

人類、動物和環境的新威脅－ 抗藥性熱帶念珠菌

【國家衛生研究院 感染症與疫苗研究所台灣黴菌實驗中心陳盈之 / 林巧梅 / 陳玉蓮 / 謝禮雲 / 羅秀容 摘評】

熱帶念珠菌 (*Candida tropicalis*) 是黴菌界的成員，屬子囊菌科酵母目，為二倍體雙態性酵母可呈橢圓形出芽細胞或假菌絲體，亦具有黴菌絲型態。熱帶念珠菌在沙氏葡萄糖瓊脂上呈現奶油色菌落，邊緣略帶菌絲體 (mycelial)，而在 CHROMagar™ 上菌落則呈現金屬藍色，因此可使用 CHROMagar™ 培養基作為鑑定方式。

近年來的臨床研究指出熱帶念珠菌對病患造成感染的比例日益趨增，因此備受關注，其致病力由幾種毒力因子造成，包括細胞外分泌酶（磷脂酶、溶血素、凝固酶和蛋白酶）、形成生物膜之能力以及具有高藥物耐受性。統整目前的研究報告指出，熱帶念珠菌已無所不在，台灣的農田、森林土壤、石油污染和污泥土壤中皆已分離出該物種。中國熱帶地區的土壤、淡水與海水樣本中有 21% 含有熱帶念珠菌。巴西的研究顯示熱帶念珠菌已存在於亞馬遜森林土壤、農

田、河流和湖泊、沙灘、甘蔗渣與椰子水等樣本中。除此之外，美國與愛爾蘭的土壤中也已經發現其蹤跡。不僅存在於環境，透過多團隊對生物體的研究也顯示熱帶念珠菌已存在陸地、海洋哺乳類、鳥類、甲殼類和昆蟲的體內，不僅定植於動物體內也與許多感染疾病有關，包括豬胃腸道疾病、牛乳腺炎、禿鷲口腔粘膜炎，狗和貓泌尿道感染，母馬生殖道感染等。

熱帶念珠菌對人體的影響更是不容小覷，根據統計熱帶念珠菌存在於人類皮膚、指甲、口腔黏膜、腸道和陰道等部位，並且與甲癬、耳黴菌病、口腔、皮膚念珠菌病等淺表黴菌病的發生。不僅如此，在亞洲和拉丁美洲，熱帶念珠菌為造成念珠菌血症的重要病原體，癌症患者因熱帶念珠菌感染而死亡的風險更是高於 40%。

日本、中國、阿爾及利亞與土耳其的研究證據顯示，從人類身

上蒐集的熱帶念珠菌群具有氟康唑 (fluconazole) 和多重藥物抗藥性的比例日益趨增。抗氟康唑菌株的出現導致棘白菌素 (pneumocandins) 與兩性黴素 B (amphotericin B) 廣泛地使用，美國的觀察研究顯示已有 1% 熱帶念珠菌臨床分離株同時具有唑類與棘白菌素抗藥性。因此多重抗藥性是熱帶念珠菌和人類健康的未來關注點。

日本、巴西與印度的研究指出分離自動物體內的熱帶念珠菌有 4-75% 對氟康唑具有抗藥性。相較於人類與動物的研究，分離自環境的熱帶念珠菌研究相對稀少，目前顯示來自巴西與中國的環境分離株有超過 20% 對氟康唑具有抗藥性。由不同國家研究團隊的結果顯示具有抗氟康唑的熱帶念珠菌已廣泛存在於全球各地環境與物種之間。

目前已知的抗藥性菌株之藥物耐受性和抗性機制包含：1. 排出幫浦 (efflux pump) 的過度表現。Tokuoka、Ribeiro Bastos 與 Butinar 等人的研究指出熱帶念珠菌分別於死海和亞馬遜森林的高鹽環境分離出，表示其能忍受高鹽環境，透過實驗證實該菌種可以在含有 10-15% 氯化鈉的環境下生長。熱帶念珠菌之所以具有耐高滲透壓環境的能力與轉運蛋白的激活有關。Zuza-Alves 等人在 2017 發表的研究中認為沿海的高鹽環境可能導致熱帶念珠菌排出幫浦的過度表現，此現象可以解釋沿海菌株對唑類和兩性黴素 B 具有高耐受性的原因。根據

研究指出熱帶念珠菌在產生抗藥性之前會先具有藥物忍受力，一些文獻結果顯示，當菌株在高於最小抑制濃度的藥物環境中出現拖尾生長 (trailing growth) 的現象，則代表該菌株具有較強的藥物忍受力。Astvad 等人於 2018 年發表的文章指出，拖尾生長的熱帶念珠菌具有比敏感性菌株更高的排出幫浦表現。而熱帶念珠菌中被命名為念珠菌抗藥基因 1 和 2 (candida drug resistant 1 and 2, *CDR1* 和 *CDR2*) 轉運蛋白的表現亦為導致菌株對唑類耐受性增加的原因 (表一)。除此之外與唑類耐受性外排系統的相關基因還包括 *MDR1*、*MMR1* 與 *TAC1* (表一)。

2. 熱帶念珠菌具有降解酚類 (phenol) 物質的能力。熱帶念珠菌的另一個相關生物學特徵是其對苯酚的耐受和降解能力。苯酚是一種芳香族化合物，可用於生產殺蟲劑、防腐劑、殺菌劑和藥物製劑，被定義為環境污染的標誌。Wang 等人的一項研究表明，接觸酚類化合物的熱帶念珠菌會積累細胞內脂肪酸和促進細胞壁修飾。此外，該研究指出苯酚暴露可能促使與唑類耐受性相關的外排機制表現增加。

3. *ERG11* 突變。熱帶念珠菌產生氟康唑抗藥性的主要因素中，其中之一與麥角固醇合成途徑中基因的突變有關，由 *ERG11* 基因編碼的羊毛脂固醇-14 α -脫甲基酶是唑類抗黴菌藥物的主要標的。根據文獻統計，*ERG11* 基因序列中至少有 31 個突變位點可能與熱帶念珠菌對氟康

表一 熱帶念珠菌抗藥性相關基因 [1]

Lima et al.

10.3389/funb.2022.957021

TABLE 1 Molecular mechanisms of resistance to fluconazole or echinocandins in *C. tropicalis* from invasive fungal infections.

Mutations		Reference
ERG11- Coding ERG11 protein (lanosterol 14-α demethylase in <i>Candida</i>)		
ERG11	Y132F	(Forastiero et al., 2013; Jiang et al., 2013; Tan et al., 2015; Chew et al., 2017; Jin et al., 2018; Chew et al., 2019b; Fan et al., 2019; Teo et al., 2019; Zhang et al., 2019; Arastehfar et al., 2020b; Castanheira et al., 2020; Chen et al., 2021; Chew et al., 2021)
	K143R/X	(Xisto et al., 2017)
	R245K	(Arastehfar et al., 2020b)
	Y221F	(Arastehfar et al., 2020b)
	K344N/T	(Arastehfar et al., 2020b)
	V326M	(Arastehfar et al., 2020b)
	Y257H	(Chew et al., 2019b; Fan et al., 2019)
	V125A	(Fan et al., 2019)
	F145L	(Teo et al., 2019)
	S154F	(Jiang et al., 2013; Chew et al., 2019b; Teo et al., 2019; Arastehfar et al., 2020b; Castanheira et al., 2020; Chen et al., 2021)
	T225C	(Álvarez-Pérez et al., 2016b)
	G264A	(Álvarez-Pérez et al., 2016b)
	G1362A	(Álvarez-Pérez et al., 2016b)
	T1554C	(Álvarez-Pérez et al., 2016b)
	A427M	(Xisto et al., 2017)
	G464S/D	(Forastiero et al., 2013; Choi et al., 2016b; Fan et al., 2019)
	V362M/I	(Choi et al., 2016b; Arastehfar et al., 2020b)
	T225Y	(Xisto et al., 2017)
	G264R	(Xisto et al., 2017)
	T342Y/C	(Xisto et al., 2017)
	A428G	(Xisto et al., 2017)
	Y132C	(You et al., 2017a)
	T224C	(Benedetti et al., 2019)
	G263A	(Benedetti et al., 2019)
	D454N	(Chen et al., 2021)
	Y132F + S154F	(Arastehfar et al., 2020b; Chew et al., 2021)
ERG3 - Coding ERG3 protein (enzyme sterol $\Delta^{5,6}$ desaturase in <i>Candida</i>)		
ERG3p	ERG3 - 2-bp insertion in positions 1130 and 1131	(Álvarez-Pérez et al., 2016b)
	S113G	(Forastiero et al., 2013)
UPC2 - Coding a zinc cluster transcription factor of ERG genes in <i>Candida</i>		
UPC2p	A251T	(Choi et al., 2016b)
	Q289L	(Choi et al., 2016b)
	A297S	(Choi et al., 2016b)
	T393I	(Choi et al., 2016b)
	A251T	(Choi et al., 2016b)
	G392E	(Choi et al., 2016b; Jiang et al., 2016, 3)
	Q289L	(Choi et al., 2016b)
	L343F	(Choi et al., 2016b)
	S187L	(Choi et al., 2016b)
	T241A	(Arastehfar et al., 2020a)
	Q340H	(Arastehfar et al., 2020a)
	T381S	(Arastehfar et al., 2020a)
	Promoter region in <i>C. tropicalis</i> , -118T-G and -155G-A	(Jiang et al., 2016, 2)

(Continued)

Mutations	Reference
MRR1 – multidrug resistance regulator 1 in <i>Candida</i>	
MRR1p	T255P (Arastehfar et al., 2020a)
	T647S (Arastehfar et al., 2020a)
TAC1 (transcriptional activator of <i>CDR</i> genes) is a zinc-cluster transcription in <i>Candida</i>	
TAC1	N164I (Arastehfar et al., 2020a)
Other mutations related to resistance	
MDR1p	E133D (Castanheira et al., 2020)
Multi-Drug Resistance 1	V76A (Castanheira et al., 2020)
	A189V (Castanheira et al., 2020)
	P448L (Chew et al., 2019b)
CDR2p	CDR2 K427_ stop codon (Castanheira et al., 2020)
ATP binding cassette (ABC) transporters	
Detection of genes overexpressed by qPCR	
CDR1	(Fan et al., 2019; Teo et al., 2019)
MDR1	(Kanoshiki et al., 2015; You et al., 2017a; Jin et al., 2018; Fan et al., 2019; Teo et al., 2019; Khalifa et al., 2022)
UPC2	(Jiang et al., 2016, 2; Wang et al., 2021; Khalifa et al., 2022)
ERG11	(Jiang et al., 2013; Kanoshiki et al., 2015; Jin et al., 2018; Fan et al., 2019; Teo et al., 2019; Wang et al., 2021; Khalifa et al., 2022)
CDR2	(Khalifa et al., 2022)
CDR3	(Khalifa et al., 2022)
TAC1	(Khalifa et al., 2022)
HMG	(Khalifa et al., 2022)
FKS1 1,3-beta-glucan synthase component in <i>Candida</i>	
Hot Spot 1	F650S (Castanheira et al., 2020)
	S654P (Castanheira et al., 2020; Sfeir et al., 2020)
	S645P (Grosset et al., 2016; Khan et al., 2018b; Chew et al., 2019b; Diaz-Garcia et al., 2021)
	S805/P (Jensen et al., 2013; Sfeir et al., 2020)
	R656G/R (Diaz-Garcia et al., 2021)
	S80P (Xiao et al., 2018b; Sfeir et al., 2020)
	D648V (Chew et al., 2019b)
	F641S/L (Chew et al., 2019b; Sfeir et al., 2020)
Hot Spot 2	M1235I (Chew et al., 2019b)

唑的抗藥性相關（表一），其中最常見的突變點是 Y132F 和 S154F。此外，轉錄因子 *UPC2* 的過度表現影響麥角固醇生物合成過程相關基因的表現上升，構成熱帶念珠菌對抗三唑類藥物的另一種機制。

在日常生活與自然環境中能篩選出上述帶有抗藥性機制菌株的契機大致可分為三方面來探討：1. 暴露於抗黴菌藥物的患者。免疫功能低

下的患者因長期暴露於含有抗微生物藥物與抗黴菌藥物的環境下，因而造成腸道內菌叢在此環境中篩選出高耐藥性的熱帶念珠菌。一項臨床研究表明，白血病患者經歷泊沙康唑 (posaconazole) 治療並痊癒後，於該患者血液中分離出具有抗藥性之熱帶念珠菌，透過分析顯示該臨床分離株具有 *ERG11* 蛋白 Y132F 和 S154C 突變以及 *MDR1* 表現上升等現象。

侵入性治療設備亦容易分離出耐藥性熱帶念珠菌，中國與科威特的報告分別指出於患者胸腔引流管與通氣管中可分離出具有抗棘白素的熱帶念珠菌。2. 野生或圈養的動物。根據歷年來多篇文獻指出具抗藥性之熱帶念珠菌已可從野生與圈養的動物身上分離出。使用氟康唑治療的犬隻以及使用伊曲康唑 (itraconazole) 和伏立康唑 (voriconazole) 治療的海豚皆分離出抗唑類熱帶念珠菌。Takahashi 等人在報告中指出日本海豚水族館中的水已被抗唑類熱帶念珠菌污染。3. 受唑類藥物污染的環境。唑類藥物早已廣泛用於農業、水產養殖和木材防腐等行業，其中水稻與大豆種植所需之唑類藥物在全球總銷售量中佔比 10% 和 15%。此外，氟康唑為醫學上消耗最多的抗黴菌藥物，亦為醫院廢水中最常見的藥物之一。據估計，中國每年有超過 17 噸氟康唑被丟棄於廢水，由於氟康唑的生物降解性差無法有效去除，導致唑類抗黴菌藥劑逐漸滲入自然界中，因而篩選出抗唑類熱帶念珠菌。台灣的研究證據顯示，抗唑類熱帶念珠菌主要的基因型態為 DST 225 與 506 (表二)，兩基因型態的分離株皆可自病患與水果上取得。來自武漢與泰國的臨床報告也同時指出基因型態為 DST 225 與 506 的熱帶念珠菌皆對氟康唑具有抗藥性。

【譯者評】 透過分析歷年來台灣黴菌抗藥性監測計畫顯示熱帶念珠菌為僅次於白色念珠菌引起感染的念

珠菌菌種，亦為造成念珠菌血症的第二大病原體。近幾年的研究證據顯示，不論來自環境或病患的分離株中皆可發現抗唑類熱帶念珠菌逐漸取代敏感性菌株與拖尾生長菌株的現象，且大多數抗唑類熱帶念珠菌具有相同的遺傳特徵，透過多位點序列分型 (multilocus sequence typing, MLST) 方法與親緣關係演化樹狀分析，抗唑類熱帶念珠菌為分支 4 (clade 4) 的比例相當高 [4]。

此篇作者統整造成具抗藥性熱帶念珠菌產生的因素，除了人類與動物醫療上的廣泛使用，用於農業與水產養殖而造成環境中非目標物的污染以及藥物廢水缺乏正確的處理等因素，間接造成土壤與水源等環境因子含有藥物殘留，因而將環境中與野生動物體內對藥物具抗藥性的熱帶念珠菌株篩選出來，而環境中的菌株可能藉不同傳播方式感染人類，最終形成循環，這也就是「健康一體」(one health) 的概念。

目前除了提供資訊，讓醫療相關人員能即時瞭解現況外，還需推廣以藥物輪替使用及以低生物毒性的藥物取代唑類藥物，期待能減少臨床與農業唑類藥物的使用，降低篩選對藥物具抗藥性的病原體。另外，多重抗藥性菌株的議題以及如何能有效遏止抗藥性菌株持續蔓延等挑戰，尚需要研究人員更多的研究與討論，尋求解決之道。

表二 熱帶念珠菌的基因型態分布 [4]

Distribution of genotypes of 174 *Candida tropicalis* isolates.

Clade/DST	TSARY 2014			Subtotal	TSARY 2018			Subtotal	Total
	S	SDD	R		S	SDD	R		
Clade 4									
225	0	13	7	20	0	3	3	6	26
506	0	0	15	15	0	0	21	21	36
508	0	0	0	0	0	1	0	1	1
546	0	0	0	0	0	0	2	2	2
592	0	0	0	0	0	0	1	1	1
595	0	1	0	1	0	0	0	0	1
600	0	1	0	1	0	0	0	0	1
667	1	0	0	1	0	0	0	0	1
879	0	0	0	0	0	0	1	1	1
921	1	0	0	1	0	0	0	0	1
924	0	1	0	1	0	0	0	0	1
1096	0	0	0	0	0	0	1	1	1
Subtotal	2	16	22	40	0	4	29	33	73
Clade 5									
98	0	0	0	0	2	0	0	2	2
140	12	0	0	12	18	0	0	18	30
181	0	0	0	0	1	0	0	1	1
357	1	0	0	1	0	0	0	0	1
443	0	0	0	0	1	0	0	1	1
797	0	0	0	0	1	0	0	1	1
910	2	0	0	2	0	0	0	0	2
911	1	0	1	2	1	0	0	1	3
922	0	1	0	1	0	0	0	0	1
953	0	0	0	0	2	0	0	2	2
954	0	0	0	0	2	0	0	2	2
955	0	0	0	0	1	0	0	1	1
958	0	0	0	0	1	0	0	1	1
Subtotal	16	1	1	18	30	0	0	30	48
Other 33 DSTs	13	5	2 (153 & 585) ^a	20	31	0	2 (1095 & 1141)	33	53
Total	31	22	25	78	61	4	31	96	174

DST, diploid sequence type; R, resistant; S, susceptible; SDD, susceptible-dose dependent; TSARY, Taiwan Surveillance of Antimicrobial Resistance of Yeasts.

^a Number of isolates (DSTs).

參考文獻

1. Lima R, Ribeiro FC, Colombo AL, et al: The emerging threat antifungal-resistant *Candida tropicalis* in humans, animals, and environment. *Front Fungal Biol* 2022. DOI 10.3389/ffunb.2022.957021
2. Wang L, Lin Y, Yang L, et al: *Candida tropicalis*: characterization of a strain capable of degrading high concentrations of phenol. *Biotechnol Lett* 2011;33:943-6.
3. Chong Y, Shimoda S, Yakushiji H, et al: Fatal candidemia caused by azole-resistant *Candida tropicalis* in patients with hematological malignancies. *J Infect Chemother* 2012;18:741-6.
4. Zhou ZL, Tseng KY, Chen YZ, et al: Genetic relatedness among azole-resistant *Candida tropicalis* clinical strains in Taiwan from 2014 to 2018. *Int J Antimicrob Agents* 2022;59:106592.