

鱼类的联合感染

刘洪岩,薛晖,张世勇,赵彦华,陈校辉,边文冀

(江苏省淡水水产研究所,江苏 南京 210017)

摘要:鱼类的复合感染在自然界中是时常发生的。复合感染是指同时被两种或者两种以上的病原微生物感染,感染宿主的病原微生物引发的病症是相同或者相似的。在很多研究中,复合感染常常被忽略,或者是解释为偶然发生的感染,这影响了复合感染的确诊和治疗的延误。该篇综述重点讨论由多种病原体引发的复合感染。在复合感染过程中,病原体引发的机体免疫反应相互作用,会对另外的病原体的感染起到协同或者是抑制作用。鱼类生活的环境是复杂多变的,感染的病原也是多样的,包括一些寄生虫,细菌,真菌以及病毒。因此,准确地找到发病原因,以及复合感染的发病过程是治疗的关键。

关键词:鱼;联合感染;细菌感染;病毒感染;寄生虫感染

中图分类号:S948 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-2091(2020)10-0030-05

在复合感染中,复合感染的多种病原微生物之间的关系可能是协同或者抑制。协同作用是因为原发感染的病原微生物,抑制了宿主的免疫反应,从而增加了宿主对于其他微生物的敏感性和致死率^[1,2]。抑制作用往往是因为病原微生物之间竞争结合位点、营养等,从而抑制了病原微生物种群的增加。另外一些拮抗作用的复合感染,是因为原发感染微生物引发了宿主的免疫反应,从而抑制了继发感染^[3]。

鱼类生存的水体中,存在着复杂的病原微生物。然而,人们对于暴露于复杂环境下的鱼类的复合感染知之甚少。由于复合感染发生的频率很高,并且有可能产生新的病症,因此,深入了解复合感染宿主免疫系统的特殊机制是非常必要的。研究不同的复合感染机制是研发有效疫苗和控制疾病的核心。该文着重分析近年来鱼类中复合感染的案例,分析了复合感染对于敏感性鱼类的影响,以及不同病原体之间在复合感染过程中的相互作用。

1 同源的病原微生物引发的联合感染

1.1 细菌引发的复合感染

细菌引发的复合感染,包括双重感染、三重感染和多重感染。有文献表明,使用爱德华氏菌攻毒

的斑点叉尾鲷会发生细菌性败血症,该病征是嗜水气单胞菌感染引起的^[4]。后续试验证明,并不是爱德华氏菌引起的病症发生了改变,而是在试验过程中,试验动物感染了嗜水气单胞菌。在没有感染嗜水气单胞菌的情况下,爱德华氏菌并不能引发鲷鱼的细菌性败血症。同时使用浸泡的方法用爱德华氏菌和嗜水气单胞菌攻毒,苏氏圆腹鱼芒的病死率可达95%,单独使用爱德华氏菌攻毒的病死率为80%,而单独使用嗜水气单胞菌攻毒的病死率只有10%。基于以上的研究结果,猜测在这种复合感染中,爱德华氏菌是主要的病原体,而嗜水气单胞菌则是随机感染的。

除了人工的感染之外,在感染沙门氏菌^[5]的鱼中发现嗜水气单胞菌的数量比随机预测的要多。由于沙门氏菌的免疫抑制特性,作者认为兼致病性嗜水气单胞菌是一种机会致病菌,与沙门氏菌协同作用。在野生棕色鳟鱼中,Salmo trutta 等人^[5]报道了在鳃样本中同时存在两种不同的衣原体细菌,导致鳃片的上皮囊肿。

“冬季溃疡综合征”是一种与发生在低温海水中的皮肤溃疡相关的综合征。尽管 *Moritella viscosa* 是该病的主要病原体,然而 *Moritella viscosa* 和鲑弧

资助项目:现代农业产业技术体系专项资金(CARS-46);江苏省农业重大新品种创制项目(PZCZ201741);江苏省现代渔业产业技术体系(JFRS-05);江苏省现代渔业产业技术体系(JFRS-05)

作者简介:刘洪岩(1986—),女,工程师,主要从事水产病害研究。E-mail:njsfdxliuhongyan@163.com

通信作者:陈校辉(1977—),男,研究员,主要从事斑点叉尾鲷育种研究。E-mail:cxiaohui416@hotmail.com

菌通常是一起或单独从被感染的鱼中分离。事实上,感染鲑弧菌可能会降低 *M. viscosa* 毒力。这一现象的原因可能是鲑弧菌改了 *M. viscosa* 基因表达谱。鲑弧菌可能通过竞争相同的细胞结合位点和营养物质介导的种间竞争,以及通过分泌细菌素等抑制 *M. viscosa* 的繁殖。

1.2 病毒引发的联合感染

在鱼类中存在着涉及两种或两种以上病毒病原体的感染报告。病毒干扰现象,它的定义是一种病毒干扰另一种病毒复制的能力,这种现象发生在几种水生病毒之间。推断病毒直接相互干扰是多种机制相互作用的结果,包括一种病毒抑制另一种病毒的增殖,或通过下调病毒受体干扰病毒进入,或病毒之间直接竞争一个共同受体^[6]。此外感染第一种病毒还可以抑制或改变宿主细胞中第二种入侵病毒所需要的某些功能。最后,第一种病毒感染可诱导干扰素或抗病毒因子抑制第二种病毒的复制。

病毒干扰的一个例子发生在斑点叉尾鲷呼肠孤病毒(CRV)和斑点叉尾鲷病毒(CCV)共感染时,发现 CRV 在体外降低了 CCV 的病毒滴度和 CPE。当细胞首次感染 CRV,然后在 16 小时后与 CCV 同时感染时,CRV 对细胞的干扰是相当大的,而当同时感染时则不是这样。此外,研究还发现,虹鳟鱼传染性造血坏死病毒(IHNV)感染受到病毒性出血性败血症病毒(VHSV)感染的阻碍,导致 IHNV 在虹鳟鱼中的内脏中的分布受限^[7]。作者认为这种干扰和拮抗作用可能是由于对细胞表面相同受体的竞争,抗体干扰表明至少在脑中,病毒使用相似的受体。

Hedrick 等人^[8]还提到了另一个例子,即无毒性割喉鳉病毒(CTV)和 IHNV 共同感染过程中发生的病毒干扰,并表明虹鳟之前感染 CTV 降低了与后来感染 IHNV 相关的病死率。同样,初次接触无毒鲑鱼呼肠孤病毒,8 周后再与 IHNV 共同攻毒,可以提高虹鳟鱼的存活率。

1.3 寄生虫诱发的联合感染

寄生虫通常与宿主处于动态平衡状态,环境的变化可以改变对位点/宿主的平衡,从而导致疾病的爆发。寄生虫可引起鳃片增殖、融合等机械损伤,也可引起细胞增殖、免疫调节、鱼体状态改变或消极行为反应等生理损伤以及影响鱼的生殖能力。多种寄生虫共感染对宿主-寄生虫生态^[9]影响较大。

从苏格兰中部的农场采集的褐鳟样本中观察到 5 种黏菌(*Tetracapsuloides bryosalmonae*、*Sphaerospora truttae*、*Chloromyxum schurovi*、*Chloromyxum truttae* 和 *Myxobolus species*)的混合感染。经检查的肾脏标本显示混合感染了 3 种黏液动物:*T. bryosalmonae*、*S. truttae* 和 *C. schurovi*。*T. bryosalmonae* 感染引起了对 *C. schurovi* 一定程度的免疫,反之亦然。Peeler 等人^[10]提到,*T. bryosalmonae* 和 *C. schurovi* 之间存在很强的负相关性,在肾脏中尤其明显。肾脏是这两种寄生虫的靶点器官,其中一种寄生虫的感染可以通过在同一靶器官上的竞争降低另一种寄生虫的感染几率,但这种相互作用还需要更多的实验探索。

人工养殖的海参斑微孢子虫和粘原虫共感染的个案研究结果表明,海参斑的病死率为 65%。肾、脾、肝出现严重坏死改变,受累组织中有细胞内粘原虫,骨骼肌中有微孢子虫孢子,无炎症反应^[11]。

2 异源病原体的联合

2.1 寄生和细菌联合感染

寄生虫感染增加继发性细菌性疾病的风险,并可作为传播细菌病原体的媒介。许多试验研究证实了这种协同作用^[12],研究表明,被寄生虫和细菌联合感染的鱼的病死率较高。这种协同效应被解释为寄生虫造成的压力降低了鱼类对其他继发性细菌感染的抵抗力,以及寄生虫造成的破坏作用,为细菌入侵提供了途径。在某些情况下,寄生虫为细菌提供庇护,并将其传递给其他宿主。应更加重视鱼类寄生虫感染的预防,以降低继发性细菌感染引起的鱼类病死率。

在罗非鱼的密集养殖中,联合感染更有可能发生,造成巨大损失。然而,大多数研究都集中在单一的寄生虫或单一的细菌病原体上。Xu 等^[13]研究了罗非鱼同时感染的试验模型。罗非鱼感染三代虫,然后用一种致病菌海豚链球菌攻毒。结果显示,在攻毒的前 2 周内,联合感染组的病死率(42.2%)高于仅感染海豚链球菌的组(6.7%),而仅感染三代虫的鱼没有死亡记录。Xu 等认为这种体外寄生虫通过机械损伤为侵入性细菌提供了入口。此外,作为细菌的机械载体,还从三代虫中分离出海豚链球菌活菌。

小瓜虫是一种有纤毛的体外寄生原生动物,对世界各地的淡水鱼类造成了相当大的损失。它会破坏鱼鳃和皮肤的上皮,增加细菌入侵和鱼类病死率。

Shoemaker 等^[14]研究了小瓜虫对斑点叉尾鲷肠道败血症病(病原菌:鲩爱德华氏菌)生存、血液学和细菌负荷的影响。与单感染组相比,在小瓜虫暴露 1 天后,共感染组各脏器细菌载量高,病死率高(71.1%)。

Xu 等^[15]用同样的病原体,在斑点叉尾鲷中设计了另一个试验。第一次感染时使用小瓜虫,5 d 后加入鲩爱德华氏菌作为并发感染。结果与先前的试验相似,死亡率增加,内脏的细菌载量增加。另一种情况是,在不同的剂量和不同的采样时间,使用小瓜虫和荧光的鲩爱德华氏菌感染斑点叉尾鲷,100% 的包裹都携带荧光细菌。鲩爱德华氏菌存活并能在包裹内复制,导致感染鱼的累积病死率更高。小瓜虫表面含有 d-半乳糖、d-甘露糖、d-葡萄糖和 n-乙酰半乳糖等糖分子,而鲩爱德华氏菌具有结合并附着于这些糖的能力^[15]。因此,鲩爱德华氏菌与小瓜虫在合并感染中的结合是由鲩爱德华氏菌凝集素样受体与小瓜虫表面 d-半乳糖或 d-甘露糖相互作用的结果。这种结合不影响小瓜虫的复制、运动和附着能力。

在斑点叉尾鲷中,与旋毛虫共寄生后,对海豚链球菌的敏感性显著增加,病死率达到 100%。外界寄生虫与细菌之间的协同作用被解释为旋毛虫对鱼皮肤的破坏作用,增强了浸泡暴露后海豚链球菌的入侵^[16]。

Xu 等^[17]进行了另一项原生动物与细菌共感染的试验,以确定小瓜虫与嗜水气单胞菌共感染是否会增加鱼的病死率。结果证实,寄生小瓜虫的斑点叉尾鲷暴露于嗜水气单胞菌后,其病死率显著提高(80%),内脏细菌载量明显增加。小瓜虫感染通过显著增加虹鳟鱼的皮质醇水平,从而导致鱼的免疫抑制产生协同效应。

2.2 寄生虫和病毒联合感染

报道称,在采自黑海地区的牙鳕中同时检出了 VHSV 和车轮虫。野外研究表明,感染 VHSV 的牙鳕比非感染 VHSV 的鱼具有更高的车轮虫载量,说明病毒载量与体外寄生虫的存在有关。这些体外寄生虫的载量,可能与产卵或水温等其他因素一起,对牙鳕 VHSV 的发生有显著影响^[18]。

Nylund 等^[19]探讨了鱼虱和海虱作为鲑传染性贫血病毒(ISAV)传播媒介的作用,前者通过皮肤损伤和免疫抑制,导致流行病暴发和病死率升高。Valdes-Donoso 等^[20]提到,2007 年至 2009 年在智利

南部爆发的 ISAV 疫情是由 ISAV 和海虱共同感染大西洋鲑鱼引起的。

2.3 细菌和病毒联合感染

在鲷鱼幼鱼中爆发的病害中,对病原体的分离和鉴定显示感染鱼中存在细菌和病毒。分离出的细菌分别为弧菌和美人鱼发光杆菌,病毒是神经坏死病毒(VNNV)和出血性败血症病毒(VHSV)。这些结果表明,在鱼中可能发生不同细菌和病毒的共感染,导致这些病害暴发^[21]。

在大西洋鲑鱼中对细菌和病毒联合感染做了深入的研究。鱼首先被传染性胰腺坏死病毒(IPNV)感染,然后继发感染 ISAV 或杀鲑弧菌。观察到 IPNV-杀鲑弧菌组的累积死亡率较高。与仅感染杀鲑弧菌 8 天的鱼相比,共感染组的死亡开始较早,证实了两种病原体之间的协同作用^[17]。相反,感染 IPNV 的大西洋鲑鱼继发感染 ISAV 导致病死率低于只感染 ISAV 组,说明 IPNV 对 ISAV 有拮抗效应,这种作用可能是通过表达干扰素(IFN)或 IFN 类似物产生的。

Lee 等^[22]研究了对石斑鱼进行 IPNV 和鲨鱼弧菌联合攻毒。首先采用 IPNV 攻毒,2 周后使用鲨鱼弧菌继发感染。试验结果表明暴露于 IPNV 后无死亡记录,而二次暴露于鲨鱼弧菌可导致 100% 的死亡。

2.4 真菌和细菌共感染

据报道,真菌感染在养殖和海洋鱼类中都有发生。Cutuli 等^[23]报道了首例真菌细菌共同感染的案例。在罗非鱼的皮肤上,检测出了尖孢镰刀菌与嗜水气单胞菌。组织病理学结果显示肝实质严重充血,肝组织有坏死灶,并有大量中性粒细胞浸润。真菌引起组织损伤,促进嗜水气单胞菌入侵,增加了鱼的病死率^[23]。

在埃及,从当地鱼场采集的合齿鲷鱼突然发生眼云、腹水、极端体黏液和尾部腐烂等死亡后,发现其中含有不同种类的真菌,如索氏镰刀菌、棘孢菌和念珠菌。此外,还从 60% 的检查病例中再次分离出嗜水气单胞菌,从 80% 的感染病例中再次分离出鱼寄生虫鞭毛虫。这表明,合齿鲷鱼致死的病原体是多种病原体的复合体,如真菌、细菌和寄生虫^[24]。

3 展望

该综述的主要目的是总结关于鱼类宿主与一种以上感染源同时感染或二次感染时不同病原体之间相互作用的文献。这些相互作用可以是协同作

用,也可以是拮抗作用,可能导致一种或两种病原体的增强或抑制,从而增加或减少疾病的严重程度。这种相互作用可对疾病的发展和严重程度产生重要影响,应在治疗和接种疫苗时加以考虑。未来还需要进行更多的研究,以提高对鱼病原体之间的相互作用以及与宿主的免疫反应相互作用的认识,这将有利于加深对疾病过程和发病机理的理解,对疾病管理是非常有用的。

参考文献:

- [1] Telfer S, Birtles R, Bennett M, *et al.* Parasite interactions in natural populations: insights from longitudinal data[J]. *Parasitology*, 2008, 135(7): 767–781.
- [2] Bradley J E, Jackson J A. Measuring immune system variation to help understand host–pathogen community dynamics[J]. *Parasitology*, 2008, 135(7): 807–823.
- [3] Chen Y, Huang B, Huang S, *et al.* Coinfection with *Clonorchis sinensis* modulates murine host response against *Trichinella spiralis* infection[J]. *Parasitology Research*, 2013, 112(9): 3167–3179.
- [4] Nusbaum K E, Morrison E E. *Edwardsiella ictaluri* bacteraemia elicits shedding of *Aeromonas hydrophila* complex in latently infected channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque) [J]. *Journal of Fish Diseases*, 2010, 25(6): 343–350.
- [5] Marius, Karlsen, Are, *et al.* Characterization of “Candidatus Clavochlamydia salmonicola”: an intracellular bacterium infecting salmonid fish[J]. *Environmental Microbiology*, 2008.
- [6] Chinchar V G, Logue O, Antao A, *et al.* Channel catfish reovirus (CRV) inhibits replication of channel catfish herpesvirus (CCV) by two distinct mechanisms: viral interference and induction of an anti-viral factor[J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1998, 33(2): 77–85.
- [7] Brudeseth B E, Castric J, Evensen O. Studies on pathogenesis following single and double infection with viral hemorrhagic septicemia virus and infectious hematopoietic necrosis virus in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Veterinary Pathology*, 2002, 39(2): 180–189.
- [8] Hedrick R P, LaPatra S E, Yun S *et al.* Induction of protection from infectious hematopoietic necrosis virus in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* by pre-exposure to the avirulent cutthroat trout virus (CTV) [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1994(20): 111–118.
- [9] Klemme I, Katja–Riikka Louhi, Karvonen A. Host infection history modifies co-infection success of multiple parasite genotypes[J]. *Journal of Animal Ecology*, 2016, 85(2): 591–597.
- [10] Peeler E J, Feist S W, Longshaw M, *et al.* An assessment of the variation in the prevalence of renal myxosporidiosis and hepatitis in wild brown trout, *Salmo trutta* L. within and between rivers in South–West England[J]. *Journal of Fish Diseases*, 2010, 31(10): 719–728.
- [11] Alarcón, M Thoen, E. Poppe, T. T. *et al.* Co-infection of *Nucleospora cyclopteri* (Microsporidia) and *Kudoa islandica* (Myxozoa) in farmed lumpfish, *Cyclopterus lumpus* L in Norway: a case report [J]. *Journal of Fish Diseases*, 2015, 39(4): 411–418.
- [12] Marancik, David. Examination of resistance and tolerance in rainbow trout bred for differential susceptibility to bacterial cold water disease[J]. *Aquaculture Research*, 2013(5): 293054.
- [13] Xu D H, Shoemaker C A, Klesius P H. Evaluation of the link between gyrodactylosis and streptococcosis of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) [J]. *Journal of Fish Diseases*, 2007, 30(4): 233–238.
- [14] Shoemaker C A, Maurício L M, Xu D H, *et al.* Effect of *Ichthyophthirius multifiliis* parasitism on the survival, hematology and bacterial load in channel catfish previously exposed to *Edwardsiella ictaluri* [J]. *Parasitology Research*, 2012, 111(5): 2223–2228.
- [15] Xu D H, Shoemaker C A, Maurício L M, *et al.* Enhanced susceptibility of channel catfish to the bacterium *Edwardsiella ictaluri* after parasitism by *Ichthyophthirius multifiliis* [J]. *Veterinary Microbiology*, 2012, 158(1–2): 216–219.
- [16] Evans, Joyce. Influence of natural *Trichodina* sp. parasitism on experimental *Streptococcus iniae* or *Streptococcus agalactiae* infection and survival of young channel catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque) [J]. *Aquaculture Research*, 2010, 38(6): 664–667.
- [17] Xu D H, Pridgeon J W, Klesius PH, *et al.* Parasitism by protozoan *Ichthyophthirius multifiliis* enhanced invasion of *Aeromonas hydrophila* in tissues of channel catfish. [J]. *Veterinary Parasitology*, 2012, 184(2–4): 101–107.
- [18] Ogut H, Cavus N. A comparison of ectoparasite prevalence and occurrence of viral haemorrhagic septicemia virus (VHSV) in whiting *Merlangius merlangus euxinus* [J]. *Revista De Biologia Marina Y Oceanografia*, 2014, 49(1): 91–96.
- [19] Nylund A, Wallace C, Hovland T. The possible role of *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer) in the transmission of infectious salmon anaemia [J]. *Pathogens of wild and farmed fish: sea lice*, 1993: 367–373.
- [20] Valdes–Donoso P, Mardones F O, Jarpa M, *et al.* Co-infection patterns of infectious *Salmon anaemia* and sea lice in farmed *Atlantic salmon*, *Salmo salar* L. in southern Chile (2007–2009) [J]. *Journal of Fish Diseases*, 2013, 36(3): 353–360.
- [21] Johansen, LillHeidi. Infectious pancreatic necrosis virus infection in Atlantic salmon *Salmo salar* post-smolts affects the

outcome of secondary infections with infectious salmon anaemia virus or *Vibrio salmonicida*[J]. Diseases of Aquatic Organisms, 2001, 47(2): 109.

[22] Lee K K, Yang T I, Liu P C, *et al.* Dual challenges of infectious pancreatic necrosis virus and *Vibrio carchariae* in the grouper, *Epinephelus* sp.[J]. Virus Research, 1999, 63(1): 131.

[23] M. Teresa Cutuli, Alicia G, Antonio R, *et al.* Skin and sub-

cutaneous mycoses in tilapia (*Oreochromis niloticus*) caused by *Fusarium oxysporum* in coinfection with *Aeromonas hydrophila* [J]. Medical Mycology Case Reports, 2015(7): 7–11.

[24] Buckley J. Parental care and the development of the parent offspring conflict in discus fish (*Symphysodon* spp.)[D]. University of Plymouth, 2012.

(收稿日期:2020-07-08)

Co-infection of fishes

Liu Hongyan, Xue Hui, Zhang Shiyong, Zhao yanhua, Chen Xiaohui, Bian Wenji
(Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Nanjing 210017, China)

Abstract: Co-infection of fish is common in nature. Co-infection refers to being infected by two or more pathogenic microorganisms at the same time, and the diseases caused by the pathogenic microorganisms that infect the host are identical or similar. In many studies, co-infection is often ignored that delay diagnosis and treatment. This review will focus on co-infections caused by multiple pathogens. In the process of co-infection, the immune response induced by pathogens interacts with each other, playing a synergistic or inhibitory effect on the infection of other pathogens. The environment in which fish live is complex and varied, as are the pathogens of infection, including some parasites, bacteria, fungi and viruses. Therefore, the key to treatment is to accurately find the cause of the disease and the pathogenesis of complex infection.

Key words: fish; co-infection; bacterial-infection; virus-infection; parasitization

