367–370
 - 59 Carolus H, Pierson S, Muñoz J F, et al. Genome-wide analysis of experimentally evolved *Candida auris* reveals multiple novel mechanisms of multidrug resistance. [mBio](#), 2021, 12: e03333
 - 60 Yang F, Gritsenko V, Slor Futterman Y, et al. Tunicamycin potentiates antifungal drug tolerance via aneuploidy in *Candida albicans*. [mBio](#), 2021,

12: e02272-21

- 61 Selmecki A M, Maruvka Y E, Richmond P A, et al. Polyploidy can drive rapid adaptation in yeast. *Nature*, 2015, 519: 349–352
- 62 Sionov E, Chang Y C, Garraffo H M, et al. Heteroresistance to fluconazole in *Cryptococcus neoformans* is intrinsic and associated with virulence. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53: 2804–2815
- 63 Li X, Cai Q, Mei H, et al. The Rpd3/Hda1 family of histone deacetylases regulates azole resistance in *Candida albicans*. *J AntiMicrob ChemoTher*, 2015, 70: 1993–2003
- 64 Liu Z, Myers L C. *Candida albicans* Swi/Snf and mediator complexes differentially regulate Mrr1-induced *MDR1* expression and fluconazole resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61: e01344-17
- 65 Chang Z, Billmyre R B, Lee S C, et al. Broad antifungal resistance mediated by RNAi-dependent epimutation in the basal human fungal pathogen *Mucor circinelloides*. *PLoS Genet*, 2019, 15: e1007957
- 66 Chang Z, Heitman J, Di Pietro A. Drug-resistant epimutants exhibit organ-specific stability and induction during murine infections caused by the human fungal pathogen *Mucor circinelloides*. *mBio*, 2019, 10: e02579-19
- 67 Zarnowski R, Sanchez H, Covelli A S, et al. *Candida albicans* biofilm-induced vesicles confer drug resistance through matrix biogenesis. *PLoS Biol*, 2018, 16: e2006872
- 68 Boyce K J. The microevolution of antifungal drug resistance in pathogenic fungi. *Microorganisms*, 2023, 11: 2757
- 69 Rillig M C, Xu G, Fu W, et al. Constraining the effect of global change on antifungal resistance. *Nat Rev Earth Environ*, 2026, 7: 145–147
- 70 Sarika K, Sampath G, Kaveriyappan Govindarajan R, et al. Antimicrobial and antifungal activity of soil actinomycetes isolated from coal mine sites. *Saudi J Biol Sci*, 2021, 28: 3553–3558
- 71 Fitzpatrick D A. Horizontal gene transfer in fungi. *FEMS Microbiol Lett*, 2012, 329: 1–8
- 72 Morogovsky A, Handelsman M, Abou Kandil A, et al. Horizontal gene transfer of triazole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Microbiol Spectr*, 2022, 10: e0111222
- 73 Ciach M A, Pawłowska J, Górecki P, et al. The interkingdom horizontal gene transfer in 44 early diverging fungi boosted their metabolic, adaptive, and immune capabilities. *Evol Lett*, 2024, 8: 526–538
- 74 Lockhart S R, Chowdhary A, Gold J A W. The rapid emergence of antifungal-resistant human-pathogenic fungi. *Nat Rev Microbiol*, 2023, 21: 818–832
- 75 Fisher M C, Burnett F, Chandler C, et al. A one health roadmap towards understanding and mitigating emerging Fungal Antimicrobial Resistance: FAMR. *npj Antimicrob Resist*, 2024, 2: 36
- 76 Robi D T, Mossie T, Temteme S. Eukaryotic infections in dairy calves: impacts, diagnosis, and strategies for prevention and control. *VMRR*, 2023, Volume 14: 195–208
- 77 WHO Regional Office for Europe. A Health Perspective on the Role of the Environment in One Health. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2022
- 78 Alselami A, Drummond R A. How metals fuel fungal virulence, yet promote anti-fungal immunity. *Dis Model Mech*, 2023, 16: dmm050393
- 79 Balta I, Lemon J, Gadaj A, et al. The interplay between antimicrobial resistance, heavy metal pollution, and the role of microplastics. *Front Microbiol*, 2025, 16: 1550587
- 80 Ishii H, Hollomon D W. Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Tokyo: Springer, 2015
- 81 Wilkinson J L, Boxall A B A, Kolpin D W, et al. Pharmaceutical pollution of the world's rivers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119: e2113947119
- 82 Kinnunen M, Dechesne A, Proctor C, et al. A conceptual framework for invasion in microbial communities. *ISME J*, 2016, 10: 2773–2779
- 83 Klümper U, Gionchetta G, Catão E, et al. Environmental microbiome diversity and stability is a barrier to antimicrobial resistance gene accumulation. *Commun Biol*, 2024, 7: 706
- 84 Nnadi N E, Carter D A, Jabra-Rizk M A. Climate change and the emergence of fungal pathogens. *PLoS Pathog*, 2021, 17: e1009503
- 85 Rhodes J, Beale M A, Vanhove M, et al. A population genomics approach to assessing the genetic basis of within-host microevolution underlying recurrent cryptococcal meningitis infection. *G3 Genes/Genomes/Genet*, 2017, 7: 1165–1176
- 86 Kawakami Y, Tagami T, Kusakabe T, et al. Disseminated aspergillosis associated with tsunami lung. *Respir Care*, 2012, 57: 1674–1678
- 87 Bierman S M, Fitt B D L, Van Den Bosch F, et al. Changes in populations of the eyespot fungi *Tapesia yallundae* and *T. acuformis* under different fungicide regimes in successive crops of winter wheat, 1984–2000. *Plant Pathol*, 2002, 51: 191–201
- 88 Jarjees K I, Issa N A. First study on molecular epidemiology of dermatophytosis in cats, dogs, and their companions in the Kurdistan region of Iraq. *Vet World*, 2022, 15: 2971–2978
- 89 Brathwaite E H A, Kumar K, Dolphin-Bond G, et al. Fungal pathogens in pet dogs and cats in Grenada: identification and antifungal susceptibility. *JoF*, 2025, 11: 590
- 90 Nasrollahzadeh A, Mokhtari S, Khomeiri M, et al. Antifungal preservation of food by lactic acid bacteria. *Foods*, 2022, 11: 395

- 91 Ghodsi S, Nikaeen M, Aboutalebian S, et al. Prevalence of fungi and their antifungal and disinfectant resistance in hospital environments: Insights into combating nosocomial mycoses. [Antimicrob Resist Infect Control](#), 2025, 14: 37
- 92 Corrêa-Junior D, Parente C E T, Frases S. Hazards associated with the combined application of fungicides and poultry litter in agricultural areas. [JoX](#), 2024, 14: 110–134
- 93 Segers F J J, Dijksterhuis J, Giesbers M, et al. Natural folding of airborne fungal spores: a mechanism for dispersal and long-term survival? [Fungal Biol Rev](#), 2023, 44: 100292
- 94 Melo A M, Stevens D A, Tell L A, et al. Aspergillosis, avian species and the one health perspective: the possible importance of birds in azole resistance. [Microorganisms](#), 2020, 8: 2037
- 95 Arendrup M C, Guinea J, Meletiadis J. Twenty years in EUCAST anti-fungal susceptibility testing: progress & remaining challenges. [Mycopathologia](#), 2024, 189: 64
- 96 Sun Z H, Zhao Y C, Li J K, et al. Environmental factors influencing the development and spread of resistance in erythromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. [Environ Geochem Health](#), 2024, 46: 488
- 97 Ashfaq M Y, Da'na D A, Al-Ghouti M A. Application of MALDI-TOF MS for identification of environmental bacteria: a review. [J Environ Manage](#), 2022, 305: 114359
- 98 Didelot X, Bowden R, Wilson D J, et al. Transforming clinical microbiology with bacterial genome sequencing. [Nat Rev Genet](#), 2012, 13: 601–612
- 99 Nakano K, Shiroma A, Shimoji M, et al. Advantages of genome sequencing by long-read sequencer using SMRT technology in medical area. [Hum Cell](#), 2017, 30: 149–161
- 100 Samils B, Andersson B, Edin E, et al. Development of a PacBio long-read sequencing assay for high throughput detection of fungicide resistance in *Zymoseptoria tritici*. [Front Microbiol](#), 2021, 12: 692845
- 101 Zulak K G, Farfan-Caceres L, Knight N L, et al. Exploiting long read sequencing to detect azole fungicide resistance mutations in *Pyrenophora teres* using unique molecular identifiers. [Sci Rep](#), 2024, 14: 6285
- 102 Xia Y, Li X, Wu Z, et al. Strategies and tools in illumina and nanopore-integrated metagenomic analysis of microbiome data. [iMeta](#), 2023, 2: e72
- 103 Fraaije B A, Butters J A, Coelho J M, et al. Following the dynamics of strobilurin resistance in *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* using quantitative allele-specific real-time PCR measurements with the fluorescent dye SYBR Green I. [Plant Pathol](#), 2002, 51: 45–54
- 104 Zulak K G, Cox B A, Tucker M A, et al. Improved detection and monitoring of fungicide resistance in *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* with high-throughput genotype quantification by digital PCR. [Front Microbiol](#), 2018, 9: 706
- 105 Arendrup M C, Hare R K, Jørgensen K M, et al. Environmental hot spots and resistance-associated application practices for azole-resistant *Aspergillus fumigatus*, Denmark, 2020–2023. [Emerg Infect Dis](#), 2024, 30: 1531–1541
- 106 Duan Y, Zhang X, Ge C, et al. Development and application of loop-mediated isothermal amplification for detection of the F167Y mutation of carbendazim-resistant isolates in *Fusarium graminearum*. [Sci Rep](#), 2014, 4: 7094
- 107 Hu J J, Liu D, Cai M Z, et al. One-pot assay for rapid detection of benzimidazole resistance in *Venturia carpophila* by combining RPA and CRISPR/Cas12a. [J Agric Food Chem](#), 2023, 71: 1381–1390
- 108 Yu L S, Rodriguez-Manzano J, Moser N, et al. Rapid detection of azole-resistant *Aspergillus fumigatus* in clinical and environmental isolates by use of a lab-on-a-chip diagnostic system. [J Clin Microbiol](#), 2020, 58: e00843-20
- 109 Caffrey N, Invik J, Waldner C L, et al. Risk assessments evaluating foodborne antimicrobial resistance in humans: a scoping review. [Microb Risk Anal](#), 2019, 11: 31–46
- 110 Doughty K J, Sierotzki H, Semar M, et al. Selection and amplification of fungicide resistance in *Aspergillus fumigatus* in relation to DMI fungicide use in agronomic settings: hotspots versus coldspots. [Microorganisms](#), 2021, 9: 2439
- 111 Gisi U. Crossover between the control of fungal pathogens in medicine and the wider environment, and the threat of antifungal resistance. [Plant Pathol](#), 2021, 71: 131–149
- 112 Leleu C, Menotti J, Meneceur P, et al. Bayesian development of a dose-response model for *Aspergillus fumigatus* and invasive aspergillosis. [Risk Anal](#), 2013, 33: 1441–1453
- 113 Weiskerger C J, Brandão J. Fungal contaminants in water and sand: a new frontier for quantitative microbial risk assessment. [Curr Opin Environ Sci Health](#), 2020, 16: 73–81
- 114 Du Y, Xiong H, Dong S, et al. Identifying the role of reactive oxygen species (ROs) in *Fusarium solani* spores inactivation. [AMB Expr](#), 2016, 6: 81
- 115 Wang S, Wang Y, Shi X, et al. Application and antagonistic mechanisms of atoxigenic *Aspergillus* strains for the management of fungal plant diseases. [Appl Environ Microbiol](#), 2024, 90: e01085-24
- 116 Ademe M. Immunomodulation for the treatment of fungal infections: opportunities and challenges. [Front Cell Infect Microbiol](#), 2020, 10: 469
- 117 van Rhijn N, Storer I S R, Birch M, et al. *Aspergillus fumigatus* strains that evolve resistance to the agrochemical fungicide ipflufenquin *in vitro*

- are also resistant to olorofim. [Nat Microbiol](#), 2023, 9: 29–34
- 118 Saraiva J P, Bartholomäus A, Toscan R B, et al. Recovery of 197 eukaryotic bins reveals major challenges for eukaryote genome reconstruction from terrestrial metagenomes. [Mol Ecol Resour](#), 2023, 23: 1066–1076
- 119 Blanco-Míguez A, Beghini F, Cumbo F, et al. Extending and improving metagenomic taxonomic profiling with uncharacterized species using MetaPhlAn 4. [Nat Biotechnol](#), 2023, 41: 1633–1644
-

补充材料

表S1 不同环境中唑类耐药烟曲霉统计表

表S2 常见临床抗真菌药物

表S3 高风险真菌病原体耐药突变信息统计表

表S4 ARF和AFRGs的各项检测技术及优劣对比

本文以上补充材料见网络版csb.scichina.com. 补充材料为作者提供的原始数据, 作者对其学术质量和内容负责.

Summary for “被忽视的生物污染物: 环境中的耐药性真菌及其抗性基因”

Neglected biological contaminants: antifungal-resistant fungi and antifungal resistance genes in the environment

Xingshuo Wang¹, Zhiyuan Chang¹, Tianle Wang¹, Yi Luo², Yanzheng Gao³ & Zeyou Chen^{1*}

¹ College of Environmental Science and Engineering, Ministry of Education Key Laboratory of Pollution Processes and Environmental Criteria, Nankai University, Tianjin 300071, China

² State Key Laboratory of Water Pollution Control and Green Resource Recycling, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China

³ Institute of Organic Contaminant Control and Soil Remediation, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

* Corresponding author, E-mail: zeyou@nankai.edu.cn

Antifungal-resistant fungi (ARF) and antifungal resistance genes (AFRGs) are widely distributed in the environment and are emerging as global health threats. Yet, compared to the extensive attention given to antibacterial resistance, the risks posed by antifungal resistance have long been underestimated, particularly within environmental sciences, where publications on fungi remain substantially fewer than those on bacteria. This review systematically synthesizes the types, distribution, resistance mechanisms, and ecological and health risks of ARF and AFRG in environmental contexts, and further examines recent technological advances and future directions in detection, assessment, and control strategies under the One Health framework. Overall, this review aims to provide an integrated scientific reference for understanding and responding to this escalating challenge.

We first describe how environmental systems have become critical reservoirs of ARF and AFRG under combined stressors, and highlight priority ARF taxa and their corresponding AFRG types that warrant urgent attention. We then summarize the core mechanisms of antifungal resistance, including target alteration or overexpression, increased efflux or decreased influx, and the activation of stress-response pathways. These mechanisms provide a mechanistic basis for understanding resistance development and inform the design of new antifungal therapies. We further emphasize the substantial clinical hazards associated with environmentally derived ARF and AFRG, underscoring the need for greater and more targeted research efforts on antifungal resistance.

Next, we analyze the ecological origins and formation pathways of ARF and AFRG within the One Health framework, illustrating how they originate, evolve, and disseminate across environmental systems, animals/plants, and humans. Within this framework, a range of environmental contaminants, including fungicides, clinical antifungals, preservatives, and other pollutants, act synergistically to impose strong selection pressures that accelerate resistance emergence and accumulation. In parallel, global climate change, particularly rising temperatures and the increasing frequency of extreme weather events, alters fungal growth dynamics, environmental adaptability, and host-pathogen interactions, thereby promoting the emergence and persistence of antifungal-resistant fungi. Biodiversity loss further contributes to antifungal resistance by simplifying biological communities and weakening competitive and antagonistic interactions that would otherwise constrain resistant fungal populations. Collectively, these factors enhance transmission efficiency and facilitate the rapid spread of ARF and AFRG across ecosystems and broader spatial scales.

To address the growing risks of antifungal resistance, we propose a suite of early-warning, intervention, and management approaches based on advances in detection, risk assessment, and control technologies. Detection methods have evolved from traditional isolation, culture, and susceptibility testing to sequencing-based tools, PCR, and related molecular approaches, each offering distinct advantages. Risk assessment generally follows the framework of hazard identification, hazard characterization, exposure assessment, and risk characterization, providing scientific support for the development and optimization of antimicrobial resistance control strategies, including those targeting fungal pathogens, guiding antifungal drug development, and enabling more effective allocation of public-health resources. Control strategies emphasize source reduction, blocking transmission pathways, and strengthening end-point management to achieve integrated control across environmental, animal, and human domains, ultimately curbing the spread of ARF and AFRG and mitigating cross-sectoral health risks.

Despite recent progress, significant gaps remain in mechanistic understanding, technological readiness, and governance priorities. Future research should advance through cross-disciplinary, intersectoral, and international collaboration, enabling integrated monitoring, intervention, and policy development within the One Health framework. In particular, establishing comprehensive governance systems that incorporate source control, process management, and endpoint mitigation will be essential for curbing resistance spread and protecting environmental and human health.

antifungal resistance, antifungal resistance genes, health risk, resistance mechanisms, biological contaminants

doi: [10.1360/CSB-2025-5880](https://doi.org/10.1360/CSB-2025-5880)