

國立臺灣大學獸醫專業學院臨床醫學研究所



碩士論文

Graduate Institute of Veterinary Science

School of Veterinary Medicine

National Taiwan University

Master Thesis

臺灣野生蛇類皮膚病灶真菌調查

Detection of fungi on dermal lesions of wild snakes in

Taiwan

賴薇因

Wei-Yin Lai

指導教授：季昭華 教授

Advisor: Chau-Hwa Chi, Professor

中華民國 111 年 4 月

April 2022

誌謝



感謝科技部的經費補助此調查計畫，讓我們可以順利進行野外爬蟲類的表皮黴菌研究，希望此研究成果可以幫助到野外蛇類族群，也期望這些資訊能跟世界接軌。感謝共同參與此計畫的孫培倫醫師、李文達醫師以及楊淳凱學長，分別協助真菌的鑑種、病理診斷以及從野外尋找病灶蛇，能跟這麼厲害的老師、學長們一起合作完成一個個病灶的完整診斷是我的莫大榮幸。謝謝淳凱學長帶領的志工團隊成員：小孫、龔薇、怡甄、昀沂和其他很多夥伴，以及在北榮從事毒蛇研究很熱心的江廖峻學長，在野外持續調查，然後風塵僕僕的將每一條蛇從外縣市送來台北然後又送牠們回家，還有協助保定毒蛇，讓採樣可以順利進行。感謝桃園市野鳥學會救傷站的獸醫師珈瑩學姊、彥行以及所有的救傷志工，協助運送、持續照顧有病灶的救傷蛇以及送牠們平安回家，希望這些檢驗的結果也可以幫助到救傷的動物們。

最重要的是感謝在實驗室遇到的每一個人：謝謝季老師引領我進入研究室這個溫暖的大家庭，也在我求學生涯中給了許多寶貴意見。謝謝品奐學長不管是臨床上、各式各樣的報告都不斷地提點與指導我，也一直幫我加油打氣。謝謝阿官學長、泡麵學姊、主霖學長、白熊、文伶、立心、香蓓、柏翔、品妤、皓綦、軒睿、奕蓁、芳綸、宇傑、羿慈，大部分的人都一起參與了這個計畫，每個人身上都有很多我值得學習的地方，而且不斷的罩我與關心我，你們對我的照顧還有鼓勵實在太多了，多到讓我很慚愧無法好好回報你們。還有感謝瑋貞、明熹和大鼻，協助我進行最後蛇的麻醉採樣。最後想謝謝我的心理師、家人們以及尤其感謝我男朋友，自始至終陪伴我，一點一滴的建立我的自信心，還有陪我度過最脆弱的時刻。能夠走到最後一哩路都是靠所有人提供各式各樣的協助，衷心感謝！

摘要



Chrysosporium Anamorph of *Nannizziopsis vriesii* (CANV) 為 *Nannizziopsis*、*Ophidiomyces* 與 *Paranannizziopsis* 屬之真菌組成的集合體，造成多種壞死、潰瘍等皮膚病灶，近年來不斷影響圈養與野生爬蟲的健康。本研究針對台灣野生蛇類設置樣區調查，於夜間在樣區內捕捉有明顯皮膚肉眼病灶之個體，並蒐集有皮膚病灶的救傷個體，進行真菌培養與病理診斷，若發現病灶組織培養出目標真菌，且同時在組織下發現同特徵的菌絲與孢子，才定義為感染。本研究共發現 1 隻紅斑蛇、與 1 隻王錦蛇感染 *Ophidiomyces ophiodiicola*，1 隻中華眼鏡蛇病灶雖有培養出 *O. ophiodiicola* 但病理下無真菌蹤跡，以及 1 隻王錦蛇和 1 隻青蛇的表皮分離出新種的 *Nannizziopsis*，但病理無感染證據。樣區調查之陽性率 0.11%，遠低於過去國外針對野外族群之調查結果。本研究證實臺灣確實存在 *Ophidiomyces* 與 *Nannizziopsis* 屬之真菌，未來可再針對樣區內無皮膚病灶之個體以棉棒抹取樣本，檢驗是否有無症狀，但 PCR 陽性之個體存在，並更進一步針對棲地分布侷限（如水蛇、游蛇）及不易偵測（日行性蛇種）進行捕捉調查，以期未來更全面掌握這些真菌在臺灣野生蛇類的狀況。

關鍵字：蛇類真菌病、蛇類、臺灣、真菌培養、病理學

Abstract



Chrysosporium Anamorph of *Nannizziopsis vriesii* (CANV) is a collection of fungi of the genera *Nannizziopsis*, *Ophidiomyces* and *Paranannizziopsis*. CANV has resulted in a variety of skin lesions such as necrosis and ulcers in reptiles and continuously affected both captive and wild reptiles' health. We investigate wild snakes with skin lesions area from night field survey and rescued individuals in Taiwan. Surgical biopsy on the lesions was performed to collected for fungal culture and histopathological diagnosis. Infection is defined as either *Ophidiomyces*, *Nannizziopsis* or *Paranannizziopsis* species is cultured and found under tissue pathologically at the same time. One red-banded snake and 1 king snake were infected with *Ophidiomyces ophiodiicola*. One Chinese cobra detected with *O. ophiodiicola* but without fungal elements pathologically. Novel *Nannizziopsis* sp. were isolated from the epidermis of one king snake and one green snake, but there was no pathological evidence of infection. Positive rate of the sample area survey was 0.11%, which was far lower than the previous field survey results from abroad. This study confirms that fungi of the genus *Ophidiomyces* and *Nannizziopsis* do exist in Taiwan. In the future, collecting skin swabs for PCR from individuals without skin lesions in the sample area would be suggested to test whether there are asymptomatic individuals that are tested positive of the target pathogens. Snakes with limited territory (e.g. water snakes) and diurnal snake species are suggested to be further surveyed, in order to more comprehensively understand the status of these fungi in wild snakes in Taiwan.

Key words: Snake fungal disease, Snakes, Taiwan, Mycology, Pathology

目錄



誌謝	i
摘要	ii
Abstract	iii
目錄	iv
圖目錄	v
表目錄	v
第一章、前言	1
第二章、文獻探討	3
第一節、 <i>Chrysosporium anamorph of Nannizziopsis vriesii</i> 簡介	3
第二節、 <i>Ophidiomyces ophiodiicola</i> 感染	5
第三節、 <i>Nannizziopsis</i> 屬感染	13
第四節、 <i>Paranannizziopsis</i> 屬感染	15
第五節、其他真菌	16
第三章、研究材料與方法	17
第一節、實驗採集對象、時間、樣區	17
第二節、病灶採樣與診斷方法	18
第四章、結果	20
第一節、臺灣原生蛇類捕捉調查結果	20
第二節、病灶採集培養、鑑種與組織病理結果	24
第三節、 <i>Ophidiomyces ophiodiicola</i> 與 <i>Nannizziopsis</i> 屬感染案例	35
第五章、討論與總結	46
第一節、樣區內盛行率	46
第二節、 <i>Ophidiomyces</i> 與 <i>Nannizziopsis</i> 陽性個體	49
第三節、其他種類真菌感染	50
第四節、總結	51
參考文獻	52



圖目錄

圖 4.1 陽性個體、非固定樣區個體發現地點以及固定樣區分布.....	23
圖 4.2 案例一紅斑蛇 (S108HL006) 感染 <i>O. ophiodiicola</i> 之病灶.....	36
圖 4.3 案例二中華眼鏡蛇 (S108HL017) 之皮膚病灶.....	38
圖 4.4 案例三王錦蛇 (S109NC007) 感染 <i>O. ophiodiicola</i> 之皮膚病灶.....	41
圖 4.5 案例四王錦蛇 (S109NC002) 培養出新種 <i>Nannizziopsis</i> 之皮膚病灶..	43
圖 4.6 案例五青蛇 (S110TP001) 培養出新種 <i>Nannizziopsis</i> 之皮膚病灶.....	45

表目錄

表 2.1 <i>O. ophiodiicola</i> 的蛇類宿主物種.....	5
表 2.2 Allender 團隊紀錄野外調查結果.....	10
表 2.3 感染爬蟲類的 <i>Nannizziopsis</i> 屬物種與感染宿主.....	13
表 4.1 調查樣區病灶蛇數比例.....	21
表 4.2 病灶培養鑑種結果與病理下觀察菌絲存在情形.....	25

第一章、前言



Chrysosporium Anamorph of *Nannizziopsis vriesii* (以下簡稱 CANV) 在 1997 年首度從變色龍皮膚上被分離出(Paré et al., 1997)，而後陸續於各種蛇類、蜥蜴、甚至鱷魚的身上被發現。CANV 在感染會造成皮膚過度角化、水泡生成、肉芽腫、壞死痂皮生成，痂皮脫落後的病灶處往往出現潰瘍及二次性病原感染，症狀嚴重者可能致死。CANV 在北美洲、歐洲、澳洲、亞洲等地都有案例報導，包含圈養個體以及自野外捕捉個體。後人針對 CANV 培養後定序，發現過去認為的 CANV 病原其實包含多個黴菌物種，並分屬在三個屬：*Ophidiomyces*、*Nannizziopsis* 及 *Paranannizziopsis* (Sigler et al., 2013)。

Ophidiomyces ophiodiicola 則為蛇類真菌病 (snake fungal disease) 的致病原，該種黴菌目前只發現感染蛇類，含瘰癧蛇科 (Acrochordidae)、蚺科 (Boidae)、黃領蛇科 (Colubridae)、眼鏡蛇科 (Elapidae)、蟒蛇科 (Pythonidae)、蝮蛇科 (Viperidae) 等科的物種(Lorch et al., 2016)。蛇類真菌病最初在美國東部發現，除了美國本土，波多黎各(Allender et al., 2020)及英國、捷克(Franklinos et al., 2017)、瑞士等歐洲國家也有發現 *O. ophiodiicola* 的蹤跡。*Nannizziopsis* 屬有多種黴菌，如 *N. guarroi*、*N. barbatae*、*N. chlamydospora*、*N. arthrosporioides* 等，會感染多種蜥蜴與鱷魚的皮膚(Sigler et al., 2013)，除了表皮的臨床症狀，有部分報導也發現該屬的黴菌造成上呼吸道、肺部(Tournade et al., 2021)以及肝臟(Johnson et al., 2011)的感染。部分黴菌物種更出現多例感染患有慢性病、愛滋病與使用免疫抑制劑的人類病患的案例。*Paranannizziopsis* 屬的黴菌目前發現感染圈養與野生的喙頭蜥 (*Sphenodon punctatus*) 與部分蛇類會感染，案例主要分布於澳洲(Sigler et al., 2013)與紐西蘭(Humphrey et al., 2016)。

近年本研究室為探討上述的真菌是否也存在於台灣，分別針對教學醫院門診的寵物蜥蜴、蛇類，以及野外的台灣原生蛇類與逸出的外來種蜥蜴，採樣皮膚病

灶做黴菌培養與組織病理鑑定。本研究將針對台灣野生蛇類做皮膚採檢調查，初步調查在野外是否有 *Ophidiomyces*、*Nannizziopsis* 及 *Paranannizziopsis* 屬之黴菌，同時也探討是否有其他種真菌會造成台灣野生蛇類皮膚病變。



第二章、文獻探討



第一節、*Chrysosporium anamorph of Nannizziopsis vriesii* 簡介

一、CANV 的命名與分類

Nannizziopsis vriesii，最初被命名為 *Rollandina vriesii*，最早是從一隻歐洲圈養的鞭尾蜥蜴 (*Ameiva* sp.) 身上分離出來 (Apinis, 1970)。1997 年，Paré 等人在圈養的變色龍身上分離出型態相似的菌落，但該黴菌的生長週期中皆無法觀察到有性生殖期的型態 (teleomorph)，難以用傳統以有性生殖型態區分物種別，而其無性型 (anamorph) 特徵近似於 *Chrysosporium* 屬物種，因此被命名為 *Chrysosporium anamorph of Nannizziopsis vriesii* (Paré et al., 1997)。往後的十多年，陸續於各種爬蟲類如蛇類、蜥蜴與鱷魚身上發現造成類似皮膚病灶與病原，一直被歸類為 CANV 的類群。CANV 經部分實驗證明為會主動感染爬蟲類的真菌病原 (Paré et al., 2003; Paré et al., 2006)，且若動物身上有傷口時會增加被感染的機率 (Paré et al., 2006)。

直到 2009 年開始，部分案例在分離培養出 CANV 黴菌後進一步進行分子鑑定，發現病原序列與 *N. vriesii* 並不相符，同時發現感染源實為 *Chrysosporium ophioidicola* (Rajeev et al., 2009)、*Chrysosporium guarroi* (Abarca et al., 2010) 等新種黴菌。Stchigel 等人在 2013 年經由分析核糖體基因的轉錄間隔區 (internal transcribed spacer, ITS)、actin 基因序列、 β -tubulin 基因序列進行定序，以及從形態學、生理特性分類，將多種原本歸類為 *Chrysosporium* sp. 的物種更新歸類至 *Nannizziospis*，如 *N. chlamydospora*, *N. draconii*, *N. arthrosporioides*, *N. pluriseptata*，另也發現新種 *Chrysosporium longisporum* (Stchigel et al., 2013)。同年，Sigler 等人蒐集來自世界各地的 CANV 黴菌培養後分析核糖體基因的 ITS 及 small subunit (SSU) 序列，將所有的序列分成三大支序群 (clade)，第一大支序群為 *Nannizziopsis* 屬，除有過去已經分離出的 *N. vriesii*，以及在 Stchigel 等人研



究中分離出的三種物種，其他尚有自變色龍、守宮、鬣蜥類等蜥蜴、鱷魚，以及人類身上分離出的菌株，共歸納出 12 個物種；第二大支序群從瘰鱗蛇科、喙頭蜥和海岸鬆獅蜥 (*Pogona barbata*) 身上分離，是為新屬並被命名為 *Paranannizziopsis* 屬；第三大支序群則包含前人以 *Chrysosporium ophiodiicola* 及 *Chrysosporium queenslandicum* 命名以及從各半水生與陸生蛇類身上分離的菌株，歸類為新屬 *Ophidiomyces*，而此屬僅存一種物種 *Ophidiomyces ophiodiicola* (Sigler et al., 2013)。

二、型態與特性

菌落表面顏色為白色，邊緣為粉狀到絲絨狀，反面呈現黃白色到橘黃色。天生對 cycloheximide 具有抗性(Paré & Sigler, 2016)。這些真菌具有可溶解角質的特性，這些物種菌絲呈透明，不具色素，寬度約為 2–5 μm ，具有分節，有時會出現分支以及曲狀的菌絲，會從菌絲本身或旁支生成棍棒狀或梨狀、單細胞的粉狀孢子 (aleurioconidia)，亦會從菌絲分裂生殖出節生孢子 (arthroconidia)，每個物種的 conidia 的大小長度可能會有些許差異(Paré & Sigler, 2016)。大部分的 CANV 物種會在 35 - 37° C 左右停止生長，除了部分 *Nannizziopsis* 屬之真菌如 *N. obscura*、*N. hominis*、*N. infrequens*、*N. guaroii* 在 35° C 以上並不會抑制生長，而除了 *N. guaroii* 前面三者皆有感染人類的紀錄，故這些真菌較容易生長在外溫動物身上(Sigler et al., 2013)。



第二節、 *Ophidiomyces ophiodiicola* 感染

一、感染宿主

以下分別整理曾報導具有感受性的蛇種案例。

表 2.1 *O. ophiodiicola* 的蛇類宿主物種

宿主物種	出處
Acrochordidae 瘰鱗蛇科	
<i>Acrochordus</i> sp.	(Sigler et al., 2013)
Boidae 蚺科	
Boinae 蚺亞科	
<i>Chilabothrus inornatus</i>	(Allender et al., 2020)
<i>Eunectes murinus</i>	(Sigler et al., 2013)
Colubridae 黃領蛇科	
Natricinae 游蛇亞科	
<i>Natrix natrix</i>	(Franklinos et al., 2017; Meier et al., 2018)
<i>Natrix tessellata</i>	(Franklinos et al., 2017)
<i>Nerodia clarkia</i>	(Sigler et al., 2013)
<i>Nerodia erythrogaster</i>	(Allender et al., 2020; Haynes et al., 2020; McKenzie et al., 2019; Snyder et al., 2020)
<i>Nerodia fasciata</i>	(Allender et al., 2020; Glorioso et al., 2016; Haynes et al., 2020)
<i>Nerodia rhombifer</i>	(Allender et al., 2020)
<i>Nerodia sipedon</i>	(Allender et al., 2020; Fuchs et al., 2020; Guthrie et al., 2016; Licitra et al., 2019; Lorch et al., 2016; McKenzie et al., 2019; Snyder et al., 2020)
<i>Nerodia taxispilota</i>	(Guthrie et al., 2016; Haynes et al., 2020; Shender et al., 2020)
<i>Regina septemvittata</i>	(Lorch et al., 2016; McKenzie et al., 2019; Price et al., 2015; Stengle et al., 2019)
<i>Storeria dekayii</i>	(Fuchs et al., 2020; Licitra et al., 2019; Snyder et al., 2020)
<i>Storeria occipitomaculata</i>	(McKenzie et al., 2019)
<i>Thamnophis proximus</i>	(Lorch et al., 2016)
<i>Thamnophis radix</i>	(Dolinski et al., 2014)
<i>Thamnophis sauritus</i>	(Allender et al., 2020; Fuchs et al., 2020; Haynes et al., 2020)
<i>Thamnophis sirtalis</i>	(Guthrie et al., 2016; Licitra et al., 2019; Long et al., 2019; Lorch et al., 2016; McKenzie et al., 2019; Snyder et al., 2020)
<i>Virginia valeriae</i>	(Haynes et al., 2020; Lorch et al., 2016; McKenzie et al., 2019; Snyder et al., 2020)

(續表 2.1)

宿主物種	出處
Colubrinae 黃領蛇亞科	
<i>Boiga irregularis</i>	(Nichols et al., 1999; Sigler et al., 2013)
<i>Cemophora coccinea</i>	(Haynes et al., 2020)
<i>Opheodrys aestivus</i>	(Snyder et al., 2020)
<i>Coluber constrictor</i>	(Allender et al., 2020; Fuchs et al., 2020; Guthrie et al., 2016; Haynes et al., 2020; Licitra et al., 2019; Long et al., 2019; Lorch et al., 2016; McKenzie et al., 2019; Snyder et al., 2020)
<i>Drymarchon couperi</i>	(Allender et al., 2020; Chandler et al., 2019; Haynes et al., 2020)
<i>Lampropeltis calligaster</i>	(Snyder et al., 2020)
<i>Lampropeltis nigra</i>	(Lorch et al., 2016; Snyder et al., 2020)
<i>Lampropeltis getula</i>	(Fuchs et al., 2020; Guthrie et al., 2016; Haynes et al., 2020; McKenzie et al., 2019; Stengle et al., 2019)
<i>Lampropeltis triangulum</i>	(Allender et al., 2020; McKenzie et al., 2019; Snyder et al., 2020; Stengle et al., 2019)
<i>Opheodrys aestivus</i>	(Allender et al., 2020; McKenzie et al., 2019; Snyder et al., 2020)
<i>Pantherophis alleghaniensis</i>	(Allender et al., 2020; Fuchs et al., 2020; Haynes et al., 2020; Licitra et al., 2019; Lorch et al., 2016; Rajeev et al., 2009)
<i>Pantherophis emoryi</i>	(Allender et al., 2020)
<i>Pantherophis guttatus</i>	(Haynes et al., 2020; Sigler et al., 2013; Snyder et al., 2020)
<i>Pantherophis obsoletus</i>	(Allender et al., 2020; Rajeev et al., 2009)
<i>Pantherophis ramspotti</i>	(Allender et al., 2020)
<i>Pantherophis spiloides</i>	(Allender et al., 2020; Long et al., 2019; McKenzie et al., 2019)
<i>Pantherophis vupinus</i>	(Lorch et al., 2016)
<i>Pantherophis</i> sp.	(Lorch et al., 2016)
<i>Pituophis catenifer</i>	(Allender et al., 2020; Lorch et al., 2016)
<i>Pituophis melanoleucus</i>	(Haynes et al., 2020)
<i>Pituophis ruthveni</i>	(Lorch et al., 2016)
Dipsadinae 食蝮蛇亞科	
<i>Carphophis amoenus</i>	(Allender et al., 2020; Fuchs et al., 2020; McKenzie et al., 2019; Snyder et al., 2020)
<i>Diadophis punctatus</i>	(Allender et al., 2020; Fuchs et al., 2020; Haynes et al., 2020; McKenzie et al., 2019; Snyder et al., 2020)
<i>Farancia abacura</i>	(Haynes et al., 2020; Lorch et al., 2016)



(續表 2.1)

宿主物種	出處
<i>Farancia erythrogramma</i>	(Guthrie et al., 2016; Haynes et al., 2020)
<i>Heterodon platirhinos</i>	(Haynes et al., 2020)
Elapidae 眼鏡蛇科	
<i>Hoplocephalus bungaroides</i>	(Sigler et al., 2013)
Pythonidae 蟒蛇科	
<i>Python regius</i>	(Sigler et al., 2013)
<i>Python sebae</i>	(Paré et al., 2003; Sigler et al., 2013)
Viperidae 蝮蛇科	
Crotalinae 蝮蛇亞科	
<i>Agkistrodon contortrix</i>	(Allender et al., 2020; Haynes et al., 2020; Lorch et al., 2016; Snyder et al., 2020)
<i>Agkistrodon piscivorus</i>	(Allender et al., 2020; Haynes et al., 2020; Lorch et al., 2016; Snyder et al., 2020)
<i>Crotalus admanteus</i>	(Allender et al., 2020; Haynes et al., 2020; Sigler et al., 2013)
<i>Crotalus horridus</i>	(Haynes et al., 2020; Lorch et al., 2016; McBride et al., 2015; McKenzie et al., 2019)
<i>Sistrurus catenatus</i>	(Allender et al., 2011; Allender et al., 2020; Tetzlaff et al., 2015)
<i>Sistrurus millarius</i>	(Haynes et al., 2020; Lorch et al., 2016; McCoy et al., 2017; Snyder et al., 2020; Stengle et al., 2019)

由過去的多項案例報導及系統性調查可發現 *O. ophiodiicola* 的宿主物種相當多元，也有研究在小範圍樣區同時發現不同物種密集感染，顯示 *O. ophiodiicola* 在該地區環境中具有一定傳播力(Guthrie et al., 2016)。在某些大規模調查中也發現部分物種的陽性率特別高，在 McKenzie 等人針對肯達基州內樣區捕獲的物種分成水生蛇類（物種有 *Nerodia sipedon* 與 *Regina septemvittata* 兩物種共 188 隻）與陸生蛇類（包含 *Agkistrodon contortrix* 等 13 個物種共 83 隻）兩組，發現水生蛇類的陽性率較陸生蛇類高(McKenzie et al., 2019)，Allender 等人於美國與波多黎各軍事基地的調查則發現陽性的物種多集中感染在 *Nerodia*、*Pantherophis* 和 *Thamnophis* 屬，而 *Liodytes*、*Virginiae* 與 *Storeria* 三屬的物種陰性比率較高，但是沒有任一物種的疾病盛行率顯著高於其他物種(Allender et al., 2020)。



二、分布地區與盛行率

目前野生蛇類感染的病例報告主要來自於美國東部，包含喬治亞州(Last et al., 2016; Rajeev et al., 2009)、伊利諾州(Allender et al., 2011; Dolinski et al., 2014)、麻薩諸塞州(McBride et al., 2015)、密西根州(Tetzlaff et al., 2015)、肯塔基州(Price et al., 2015; Stengle et al., 2019)、佛羅里達州(Shender et al., 2020)都有過個別案例報導。

近年美國各州開始針對野生蛇類族群進行大規模調查，從最北方康乃狄克州，南至佛羅里達州，皆有在野外調查到 *O. ophiodiicola* 陽性的個體，調查多集中在美國東部進行，中西部的州較少有相關資訊。然而，各團隊所使用的找尋蛇類的方式、樣區劃設、真菌樣本採集方法差異極大，或是並沒有在文獻中詳加敘述，難以互相比較以及觀察出整體趨勢。

Licitra 等人在 2015 與 2017 年夏天時在康乃狄克州內樣區進行直接目擊調查，所有捕捉到的蛇會在表皮以無菌棉棒抹樣，針對部分具有皮膚病灶的蛇會進行組織病理檢查看是否有真菌感染。兩年共採集 38 隻，其中 15 隻因為棉棒抹樣做 PCR 呈陽性，或是病理下見到真菌感染，判定為陽性感染個體(Licitra et al., 2019)。Long 等人在俄亥俄州南部調查 30 隻野生蛇，其中 12 隻（占 40%）觀察到有臨床症狀，6 隻經由無菌棉棒抹樣後做 qPCR 結果為陽性（占 24%），3 隻則是採皮膚組織做 qPCR 呈現陽性（占 12%），只有一隻不論是抹棒還是組織樣本的 qPCR 結果皆呈陽性(Long et al., 2019)。Guthrie 等人在東部維吉尼亞州的五個樣區隨機採樣野生無毒蛇，共捕捉 30 隻蛇，其中 12 隻蛇有發現身上有病灶，實採其中 9 隻蛇身上的病灶做病理與 PCR 鑑定（1 隻只做病理，其他 8 隻除組織病理皆有以 PCR 鑑定），共 5 隻 PCR 檢測陽性，陽性率為 16.7% (Guthrie et al., 2016)。Fuchs 等人選擇維吉尼亞州的兩處蛇類自然棲息地隨機捕捉蛇類，共捕捉 61 隻蛇（涵蓋 9 種物種）並以無菌棉棒抹樣後進行 PCR，其中 34 隻 PCR 陽性，比例為 55.7% (Fuchs et al., 2020)。Jennifer McKenzie 等人在肯達基州的 4 個樣區



進行野生蛇類 *O. ophiodiicola* 的感染調查，總共抓到 271 隻蛇，167 隻以無菌棉棒採樣呈現陽性，比例為 61.6%，其中同時也出現相關臨床症狀的個體有 117 隻，占全部個體比例 43.1% (McKenzie et al., 2019)。Grisnik 等人也在田納西州以多種方式包含架設陷阱、開車於道路調查、步行目視調查，在 32 個原野地調查，共抓了 160 隻進行抹棒檢驗，共 48 隻陽性（30%）(Grisnik et al., 2018)。Snyder 等人也針對田納西州內採集 120 隻蛇做棉棒樣本採樣，有 11 隻為陽性，陽性率為 9.2% (Snyder et al., 2020)。Glorioso 等人為了要執行移除佛羅里達州外來種緬甸蟒(*Python bivittatus*)的計畫，順便在他們身上進行棉棒抹樣做 qPCR 看有沒有 *O. ophiodiicola*，然後順便採採周圍的原生蛇類也看看他們有沒有 *O. ophiodiicola*。共採 45 隻緬甸蟒僅有 1 隻幼蛇 qPCR 陽性且無症狀，其餘皆為陰性，陽性比例為 2.2%。原生蛇總共抓了 26 隻 11 種，只有 3 隻 qPCR 陽性且皆無症狀，陽性比例為 11.5% (Glorioso et al., 2020)。

Allender 領導的團隊近期出了三篇針對特定區域進行大規模調查，採樣方法使用無菌棉棒在捕捉到的蛇身上塗抹樣本並直接做 PCR，過程並沒有採集病理樣本確認組織內部感染狀況，並將採樣的蛇以 PCR 結果與是否出現相關臨床症狀分為四類：(1) 陰性 (negative)：PCR 陰性且無臨床症狀；(2) 可能感染 (possible)：PCR 陰性但有相關臨床症狀；(3) 病原存在 (present)：PCR 陽性但無臨床症狀；(4) 明顯感染 (apparent)：PCR 陽性且有相關臨床症狀。三篇研究的蛇數目統計如表 2.2 所示。

表 2.2、Allender 團隊紀錄野外調查結果，括號內數字為所占總數比例（單位為%）*有重複捕捉，數字為隻次

物種	採集地點	採集蛇 總數	陰性	可能 感染	病原 存在	明顯 感染	出處
東部靛藍蛇 (<i>Drymarchon couperi</i>)	喬治亞州特定 樣區	107*	18* (16.8)	42* (39.3)	0 (0)	47* (43.9)	(Chandler et al., 2019)
除東部靛藍蛇 外所有隨機採 集到的物種	喬治亞州特定 樣區	679	472 (69.5)	20 (2.9)	117 (17.2)	70 (10.3)	(Haynes et al., 2020)
所有隨機採集 到的物種	美國 31 個州與 波多黎各共 56 個軍事基地	657	462 (70.3)	82 (12.5)	64 (9.7)	49 (7.5)	(Allender et al., 2020)

除了美國，其他各國也開始紛紛調查自己的國家是否有 *O. ophiodiicola* 的存在。Franklinos 等人蒐集 2010 年至 2016 年歐洲野生蛇類的皮蛇共 303 個與大體共 33 個進行調查，大部分的樣本來自於英國，另有少數樣本來自捷克，總共在 26 個皮蛇與大體樣本發現 *O. ophiodiicola* 陽性，歐洲的感染菌株經由分子生物鑑定，發現菌株的支序群與北美洲的菌株並不相同(Franklinos et al., 2017)。2018 年在瑞士發現了第一個野生水游蛇 (*Natrix natrix*) 感染的案例(Meier et al., 2018)。在日本也有 12 隻圈養的黃領蛇科蛇種集體在六個月內感染的案例(Takami et al., 2021)。

三、臨床症狀與致病機轉

感染 *O. ophiodiicola* 造成蛇類真菌病 (Snake fungal disease, 以下簡稱 SFD) 的蛇類出現的臨床症狀包含出現局部或多發局部的皮膚病灶，黴菌會自皮膚最外層的角質層感染，蛇感到不適時會使用粗糙介質頻繁摩擦皮膚，造成皮膚出現傷口，讓黴菌更容易入侵皮膚造成感染惡化。為了抵禦黴菌感染，病灶處會出現炎症細胞浸潤與組織液生成，數天後病灶處會出現黃棕色的痂皮，最後可能

會脫落變成潰瘍狀的傷口。在嚴重的案例中，黴菌會不斷的向深處入侵到骨骼肌，常常會形成肉芽腫病變，在外觀看起來就會有結節樣的病灶(Lorch et al., 2015)。

Baker 等人將感染 SFD 的病灶分成五大類：(1) 鱗片錯位或增厚：鱗片看起來異常突起、易位，或是排列與旁邊其他鱗片不齊卻仍與周邊鱗片緊密連接。通常鱗片沒有變色以及按壓後並不會脫落。(2) 壞死鱗片：與(1)相似，但是鱗片通常伴隨顏色改變，而病灶區域，按壓較容易脫落。(3) 結痂：壞死鱗片集結成硬、增厚的痂皮，按壓往往會整塊掉落。(4) 肉芽腫：皮下或皮內的腫大，常常伴隨腫塊上皮膚壞死。(5) 潰瘍：鱗片完全脫落並且暴露出上皮甚至更深層的組織(Baker et al., 2020)。

根據 Lorch 等人的感染實驗研究，發現蛇會發展出一些抵抗機制以企圖抵抗病原，其中一策略為增加蛻皮頻率，蛇在蛻皮後新生成的皮膚不會看到病變，但蛻下帶有病灶的鱗片中仍可看到病灶特徵。當 SFD 只有侵犯到表皮層時藉由蛻皮的過程中則可以擺脫 SFD 的感染；倘若黴菌已經侵犯到下層的肌肉，SFD 就會復發(Lorch et al., 2015)。他們也發現在人造環境中，感染的蛇傾向於跑出遮蔽處之外。這些異常行為懷疑是源自於渴望提升體溫所做出的反應(Lorch et al., 2015)。

SFD 的嚴重感染可能會導致死亡。SFD 有機會感染至深層臟器，目前有報導過黴菌浸潤肺臟形成瀰漫性的肉芽腫，最後該案例因呼吸窘迫而死亡(Dolinski et al., 2014)。除了 SFD 造成的死亡之外，也有可能因為黴菌的慢性感染致使免疫力下降，而引發其他病原感染致命。發生在頭部的 SFD 病灶可能會讓預後變差，病灶可能會遮擋住眼睛視線，長在下顎的病灶也會造成下顎變形，導致捕食與攝食的困難，感染的蛇可能因此日漸消瘦最終死亡(Allender et al., 2011; Lorch et al., 2015; Rajeev et al., 2009; Tetzlaff et al., 2015)。

四、感染預後

早期部分報導指出感染 *O. ophiodiicola* 之死亡率極高，2009 年一隻從野外捕捉圈養的黑鼠蛇 (*Elaphe obsoleta*) 頭部感染該黴菌而出現多發腫塊，於手術切除腫塊後兩個月死亡(Rajeev et al., 2009)。2011 年報導四隻野生救傷北美侏儒響尾蛇 (*Sistrurus catenatus*) 頭部皆有嚴重潰瘍病灶，最終死亡(Allender et al., 2011)；2015 年首次在肯達基州發現的病例在發現不久後也很快死亡(Price et al., 2015)。然而也有部分報導發現感染 *O. ophiodiicola* 的個體症狀並不嚴重，並沒有造成蛇在採樣當下的 body condition 下降(Guthrie et al., 2016)。後續也有許多野外調查發現無症狀感染者的存在(Haynes et al., 2020; Hileman et al., 2017; Lind et al., 2018; McKenzie et al., 2019)。



第三節、*Nannizziopsis* 屬感染

一、*Nannizziopsis* 屬真菌種類

Nannizziopsis 屬黴菌目前已知會感染多種爬蟲類，以下整理過去曾發表具有感受性的爬蟲物種：

表 2.3 感染爬蟲類的 *Nannizziopsis* 屬物種與感染宿主

物種	受感染物種	出處
<i>N. arthrosporioides</i>	古巴鬣蜥 (<i>Cyclura nubila</i>)	(Chen et al., 2020)
	綠水龍 (<i>Physignathus</i> sp.)	(Stchigel et al., 2013)
<i>N. barbata</i>	(<i>Diporiphora australis</i>)	(Peterson et al., 2020)
	斜紋藍舌蜥 (<i>Tiliqua scincoides</i>)	(Peterson et al., 2020)
	細紋藍舌蜥 (<i>Tiliqua multifasciata</i>)	(Peterson et al., 2020)
	松果蜥 (<i>Tiliqua rugosa</i>)	(Peterson et al., 2020)
	海岸鬆獅蜥 (<i>Pogona barbata</i>)	(Sigler et al., 2013)
<i>N. chlamydospora</i>	內陸鬆獅蜥 (<i>Pogona vitticeps</i>)	(Rhim & Han, 2019; Snyder et al., 2020; Stchigel et al., 2013)
<i>N. crocodili</i>	灣鱷 (<i>Crocodylus porosus</i>)	(Sigler et al., 2013)
<i>N. dermatitidis</i>	日行守宮屬 (<i>Phelsuma</i> sp.)	(Sigler et al., 2013)
	帕爾森氏變色龍 (<i>Calumna parsonii</i>)	(Sigler et al., 2013)
	地毯變色龍 (<i>Furcifer lateralis</i>)	(Sigler et al., 2013)
	豹紋守宮 (<i>Eublepharis macularius</i>)	(Sigler et al., 2013)
<i>N. draconii</i>	內陸鬆獅蜥 (<i>Pogona vitticeps</i>)	(Stchigel et al., 2013)
<i>N. guarroi</i>	綠鬣蜥 (<i>Iguana iguana</i>)	(Abarca et al., 2010; Başaran Kahraman et al., 2015; Schneider et al., 2018; Sigler et al., 2013; Stchigel et al., 2013; Tournade et al., 2021)
	內陸鬆獅蜥 (<i>Pogona vitticeps</i>)	(Le Donne et al., 2016; Minard et al., 2016; Schmidt-Ukaj et al., 2014; Stchigel et al., 2013)
	翠綠蜥 (<i>Laceerta viridis</i>)	(Schneider et al., 2018)
	未知物種的蛇類	(Stchigel et al., 2013)
	彩虹飛蜥 (<i>Agama agama</i>)	(Stchigel et al., 2013)
	石龍子科蜥蜴 (Scincidae)	(Stchigel et al., 2013)
	鞭尾蜥蜴 (<i>Ameiva</i> sp.)	(Paré et al., 1997)
<i>N. pluriseptata</i>	石龍子科蜥蜴 (Scincidae)	(Stchigel et al., 2013)
<i>N. vriesii</i>	鞭尾蜥蜴 (<i>Ameiva</i> sp.)	(Paré et al., 1997)

目前僅有在 Stchigel 等人的研究自蛇類身上培養出 *Nannizziopsis* 屬真菌，然而該研究並未詳細註明宿主的物種以及相關症狀與病理(Stchigel et al., 2013)。

除了感染爬蟲類，該屬有三物種 (*N. obscura*、*N. hominis*、*N. infrequens*) 會感染免疫功能低落的病患，主要感染肺部與皮膚(Sigler et al., 2013)，亦有推測經由肺部吸入黴菌並進入血液循環，而造成腦部、皮膚、肌肉、四肢骨骼產生病灶的案例(Garcia-Hermoso et al., 2020)。

二、臨床症狀

目前發現 *Nannizziopsis* 屬黴菌感染的爬蟲會出現皮膚顏色改變(Le Donne et al., 2016; Minard et al., 2016)皮膚增厚(Başaran Kahraman et al., 2015)、結痂(Peterson et al., 2020; Schmidt-Ukaj et al., 2014)、蛻皮不全(Başaran Kahraman et al., 2015)等，當黴菌持續深入感染，痂皮會脫落而病灶處出現潰瘍、紅腫甚至流血的情形(Le Donne et al., 2016; Peterson et al., 2020; Rhim & Han, 2019)，有部分報導的發現腳趾的病灶造成末端壞死脫落，除皮膚相關的感染外，也有報導指出爬蟲因吸入黴菌而在鼻腔(Tournade et al., 2021)、肺部(Christman et al., 2020; Tournade et al., 2021)產生肉芽腫團塊。嚴重的病灶也往往間接導致感染的爬蟲出現身體消瘦、虛弱等狀況。

第四節、*Paranannizziopsis* 屬感染

目前發現總共有五個物種：*P. australasiensis*、*P. californiensis*、*P. crustacea*、*P. longispora*、*P. tardicrescens*。*P. australasiensis* 目前在美國以及澳洲、紐西蘭有發現感染圈養個體的病例，物種包含瘰鱗蛇（*Acrochordus* sp.）(Sigler et al., 2013)、喙頭蜥（*Sphenodon punctatus*）(Masters et al., 2016; Sigler et al., 2013; Webster, 2018)、海岸鬆獅蜥（*Pogona barbata*）(Masters et al., 2016; Sigler et al., 2013)、鱗樹蜥（*Atheris squamigera*）(Diaz-Delgado et al., 2020)，感染症狀包含黃色痂皮而後產生嚴重皮膚潰瘍(Masters et al., 2016)，有發現嚴重感染導致大量死亡的案例(Diaz-Delgado et al., 2020)。Webster 曾針對紐西蘭野外的喙頭蜥以及同棲地內的守宮、石龍子進行 *P. australasiensis* 的調查，總共調查檢驗 435 隻喙頭蜥中，有 112 隻有肉眼可見的皮膚病變，其中僅 17 隻為 *P. australasiensis* 陽性，且症狀多屬輕微，而高達 73.8%（共 48 隻）陽性喙頭蜥個體外觀無症狀；其餘守宮與石龍子共 167 隻有檢驗出 30 隻陽性，總陽性率為 18.8%，而這些陽性個體並無發現有病灶者(Webster, 2018)。*P. californiensis* 與 *P. crustacea* 主要在北美洲圈養觸角水蛇（*Erpeton tentaculatum*）的皮膚病灶上被分離出來，而 *P. longispora* 則是與 *P. crustacea* 基因上極為相似的物種(Sigler et al., 2013)。*P. tardicrescens* 則是較後期發現的新物種，目前報導感染瓦氏蝮蛇（*Tropidolaemus wagleri*）、觸角水蛇和犀牛鼠蛇（*Rhynchophis boulengeri*）並造成體表膿瘍與潰瘍等症狀(Rainwater et al., 2019)。



第五節、其他真菌

過去在蛇類皮膚病灶中培養出的真菌包含 *Aspergillus*、*Alterania*、*Fusarium*、*Mucor*、*Penicillium*、*Trichophyton*、*Verticillium* 等屬及 *Geotrichum candidum*、*Sporothrix schenckii* 等物種(Cheatwood et al., 2003; McKenzie et al., 1976; Miller et al., 2004)。雖然對照組織病理確實發現上皮組織有菌絲與孢子感染，然而無法辨認哪些為真正的致病菌。另外有部分對蟲類有致病性的真菌也有感染爬蟲類造成皮膚病灶的紀錄，例如 *Paecilomyces lilacinus*（於 2011 年後更名為 *Purpureocillium lilacinum* (Luangsa-Ard et al., 2011)），為土壤中常見的腐生菌，有在豬鼻龜等水生龜類會造成皮膚白點狀病灶的案例(Lafortune et al., 2005)。

為辨認爬蟲皮膚身上的常在真菌物種 (mycobiota)，Paré 等人取多種健康無皮膚病灶的蜥蜴與蛇的皮蛻進行培養，發現 *Aspergillus* 與 *Penicillius* 屬真菌最常見於健康無異狀之皮蛻樣本（分別占 78%與 69%的出現機率），另外 *P. lilacinum*、毛黴亞門 (Mucoromycotina) 的物種（如 *Mucor*、*Rhizopus* 屬以及 *Syncephalastrum racemosum*）、*Scopulariopsis* 屬也在一定比例的樣本中培養出(Paré et al., 2003)，上述結果指出這些真菌可能為爬蟲表皮的常在菌群，在診斷上述真菌是否為感染源時，應搭配組織病理結果佐證。

第三章、研究材料與方法



第一節、實驗採集對象、時間、樣區

本實驗採集野生、皮膚上具有明顯肉眼病灶之蛇類，不限蛇種。蛇的來源分為固定樣區（permanent site）採集以及非固定樣區（non-permanent site）個體。樣區選定六處蛇類出沒熱點（表 3.1），採樣時間自 2019 年 4 月至 2021 年 10 月為止，挑選於蛇類最活躍的季節 4 月至 11 月進行，採樣方法為目視預測法（visual encounter method），於選定樣區劃設調查路線，在日落後兩小時內開始進行調查。非固定個體則為自救傷單位與蛇類調查志工於選定樣區以外發現有病灶的個體。

表 3.1、固定樣區位置與座標

地點名稱	所屬縣市鄉鎮	經緯度座標
三富休閒農場	宜蘭縣冬山鄉	24.61759557° N, 121.7546964° E
池南國家森林遊樂區	花蓮縣壽豐鄉	23.91864356° N, 121.5015357° E
重光產業道路	花蓮縣秀林鄉	23.90145436° N, 121.499269° E
大坑步道	臺中市北屯區	24.18520029° N, 120.7858501° E
大雪山國家森林遊樂區	臺中市和平區	24.28378662° N, 121.0251328° E
霧峰山區步道	臺中市霧峰區	24.06181821° N, 120.738402° E



第二節、病灶採樣與診斷方法

一、採樣方法

發現皮膚病灶的個體，會將動物麻醉執行採樣。麻醉方式會將動物捉放進密閉透明盒以 5% isoflurane 進行誘導麻醉，待動物的翻正反應（righting response）消失，尾部與下頷肌肉張力減弱，再進行插管，插管後以 1–2% isoflurane 維持麻醉，麻醉全程會監測呼吸、心跳、泄殖腔反射評估麻醉深度，並開始進行以下採樣作業：首先測量病灶大小、質地並且拍照。病灶處會先以 chlorhexidine gluconate 進行初步刷洗以去除皮膚表面菌叢以防污染，刷洗後病灶處會以 lidocaine 2 mg/kg 局部浸潤注射，接著以 15 號刀片刮取部分表皮於玻片在 100x 及 400x 的顯微鏡視野下進行鏡檢，初步檢驗皮膚是否有黴菌的孳生，再以無菌的狀態下採病灶處全厚度皮膚兩塊，一塊作黴菌培養，另一塊做病理切片，黴菌培養的樣本會置於微量無菌離心管，避免樣本遭受其他細菌的汙染，組織病理樣本則會以 10% 福馬林浸泡於微量無菌離心管。採樣後以細菌採樣棒抹取皮下組織作細菌培養，病灶採樣結束後會以 4-0 PDS 縫線縫合傷口。活體野生個體在採樣完後將原地野放，死亡個體會在採樣三天內於 4° C 冷藏保存、三天後置於 -20° C 溫度下冷凍 30 天儲備以利後續補採樣。

二、組織病理診斷

10% 中性福馬林保存之皮膚組織將會以常規方式製作成切片，除了以 Hematoxylin and Eosin (H&E) 染色進行常規的組織病理學檢查外，也會以 Gomori Methenamine Silver (GMS) 染色、Periodic acid-Schiff (PAS) 進行染色。H&E 染色用以觀察皮膚組織之整體病變和菌絲原始之顏色（評估是否有產生色素）。GMS 以及 PAS 染色則用以觀察菌絲的結構與型態。



三、致病真菌分離培養

使用接種環分別接種至 Inhibitory mould agar with chloramphenicol and gentamicin (ICG)及 Mycosel agar (BD®)上，置於 25°C培養箱培養，每週觀察 2 次。絲狀真菌長出後，以顯微鏡進行初步形態學鑑定，挑出具有 *Nannizziopsis*、*Paranannizziopsis* 或 *Ophidiomyces* 特徵的菌株，觀察的特徵包含：正面白色、緻密、粉狀或絲絨狀而反面呈現黃白色到橘黃色的菌落，透明、分節、偶有 acute-angle 分枝與彎曲、寬度約為 2 - 5 μ m 的菌絲，及棍棒狀或梨狀的 arthroconidia、aleuriocconidia、intercalary conidia 等特徵性的孢子。符合上述特徵的菌株會次培養於 potato dextrose agar (PDA)進行純化。菌株純化後，保存於-80°C凍箱，以進行後續的研究。

四、分子鑑定

菌株由-80°C凍箱取出活化後置於 PDA 上，於 25°C培養一週。取部份菌落菌絲置入滅菌過的 1.5mL 白蓋塑膠小管中，加入 0.13 克的 1mm 小鋼珠，最後再加入 800 μ L 的 Lysis buffer。旋緊蓋子後，將管子放入組織破碎儀中磨碎，每次震盪 30 秒(頻率 3450 oscillations/min)，置入 4°C冰箱中冷卻 1 分鐘，重複前述動作三次。將管子靜置於室溫下 10 分鐘，再以 13000 rpm 離心 30 秒。取出上清液轉移至含有試劑及磁珠的卡匣中，再把卡匣與攪拌套放入 DNA 自動萃取機(TANBead®)內，選取適當程式後開始進行 DNA 萃取。使用 ITS1，ITS4 引子進行 PCR，放大核糖體 ITS1-5.8S-ITS4 區段。反應結束後，取出反應小管，每管取出 5 μ L 與 dye 混合後進行電泳跑膠確認 DNA 長度及濃度。純化後送定序以獲得完整 DNA 序列。序列上傳公用資料庫如 GenBank 等進行比對。若為 ITS 不易區分的菌種，加做 beta-tubulin, actin 等片段進行 multi-locus 鑑定。

第四章、結果



第一節、臺灣原生蛇類捕捉調查結果

目前於固定樣區內總共採集到的物種數共 25 種，調查蛇總數量為 871 隻，其中有皮膚病灶的隻數為 38 隻，採集的物種與病灶蛇數比例如表 4.1 所示。

非固定樣區個體共採集 27 隻活體，分別為 17 隻王錦蛇 (*Elaphe carinata*)、3 隻南蛇 (*Ptyas mucosus*)、4 隻中華眼鏡蛇 (*Naja atra*)、1 隻紅斑蛇 (*Lycodon rufozonatum*)、1 隻菊池氏龜殼花 (*Trimeresurus gracilis*)，另有 4 隻大體分別為 1 隻百步蛇 (*Deinagkistrodon acutus*)、1 隻赤背松柏根 (*Oligodon formosanus*)、1 隻青蛇 (*Cyclophiops major*) 及 1 隻紅斑蛇。非固定個體發現地點分布如圖 4.1 所示。

總共 68 隻個體中，病灶部位分布比例分別為體側 76.82% (n=53)、腹側 30.88% (n=21)、頭部 24.64% (n=17)、尾部 21.73% (n=15)。病灶種類與出現比例分別為鱗片錯位或增厚 49.28% (n=34)、壞死鱗片 46.37% (n=32)、鱗片變色 30.43% (n=21)、結痂 18.84% (n=13)、肉芽腫 15.94% (n=11)、潰瘍 14.49% (n=10)、蛻皮不全 8.70% (n=6)。

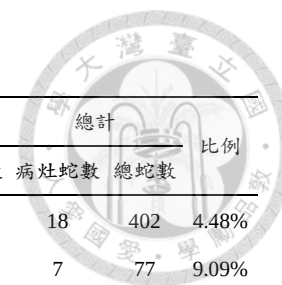
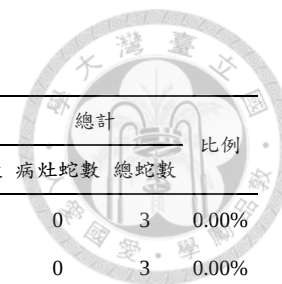


表 4.1、固定樣區病灶蛇數比例

物種中文	學名	三富休閒農場		池南國家森林遊樂區		重光產業道路		大坑步道		大雪山國家森林遊樂區		霧峰山區步道		總計		比例
		病灶蛇數	總蛇數	病灶蛇數	總蛇數	病灶蛇數	總蛇數	病灶蛇數	總蛇數	病灶蛇數	總蛇數	病灶蛇數	總蛇數	病灶蛇數	總蛇數	
赤尾青竹絲	<i>Trimeresurus stejnegeri</i>	6	46	0	0	12	87	0	250	0	19	0	0	18	402	4.48%
青蛇	<i>Cyclophiops major</i>	3	9	0	4	3	34	1	30	0	0	0	0	7	77	9.09%
紅斑蛇	<i>Lycodon rufozonatum</i>	2	5	1	7	1	11	1	51	0	1	0	4	5	79	6.33%
大頭蛇	<i>Boiga kraepelini</i>	0	3	0	0	4	17	0	53	0	0	0	0	4	73	5.48%
駒井氏鈍頭蛇	<i>Pareas komaii</i>	0	2	0	0	1	24	0	0	0	1	0	0	1	27	3.70%
百步蛇	<i>Deinagkistrodon acutus</i>	0	0	0	0	1	6	0	0	0	0	0	0	1	6	16.67%
中國眼鏡蛇	<i>Naja atra</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	2	1	4	25.00%
黑眉錦蛇	<i>Orthiophis taeniura</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2	1	3	33.33%
雨傘節	<i>Bungarus multicinctus</i>	0	0	0	0	0	8	0	67	0	2	0	7	0	84	0.00%
白梅花	<i>Lycodon ruhstrati</i>	0	1	0	1	0	1	0	12	0	7	0	2	0	24	0.00%
龜殼花	<i>Protobothrops mucrosquamatus</i>	0	4	0	1	0	12	0	0	0	2	0	3	0	22	0.00%
勾盲蛇	<i>Ramphotyphlops braminus</i>	0	1	0	0	0	0	0	11	0	1	0	0	0	13	0.00%
赤背松柏根	<i>Oligodon formosanus</i>	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	4	0	11	0.00%
泰雅鈍頭蛇	<i>Pareas atayal</i>	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	10	0.00%
茶斑蛇	<i>Psammodynastes pulverulentus</i>	0	1	0	1	0	1	0	4	0	1	0	0	0	8	0.00%
環紋赤蛇	<i>Calliophis macclellandi</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	0	3	0	0	0	5	0.00%
花浪蛇	<i>Amphiesma stolatum</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	2	0	4	0.00%
臺灣鈍頭蛇	<i>Pareas formosensis</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3	0	0	0	4	0.00%
草花蛇	<i>Xenochrophis piscator</i>	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	1	0	4	0.00%



(接續表 4.1)

物種中文	學名	三富休閒農場		池南國家森林遊樂區		重光產業道路		大坑步道		大雪山國家森林遊樂區		霧峰山區步道		總計		比例
		病灶蛇數	總蛇數	病灶蛇數	總蛇數	病灶蛇數	總蛇數	病灶蛇數	總蛇數	病灶蛇數	總蛇數	病灶蛇數	總蛇數	病灶蛇數	總蛇數	
王錦蛇	<i>Elaphe carinata</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	3	0.00%
紅竹蛇	<i>Preocryptophis porphyracea</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	3	0.00%
過山刀	<i>Zaocys dhumnades</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0.00%
梭德氏遊蛇	<i>Amphiesma sauteri</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.00%
瑪家山龜殼花	<i>Ovophis monticola</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0.00%
斯文豪氏頸槽蛇	<i>Rhabdophis swinhonis</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.00%
總計		11	63	1	14	22	208	2	498	0	43	2	30	35	871	5.49%

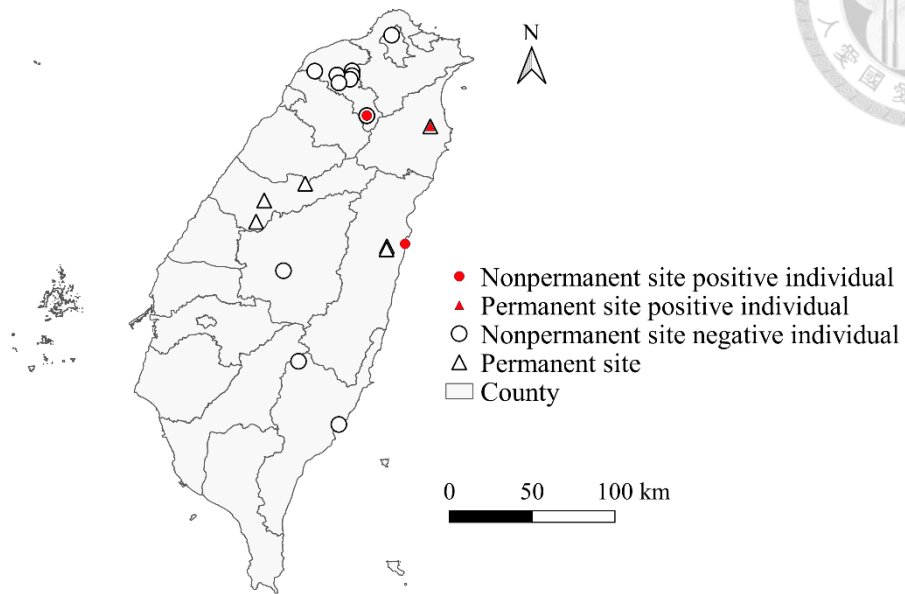


圖 4.1、陽性個體、非固定樣區個體發現地點以及固定樣區分布

第二節、病灶採集培養、鑑種與組織病理結果

所有採集的病灶蛇中共採集 83 個病灶進行組織病理診斷與黴菌培養，其中有 39 個病灶有培養出黴菌。其中培養鑑定出首要目標 *Ophidiomyces*、*Nannizziopsis* 及 *Paranannizziopsis* 屬真菌的有 5 個病灶，各來自 5 隻個體 (S108HL006、S108HL017、S109NC002、S109NC007、S110TP001)，其中有兩隻病灶在組織切片下發現菌絲生長。

培養出其他曾經報導過感染有爬蟲類皮膚的真菌屬包含：*Fusarium*、*Aspergillus*、*Purpureocillium*、*Trichosporon*、*Mucor* 等屬。另有發現部分樣本培養出主要對植物與昆蟲有病原性的真菌如 *Alternaria*、*Arthrinium*、*Cordyceps*、*Diaporthe*、*Pestalotiopsis*、*Epicoccum* 等屬的物種。其中培養出下列真菌：*Purpureocillium lilacinum*、*Fusarium solarni* species complex (FSSC)、*Arthrinium* spp.、*Epicoccum sorghinum*、*Cordyceps fumosorosea* 與 *Volutella consors* 的病灶，有些同時在病理切片下發現有菌絲存在於上皮組織。



表 4.2 病灶培養有長出真菌的鑑種結果與病理下觀察菌絲存在情形。

*ITS 無法鑑別，需再以其他序列鑑種確認。***有疑似的感染孢子存在，以 H&E 染色可見，但在 PAS 與 JMS 染色下不復見。

個體編號	物種	病灶編號	培養編號	鑑種結果（括號為鑑種方式或序列）	組織病理菌絲、孢子
S108HL006	紅斑蛇	1	CGMHD2605	1. <i>Purpureocillium lilacinum</i> (ITS) 2. <i>Ophidiomyces ophiodiicola</i> (ITS)	-
S108HL017	中華眼鏡蛇	1	CGMHD2664	1. <i>Ophidiomyces ophiodiicola</i> (ITS) 2. <i>Ophidiomyces ophiodiicola</i> (ITS) 3. <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> SC (ITS + TEF1 α)	-
S109NC007	王錦蛇	4	CGMHD3597 CGMHD3610	1. <i>Ophidiomyces ophiodiicola</i> (ITS)	+
S109NC002	王錦蛇	2	CGMHD3598 CGMHD3599	1. <i>Nannizziopsis</i> sp. nov. (ITS, TUB)	-
S110TP001	青蛇	2	CGMHD4731	1. <i>Nannizziopsis</i> sp. nov. (ITS, TUB)	-
S108HL017	中華眼鏡蛇	3	CGMHD2666	1. <i>Fusarium solani</i> SC (ITS + TEF1 α)	+
S110TY001	過山刀	6	CGMHD4603	1. <i>Purpureocillium lilacinum</i> (Morphology)	+
S108HL002	鈍頭蛇	1	CGMHD2574	1. <i>Fusicolla matuoi</i> (ITS)	-



(接續表 4.2)

個體編號	物種	病灶編號	培養編號	鑑種結果 (括號為鑑種方式或序列)	組織病理菌絲、孢子
S108HL017	中華眼鏡蛇	4	CGMHD2667	1. <i>Purpureocillium lilacinum</i> (Morphology) 2. <i>Trichoderma</i> sp. (Morphology) 3. <i>Metarhizium anisopliae</i> (ITS) 4. <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> SC (ITS) 5. <i>Bionectria rossmaniae</i> (ITS)	-
S108HL020	赤尾青竹絲	1	CGMHD2806	1. <i>Fusarium solani</i> SC (FSSC) (ITS +TEF1 α) 2. <i>Chaetomium</i> sp. (Morphology)	N/D
S108TY001	紅斑蛇	1	CGMHD3288	1. <i>Aspergillus flavus</i> (Morphology) 2. <i>Trichosporon asahii</i> (ITS)	-
S109NC001	王錦蛇	3	CGMHD3601	1. <i>Nannizzia fulva</i> (ITS)	-
S109TY001	紅斑蛇	1	CGMHD3364	1. <i>Fusarium citri</i> (FIESC) (ITS +TEF1 α) 2. <i>Purpureocillium lilacinum</i> (Morphology)	-
S109TY007	王錦蛇	1	CGMHD3631	1. <i>Fusarium fusiforme</i> (FSSC) (ITS + TEF1 α)	-
S110TP001	青蛇	3	CGMHD4787	1. <i>Phialemoniopsis ocularis</i> (ITS)	-
S110TC001	紅斑蛇	1	CGMHD4810	1. <i>Acremonium</i> sp. nov (ITS)	N/D



(接續表 4.2)

個體編號	物種	病灶編號	培養編號	鑑種結果 (括號為鑑種方式或序列)	組織病理菌絲、孢子
S108HL008	赤尾青竹絲	1	CGMHD2607	1. <i>Arthrinium malaysianum</i> (ITS) 2. <i>Pleosporales</i> sp. (ITS) 3. <i>Fusicolla matuoi</i> (ITS) 4. <i>Stilbella aciculosa</i> (ITS)	+
S108HL008	赤尾青竹絲	4	CGMHD2608	1. <i>Arthrinium arundinis</i> (ITS)	+
S109TY002	王錦蛇	1	CGMHD3450	1. <i>Epicoccum sorghinum</i> (ITS)	+
S108HL001	赤尾青竹絲	1	CGMHD2562	1. <i>Pestalotiopsis</i> sp. (ITS) 2. <i>Mucor circinelloides</i> (ITS)	-
S108HL001	赤尾青竹絲	3	CGMHD2563	1. <i>Pestalotiopsis</i> sp. (ITS) 2. <i>Trichoderma ejii</i> (ITS)	-
S108HL023	大頭蛇	1	CGMHD2827	1. <i>Diaporthe arecae</i> (ITS) 2. <i>Diaporthe longicolla</i> (ITS)	-
S108HL024	紅斑蛇	2	CGMHD2828	1. <i>Melanotus hartii</i> (ITS)	-
S108HL028	赤尾青竹絲	1	CGMHD2901	1. <i>Diaporthe longicolla</i> (ITS)	-
S109HL005	赤尾青竹絲	1	CGMHD3745	1. <i>Diaporthe endophytica</i> (ITS)	-



(接續表 4.2)

個體編號	物種	病灶編號	培養編號	鑑種結果 (括號為鑑種方式或序列)	組織病理菌絲、孢子
S109TY003	王錦蛇	1	CGMHD3517	1. <i>Arthrinium phaeospermum</i> (ITS)	-
S109TY003	王錦蛇	4	CGMHD3518	1. <i>Alternaria alternata</i> (ITS) 2. <i>Diaporthe phaseolorum</i> (ITS)	-
S108HL021	赤尾青竹絲	1	CGMHD2826	1. <i>Diaporthe</i> / <i>Phomopsis</i> sp (ITS)*	N/D
S108HL027	青蛇	1	CGMHD2900	1. <i>Colletotrichum aenigma</i> / <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> / <i>Glomerella cingulate</i> (ITS)* 2. <i>Edenia gomezpompae</i> (ITS) 3. <i>Isaria javanica</i> (ITS) 4. <i>Purpureocillium lilacinum</i> (Morphology) 5. <i>Clonostachys rosea</i> (ITS)	N/D
S109NC008	王錦蛇	3	CGMHD3611	1. <i>Cordyceps fumosorosea</i> (ITS) 2. <i>Purpureocillium lilacinum</i> (Morphology)	+
S108HL018	青蛇	1	CGMHD2668	1. <i>Clonostachys rosea</i> (ITS) 2. <i>Stilbella aciculosa</i> (ITS)	-
S109HL006	紅斑蛇	1	CGMHD3746	1. <i>Cordyceps javanica</i> (ITS)	-
S109NC003	王錦蛇	1	CGMHD3593	1. <i>Purpureocillium lilacinum</i> (Morphology)	+



(接續表 4.2)

個體編號	物種	病灶編號	培養編號	鑑種結果 (括號為鑑種方式或序列)	組織病理菌絲、孢子
S110HL001	菊池氏龜殼花	1	CGMHD4730	1. <i>Purpureocillium lilacinum</i> (Morphology)	
S110TY001	過山刀	7	CGMHD4626	1. <i>Volutella consors</i> (ITS) 2. <i>Purpureocillium lilacinum</i> (Morphology)	
S108HL017	中華眼鏡蛇	2	CGMHD2667	1. <i>Chaetomium</i> sp. (Morphology) 2. <i>Chaetomium</i> sp. (Morphology)	-
S108HL020	赤尾青竹絲	3	CGMHD2805	1. <i>Chaetomium</i> sp. (Morphology)	N/D
S108HL016	百步蛇	1	CGMHD2661	(Mould: Not further identified)	-
S108HL018	青蛇	2	CGMHD2669	(Mould: Not further identified)	-
S108HL004	赤尾青竹絲	3	CGMHD2575	No growth	-
S108HL005	紅斑蛇	1	CGMHD2603	No growth	-
S108HL005	紅斑蛇	2	CGMHD2604	No growth	-
S108HL007	赤尾青竹絲	1	CGMHD2606	No growth	-



(接續表 4.2)

個體編號	物種	病灶編號	培養編號	鑑種結果 (括號為鑑種方式或序列)	組織病理菌絲、孢子
S108HL009	赤尾青竹絲	1	CGMHD2609	No growth	-
S108HL010	赤尾青竹絲	1	CGMHD2636	No growth	-
S108HL011	青蛇	1	CGMHD2637	No growth	-
S108HL012	赤尾青竹絲	1	CGMHD2641	No growth	-
S108HL013	赤尾青竹絲	1	CGMHD2642	No growth	-
S108HL014	赤尾青竹絲	1	CGMHD2658	No growth	-
S108HL015	青蛇	1	CGMHD2659	No growth	+/- **
S108HL015	青蛇	2	CGMHD2660	No growth	+/- **
S108HL016	百步蛇	2	CGMHD2662	No growth	+
S108HL019	大頭蛇	1	CGMHD2803	No growth	N/D

(接續表 4.2)

個體編號	物種	病灶編號	培養編號	鑑種結果 (括號為鑑種方式或序列)	組織病理菌絲、孢子
S108HL022	青蛇	3	CGMHD2826	No growth	+/- **
S108HL029	大頭蛇	2	CGMHD2958	No growth	-
S108HL030	青蛇	1	CGMHD2988	No growth	-
S108HL031	赤尾青竹絲	1	CGMHD3167	No growth	-
S108HL031	赤尾青竹絲	4	CGMHD3168	No growth	+/-**
S108TY001	紅斑蛇	2	CGMHD3289	No growth	+
S108TY001	紅斑蛇	4	CGMHD3290	No growth	-
S109HL001	赤尾青竹絲	1	(未外送培養鑑種)	No growth	-
S109HL002	赤尾青竹絲	1	(未外送培養鑑種)	No growth	+/-**





(接續表 4.2)

個體編號	物種	病灶編號	培養編號	鑑種結果 (括號為鑑種方式或序列)	組織病理菌絲、孢子
S109HL003	赤尾青竹絲	1	(未外送培養鑑種)	No growth	-
S109HL004	大頭蛇	1	(未外送培養鑑種)	No growth	-
S109NC004	王錦蛇	1	(未外送培養鑑種)	No growth	-
S109NC005	王錦蛇	3	(未外送培養鑑種)	No growth	+
S109NC006	王錦蛇	1	(未外送培養鑑種)	No growth	+
S109NC009	王錦蛇	1	(未外送培養鑑種)	No growth	+
S109NC011	王錦蛇	6	(未外送培養鑑種)	No growth	-
S109NC012	王錦蛇	6	(未外送培養鑑種)	No growth	+
S109NC013	王錦蛇	2	(未外送培養鑑種)	No growth	+



(接續表 4.2)

個體編號	物種	病灶編號	培養編號	鑑種結果 (括號為鑑種方式或序列)	組織病理菌絲、孢子
S109TY004	王錦蛇	1	(未外送培養鑑種)	No growth	-
S109TY005	中華眼鏡蛇	5	(未外送培養鑑種)	No growth	-
S109TY005	中華眼鏡蛇	6	(未外送培養鑑種)	No growth	-
S109TY006	王錦蛇	2	(未外送培養鑑種)	No growth	-
S108TY008	南蛇	3	(未外送培養鑑種)	No growth	-
S108TY008	南蛇	6	(未外送培養鑑種)	No growth	-
S108TY009	南蛇	3	(未外送培養鑑種)	No growth	-
S109TY010	南蛇	1	(未外送培養鑑種)	No growth	-
S109TY011	中華眼鏡蛇	N/D	(未外送培養鑑種)	No growth	-

(接續表 4.2)

個體編號	物種	病灶編號	培養編號	鑑種結果 (括號為鑑種方式或序列)	組織病理菌絲、孢子
S110TC002	茶斑蛇	1	(未外送培養鑑種)	No growth	N/D
S110TY001	過山刀	4	(未外送培養鑑種)	No growth	-
S110TYN02	眼鏡蛇	1	(未外送培養鑑種)	No growth	-



第三節、*Ophidiomyces ophiodiicola* 與 *Nannizziopsis* 屬感染案例

案例一、紅斑蛇 (S108HL006)



該個體在 2019 年 4 月 16 日捕捉於固定樣區宜蘭三富農場捕捉，當時環境溫度 22.5°C，相對溼度為 81%，過去在 2018 年的時候在例行樣區調查時曾二度捕捉到此個體，但當時體表無異狀，第三次捕捉時發現背部有病灶，背部有多處白色斑駁壞死狀的鱗片，鱗片表面帶有滲出液 (圖 4.2)，故送來實驗室採樣。組織病理下發現全厚度的上皮皆壞死，上皮組織內夾雜 2 - 4 μm 寬的透明具有分節與分支的菌絲，以及大量的 arthroconidia 及橢圓形的 conidia (圖 4.2)。PDA 上以 25°C 培養三周可見直徑 5.4 cm 的白色到淡黃色菌落，菌落表面平坦，邊緣些微成顆粒樣到絲絨樣。菌落反面的顏色為乳白色。在 35°C 的環境溫度下生長會被抑制。有非常多的孢子，也有看到 arthroconidia，也有看到 intercalary conidia (圖 4.2)。該病灶培養出的菌落經序列鑑定診斷出存在有 *Purpureocillium lilacinum* 與 *Ophidiomyces ophiodiicola*。此案例的 *O. ophiodiicola* 菌株與過去國外的菌株比對 ITS、TEF1 α 與 ACT 等基因，親緣關係最近似於過去在 Sigler 等人在 2013 年的研究中蒐集來自英國的圈養蛇菌株。(Sun et al., 2021)

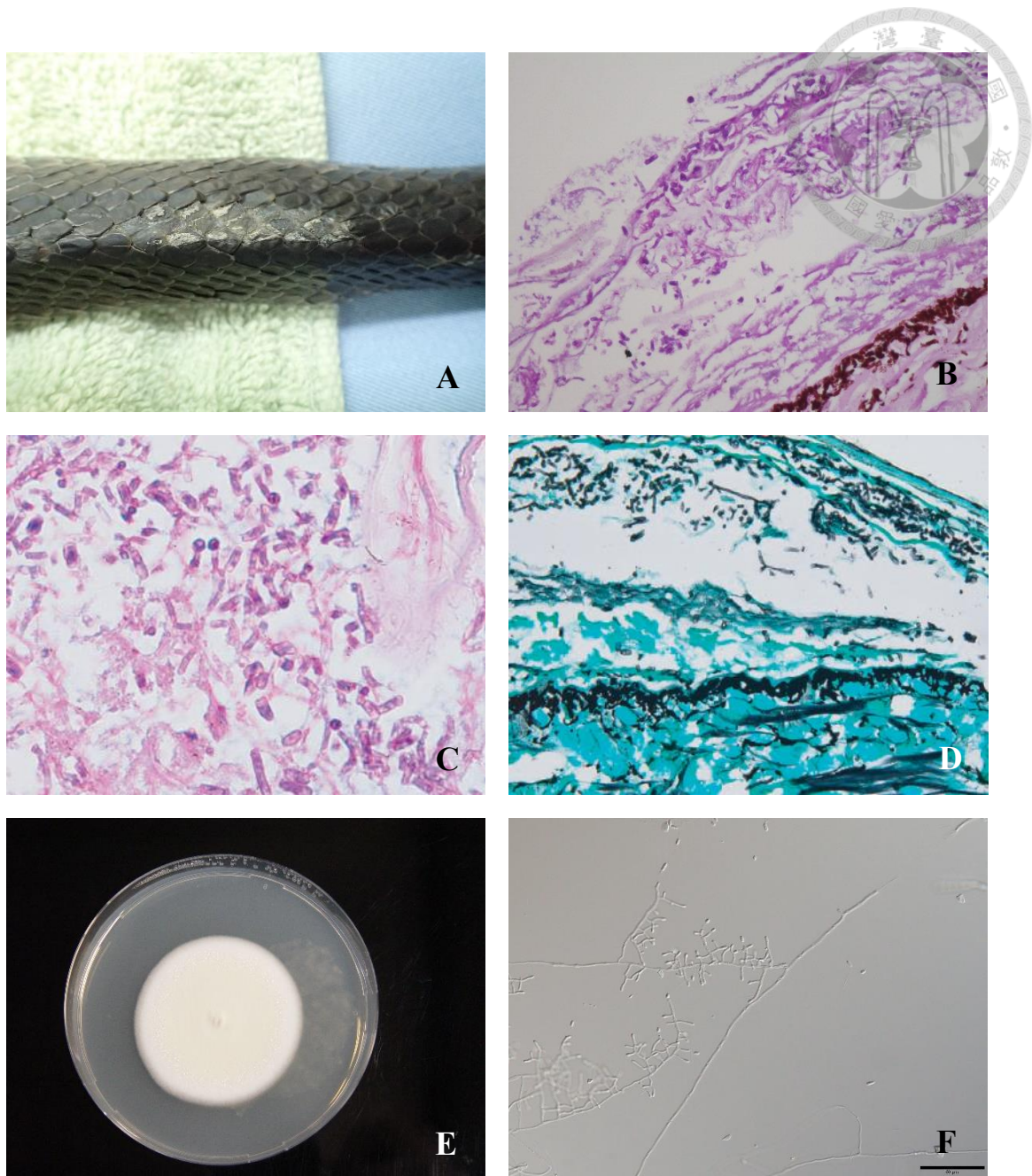


圖 4.2 案例一紅斑蛇 (S108HL006) 感染 *O. ophioidicola* 之病灶。

A：肉眼病灶。B：H&E 染色之病灶組織，可見全面性壞死。C：PAS 染色組織，可見大量的 arthroconidia。D：JMS 染色組織。E：該組織進行培養長出的 *O. ophioidicola* 菌落。F：經 PDA 再培養出的 *O. ophioidicola* 於顯微鏡下之菌絲與分支，圖中可見部分 arthroconidia（黑條長度比例為 50 μm ）(Sun et al., 2021)。

案例二、中華眼鏡蛇 (S108HL017)



該個體在 2019 年 4 月 24 日在花蓮縣七七高地誤入小型食肉目的誘捕籠而被捕捉。身體有四處壞死、結痂的病灶，分別位於背部後段、身體前段右側、眼後以及尾部，其中尾部的傷口有延伸至肌肉層的傷口（圖 4.3）。組織病理採檢結果發現眼後的痂皮組織僅有慢性角化組織堆積，並無發炎反應。背部後段與身體前段右側的病灶，雖然有明顯的淋巴球與異嗜球等細胞浸潤，但並沒有發現任何細菌或真菌。尾部的病灶有豐厚的纖維與角化組織，該組織經由 JMS 與 PAS 染色可見豐富的黴菌菌絲分布，菌絲為 3-4 μm 寬，薄壁、有分節、二分支，伴有部分 microconidia。背部後段的採樣組織以 PDA 在 25°C 下培養三周可見直徑 4.1 cm，白色至淡黃，型態扁平，中心成密集顆粒狀，邊緣呈鬆散絲絨狀的菌落。菌落反面的顏色呈黃棕色。在 35°C 下會抑制生長，但兩周後觀察到生長出直徑 0.65 cm 的微小菌落（圖 4.3），孢子眾多，有 intercalary conidia 也有 arthroconidia 也有 undulate hyphae (Sun et al., 2021)。經 ITS 序列定序診斷為 *O. ophioidicola*，同一位置病灶還有檢測出 *Fusarium incarnatum-equiseti*。此病例的 *O. ophioidicola* 與過去國外的菌株比對 ITS、TEF1 α 與 ACT 等基因，親緣關係最近似於來自美國的菌株(Sun et al., 2021)。右側鰓鱗病灶培養出 *Chaetomium* sp.。在病理下發現有豐富絲狀真菌的尾部及眼後病灶組織則分別培養出 *Fusarium solani* SC (FSSC) 以及 *Metarhizium anisopliae* 等多種真菌（表 4.2）。

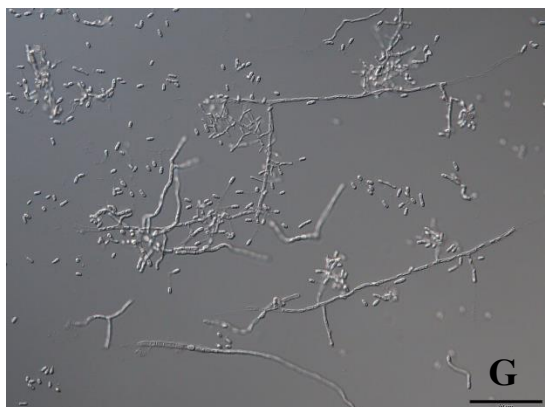
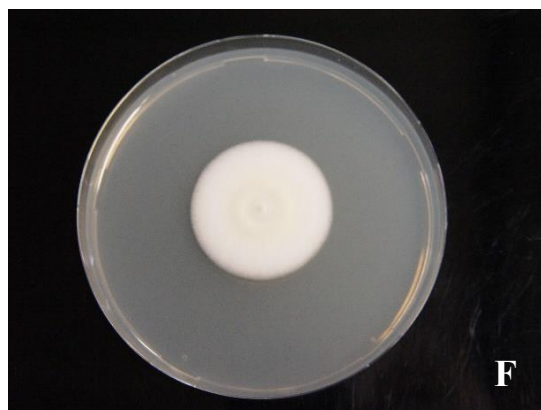
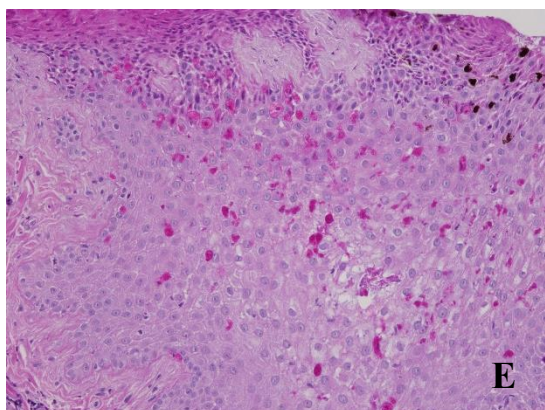


圖 4.3 案例二中華眼鏡蛇 (S108HL017) 之皮膚病灶。

A：後段背側皺鱗與小部分壞死，培養出 *O. ophiodiicola*。 B：尾部肉眼病灶。
C：右邊體側皺鱗。 D：眼後壞死結痂病灶。 E：後段背側皺鱗的 H&E 染色組織。
F：培養出的 *O. ophiodiicola* 菌落。 G：經 PDA 再培養出的 *O. ophiodiicola*
於顯微鏡下之菌絲、arthroconidia 與 aleurioconidia。(黑條長度比例為 50 μm)。
(Sun et al., 2021)



案例三、王錦蛇 (S109NC007)

疑似為放生個體，同地點亦發現二十多隻帶有多處皮膚病灶的王錦蛇，該批個體 body condition 大多良好且精神活動力佳。此個體的身體前段右側面，以及腹部有三處壞死破損、帶些許咖啡色的鱗片（圖 4.4）。採集腹側其中一處壞死破損鱗片病灶進行病理檢驗，上皮有角化增生並伴隨脫顆粒異嗜球浸潤，以 PAS 與 GMS 染色可見上皮內夾雜著大量直徑約為 2–3 μm 之黴菌菌絲（圖 4.4）。該組織經培養後長出白色、型態緻密扁平、邊緣呈現絲絨狀的菌落，菌落的反面中心偏黃棕色，邊緣米白色（圖 4.4）。菌絲為透明，可見 undulate hyphae 與豐富的 arthroconidia（圖 4.4）。以 ITS 比對序列判定為 *O. ophiodiicola*。

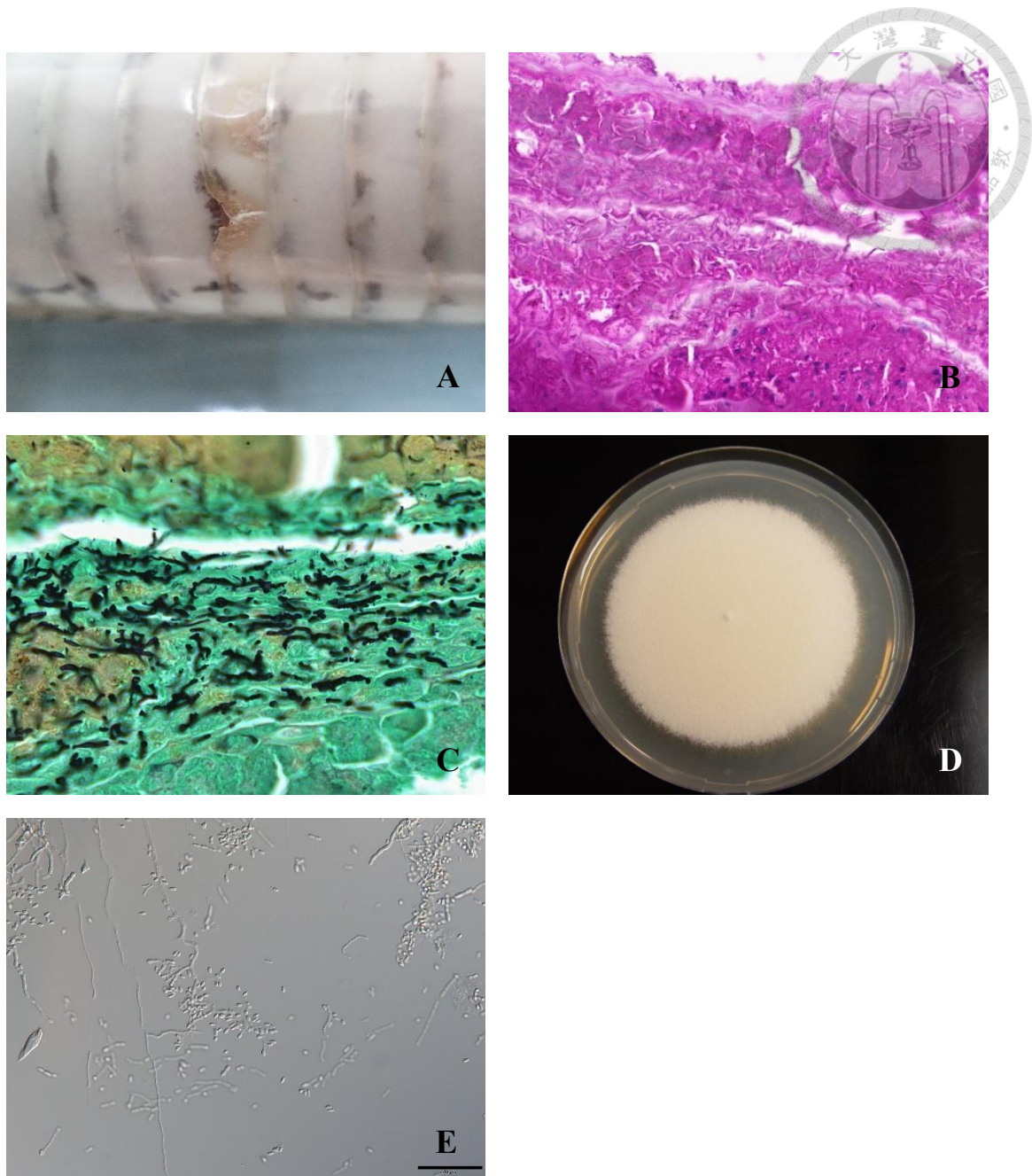


圖 4.4 案例三王錦蛇 (S109NC007) 感染 *O. ophioidicola* 之皮膚病灶。

A：肉眼病灶。B：病灶組織於 PAS 染色下可見分支狀菌絲。C：病灶組織以 JMS 染色。D：培養出的 *O. ophioidicola* 菌落。E：顯微鏡底下之菌絲以及大量梨狀或棒狀的孢子（黑條長度比例為 50 μm ）。

案例四、王錦蛇 (S109NC002)

與案例三為同批疑似放生蛇。左眼腹側與頸部腹側鱗片兩處有壞死破損咖啡色斑駁的鱗片 (圖 4.5)。病理結果為壞死性肉芽腫性的皮膚炎，組織中僅見過度角化上皮以及最表層有少量革蘭氏陽性球菌，並沒有看到組織內有任何細菌或黴菌病原，無法確認造成該皮膚炎的病原為何 (圖 4.5)。在 PDA 上培養出的菌落為白色、緻密、粉末狀，中心較為突起但大致扁平 (圖 4.5)。菌落反面為黃棕色。顯微鏡底下觀察菌落可發現有大量橢圓狀、梨狀的單細胞孢子聚集，也觀察到分節的菌絲、arthroconidia 及 undulate hyphae，還有少部分的 aleurioconidia 與疑似 chlamydospore 的末端孢子。以 ITS 進行序列比對，發現其基因與 *Nannizziopsis* 屬之物種接近，但無法歸類於目前所知任何一物種的分支，進一步以 D1/D2 序列辨別，被歸類為 *N. arthrosporiodes*，但是僅與標準序列有 98.38% 的相似度，並不符合鑑種所需的 99% 的相似度，故將此菌種歸納為新種的 *Nannizziopsis* 屬真菌。

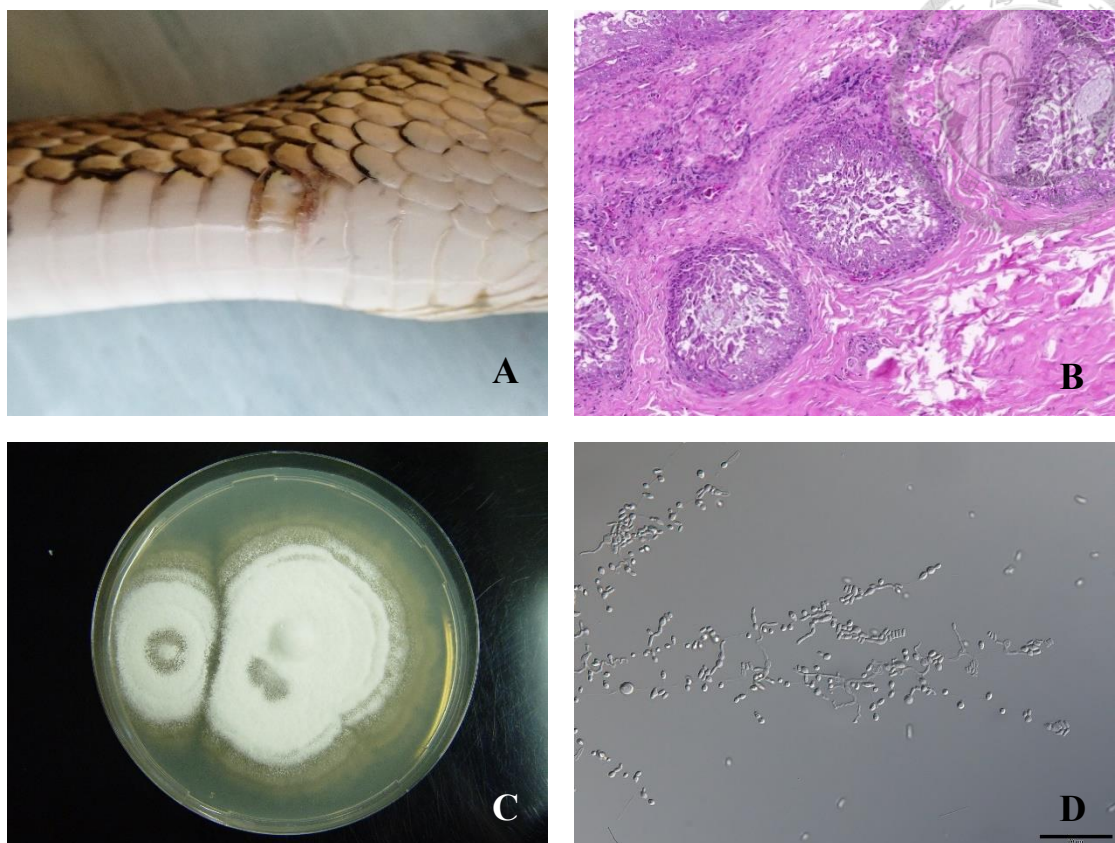


圖 4.5 案例四王錦蛇 (S109NC002) 培養出新種 *Nannizziopsis* 之皮膚病灶。

A：肉眼病灶。B：病灶組織於 H&E 染色。C：培養出的新種 *Nannizziopsis* 菌落。D：顯微鏡底下菌絲型態（黑條長度比例為 50 μm ）。

案例五、青蛇 (S110TP001)

因虛弱與身上有出血的傷口而送至本研究室救治，但到院不久後已死亡。頭部有皸鱗，疑似為舊傷病灶，頸背部有大片黑色素沉澱，身體腹側有多處撕裂傷和潰瘍，部分傷口還有滲血。針對其採集頭部皸鱗與黑色素沉澱位置（圖 4.6），除了有發現黑色素細胞和部分肌肉變性之外，並沒有發現細菌與黴菌等病原。具有黑色素沉澱的病灶組織在 ICG 與 Mycosel 培養基上長出白色棉花狀的菌落，菌落反面之中心為暗棕色，其餘周圍黃白色。以核糖體 DNA 上的 ITS 序列加上 β -tubulin 上的 DNA 鑑定屬於 *Nannizziopsis* 屬中新的物種分支，D1/D2 序列顯示近似於 *N. arthrosporioides*，但是相似度僅 98.38%。



圖 4.6 案例五青蛇 (S110TP001) 培養出新種 *Nannizziopsis* 之皮膚病灶。

A：頭部後方皺鱗病灶。B：黑色素沉澱的皮膚病灶。C：病灶組織於 H&E 染色，沒有真菌或細菌感染浸潤的跡象。D：培養出的新種 *Nannizziopsis* 菌落。

E：顯微鏡底下菌絲型態（黑條長度比例為 50 μm ）。

第五章、 討論與總結



第一節、 樣區內盛行率

一、與過去文獻比較

由文獻探討中可得知，雖然美國東部不乏針對野外蛇類族群的 *O. ophiodiicola* 的盛行率調查，但是每個研究的盛行率都差距很多，除顯現各地實際的盛行率可能變化很大，每個研究流程差異也有可能影響結果，導致各研究結果無法直接相互比較、或是結合所有的結果以探討全地區感染趨勢。

首先是尋找與捕獲蛇類的方法，有的是開車穿越尋找 (road crusing survey) (Haynes et al., 2020; Snyder et al., 2020)；有的是使用固定的陷阱(Haynes et al., 2020)、錫箔版(Haynes et al., 2020; Long et al., 2019)吸引蛇聚集再捕捉；有的調查為了大量捕獲特定物種，會特地找該物種的聚集地集中捕捉(Chandler et al., 2019)，更有許多篇研究並未清楚提及他們的捕捉調查方法，不同的捕獲方式會影響最終樣本採集量(Dorcas & Willson, 2009)。採樣季節與環境溫度也可能會影響盛行率，在 McCoy 等人的實驗中發現野生蛇的臨床症狀隨著周邊氣溫降低而變嚴重(McCoy et al., 2017)，McKenzie 等人發現春夏季的檢驗陽性率顯著高於秋季，他們推測春季時陽性率相對高的原因是因為蛇剛結束冬眠，而冬眠處通常陰暗潮濕，有助於黴菌生長，長期待在這種環境下可能提高沾染真菌的機率，他們也比較前面 McCoy et al (2017) 調查的結果，推測 McCoy 等人得到反向的結果可能是因為調查地點位於緯度較低的佛羅里達州，該州在夏天的氣溫可能會高於 *O. ophiodiicola* 生長上限，反而阻礙真菌的生長(McKenzie et al., 2019)。

採樣真菌的方法在不同研究也有所差別，少數研究有採病灶皮膚組織進行 PCR (Guthrie et al., 2016; Long et al., 2019; McKenzie et al., 2019)，但大部分的研究僅用無菌棉棒直接擦抹皮膚表面取得樣本，雖然有研究認為採集皮膚組織與

抹棒樣本分別進行 PCR，所得的陽性機率並無顯著差異(McKenzie et al., 2019)，且抹棒較不會造成動物的傷害。然而單以抹棒樣本檢驗而沒有搭配組織病理對照，無法辨別 PCR 陽性的結果是真正感染進皮膚組織內還是僅在皮膚表面沾染到病原，另外也有少數研究除了採抹棒樣本還有進行組織病理檢查，但不論 PCR 結果為陽性還是陰性，只要組織病理發現菌絲存在，皆判定為 SFD 陽性(Licitra et al., 2019)，可能將其他種真菌感染的案例誤歸納為 SFD 陽性案例。大多數的研究採樣後就直接將樣本進行 PCR 檢定，僅少數研究如我們的研究一樣有進行培養：Guthrie 等人針對病灶進行 PCR 與培養，8 個 PCR 陽性的病灶中僅有 5 個培養陽性（62%）(Guthrie et al., 2016)；Long 等人發現直接 PCR 檢驗抹棒或組織呈現陽性的個體，組織經過培養後都沒有培養出相關菌株，認為培養是敏感度相對低的診斷工具(Long et al., 2019)。然而，真菌培養可以純化菌株，以利後續菌株基因的保存以及比對，也可以確認所採的菌株是具有生長活性，仍有其優勢與重要性。

二、針對本研究結果探討

本研究發現 *Ophidiomyces* 與 *Nannizziopsis* 屬之真菌確實存在臺灣野外環境中，所有固定樣區調查中，調查的總隻數為 871 隻，樣區內捕獲感染 *O. ophiodiicola* 的蛇類僅一隻紅斑蛇，樣區內總體陽性率為 0.11%，相較於部分美國東部的野外調查結果明顯小很多。本研究在現行樣區內的陽性率非常低推測有 5 個，(1) 本身樣區內的陽性個體並不多；(2) 部分蛇體表沾染菌株卻未感染；(3) 部分蛇處於感染初期尚未出現症狀；(4) 原本有症狀的蛇經蛻皮後將表層的可見病灶蛻除；(5) 樣本經培養使檢驗陽性機率下降。由於我們僅針對蛇身上的病灶進行採樣，無法偵測出上述無感染、無症狀的個體；此外，我們進行 PCR 診斷前會先將檢體置於 ICG 和 mycosel 培養基進行培養，過去部分文獻發現先行培養再 PCR 後定序的陽性比率，相較於直接進行 PCR 檢驗略低，也可能是造成我們在樣區內統計盛行率偏低的原因之一。我們目前採用培養的方法可以確認菌株具有活性，

搭配組織病理可更進一步確認個體是正在被該真菌所感染。如果要進一步確認樣區內的蛇類是否暴露在 *Ophidiomyces*、*Nannizziopsis* 及 *Paranannizziopsis* 真菌的環境下，除了以現有的方法針對肉眼可見病灶採樣外，亦可同時抽樣針對部分無症狀的個體進行抹樣檢查，以此推估暴露在這些病原的狀況下發病的機率。

本研究在樣區內捕獲動物的方式是在夜間於固定穿越線上目擊蛇類後捕捉，在夜間調查的優點是相較一日中其他時段可以有較高機率捕獲多樣且大量的蛇類個體，但以我們捕獲蛇類的比例可發現（表 4.2），在樣區內捕捉到一些日行性蛇類（如：王錦蛇、南蛇）的比例偏低；以及我們的樣區多以調查陸域蛇類為主，水生蛇類很難在陸域穿越線被目擊，因此捕獲比例也偏低。然而我們在非固定樣區中就有發現兩條身上分別分離出 *O. ophiodiicola* 以及新種 *Nannizziopsis* 的王錦蛇，再加上國外有研究發現其調查樣區內水域蛇類的盛行率顯著大於陸域蛇類(McKenzie et al., 2019)，我們目前採用的調查方法有可能遺漏掉這些推測感染風險較大的物種，所得到的陽性率也可能因此較低。未來在樣區內採集蛇類的方式除了以現行的夜間穿越線調查外，依照不同蛇種的棲地習性設置陷阱捕捉以增加捕獲蛇種豐度。

第二節、*Ophidiomyces* 與 *Nannizziopsis* 陽性個體

本研究中發現的陽性感染案例非常少，無法以任何統計分析臨床症狀種類趨勢。本研究三個感染 *O. ophiodiicola* 案例的肉眼病灶幾乎符合 Baker 等人所彙整之特徵(Baker et al., 2020)：案例一 S108HL006 紅斑蛇有輕微鱗片脫落以及輕微潰瘍；案例二的眼鏡蛇之病灶表面有皺鱗與表面小面積痂皮；案例三的王錦蛇腹面鱗片有多處壞死變色。不過由於案例一與案例二兩者分別合併有 *P. lilacinum* 及 *Fusarium incarnatum-equiseti* 的感染，事實上很難界定究竟是 *O. ophiodiicola* 或其他真菌或兩者合併感染產生的病灶。

過去除了 Stichigel 等人提到在未知物種的蛇身上分離出 *N. guarroi* 外 (Stichigel et al., 2013)，*Nannizziopsis* 屬黴菌幾乎沒有感染蛇的案例，如今再度在案例四身上發現，然而此案例的病灶病理切片上並無發現黴菌菌絲生長，尚無法證實 *Nannizziopsis* 會直接造成蛇的病症，且無法從此案例觀察到新種病原對於蛇類皮膚造成何種病理變化，尚須在周邊調查與採樣是否有其他蛇感染 *Nannizziopsis* 屬的新種黴菌。若要確認是否對於蛇類具有致病性，可依據柯霍氏法則 (Koch's postulate)，將培養純化的菌種在接種到蛇類身上，觀察是否會引起相同病灶。

第三節、其他種類真菌感染

本研究另外發現，除目標物種 *Ophidiomyces*、*Nannizziopsis* 與 *Paranannizziopsis* 屬之真菌外，有許多真菌也會造成蛇類皮膚出現嚴重病灶，有的在其他爬蟲類動物曾有相關感染案例報導如：*Fusarium* 屬與 *P. lilacinum* 有自病灶中單獨培養出，且對照組織病理也有菌絲存在。某些過去主要紀錄感染植物或昆蟲的真菌物種如：*Arthrrium arundinus* 與 *C. fumosorosea*，不僅從組織上能培養出來，同時該病灶組織在切片下也可以看到菌絲的存在，顯示有機會感染蛇類，然而感染 *C. fumosorosea* 的個體（S109NC008 王錦蛇）同時有感染其他真菌，無法確認在切片下看到的菌絲是屬於何種，故無法作為感染蛇類的直接證據，本研究的採樣結果也無法得知這些真菌對於蛇是主要感染的病原或是二次感染，這些答案需待日後採集到更多相關感染樣本，以及針對相關病原進行接種實驗，才能釐清。上述真菌物種存在的肉眼病灶皆極為相似，會造成鱗片變色、壞死，產生結痂或結節，嚴重者會出現潰瘍，外觀上難以區別，凸顯結合菌種鑑定與組織病理合併診斷的重要性。

第四節、總結

本研究藉由採集蛇類皮膚上肉眼可見病灶進行真菌培養、分子鑑種與組織病理分析，初探在國外盛行的 *Ophidiomyces*、*Nannizziopsis* 與 *Paranannizziopsis* 在臺灣的存在情形，目前結合固定樣區採集以及蒐集各救傷單位與研究單位在固定樣區外發現的個體，共有三隻蛇感染 *Ophidiomyces*，與在兩隻蛇的病灶身上培養出新種的 *Nannizziopsis* 但未找到感染進組織的證據，未來若需了解新種的 *Nannizziopsis* 對於臺灣蛇類物種的病原性，可以先行在蛇皮與圈養蛇身上進行接種試驗。我們目前在樣區中採集的盛行率遠低於國外部分調查研究的結果，除可能為這些病原本身在樣區內盛行率真的很低外，也有可能是這些病原尚未或是無法造成樣區內大部分的蛇出現皮膚病灶，為解答此疑問可以在未來考慮合併以棉棒採樣部分無症狀個體的皮膚進行 PCR，推算這些病原在無症狀個體出現的機率。盛行率低的原因也可能是目標病原事實上好發於夜間調查時容易遺漏的物種：水蛇、游蛇與日行性蛇類物種，未來進行野外調查時可搭配架設陷阱以全面性捕捉樣區內所有物種。綜合以上結論，我們尚須進行更多調查與試驗，來更了解 *Ophidiomyces*, *Nannizziopsis* 以及 *Paranannizziopsis* 在臺灣野生蛇類族群的現況。

參考文獻



- Abarca, M. L., Castellá, G., Martorell, J., & Cabañes, F. J. (2010). *Chrysosporium guarroi* sp. nov. a new emerging pathogen of pet green iguanas (*Iguana iguana*). *Medical Mycology*, 48(2), 365-372.
<https://doi.org/10.3109/13693780903173401>
- Allender, M. C., Dreslik, M., Wylie, S., Phillips, C., Wylie, D. B., Maddox, C., Delaney, M. A., & Kinsel, M. J. (2011). *Chrysosporium* sp. infection in eastern massasauga rattlesnakes. *Emerg Infect Dis*, 17(12), 2383-2384.
<https://doi.org/10.3201/eid1712.110240>
- Allender, M. C., Ravesi, M. J., Haynes, E., Ospina, E., Petersen, C., Phillips, C. A., & Lovich, R. (2020). Ophidiomycosis, an emerging fungal disease of snakes: Targeted surveillance on military lands and detection in the western US and Puerto Rico. *PLoS One*, 15(10), e0240415.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240415>
- Apinis, A. E. (1970). Concerning Rollandina. *Trans Br mycol Soc*, 55(3), 499-502.
[https://doi.org/10.1016/s0007-1536\(70\)80075-4](https://doi.org/10.1016/s0007-1536(70)80075-4)
- Baker, S. J., Haynes, E., Gramhofer, M., Stanford, K., Bailey, S., Christman, M., Conley, K., Frasca, S., Ossiboff, R. J., Lobato, D., & Allender, M. C. (2020). Case definition and diagnostic testings for snake fungal disease. *Herpetological Review*, 50(2), 279-285.
- Başaran Kahraman, B., Diren Sığircı, B., Metiner, K., Ak, S., Koenhemsı, L., Or, M. E., Castellá, G., & Abarca, M. L. (2015). Isolation of *Chrysosporium guarroi* in a Green Iguana (*Iguana iguana*), in Turkey. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 24(4), 427-429. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2015.08.007>
- Chandler, H. C., Allender, M. C., Stegenga, B. S., Haynes, E., Ospina, E., & Stevenson, D. J. (2019). Ophidiomycosis prevalence in Georgia's eastern indigo snake (*Drymarchon couperi*) populations. *PLoS One*, 14(6), e0218351.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218351>
- Cheatwood, J. L., Jacobson, E. R., May, P. G., Farrell, T. M., Homer, B. L., Samuelson, D. A., & Kimbrough, J. W. (2003). An outbreak of fungal dermatitis and stomatitis in a free-ranging population of pigmy rattlesnakes (*Sistrurus miliarius barbouri*) in Florida. *J Wildl Dis*, 39(2), 329-337.
<https://doi.org/10.7589/0090-3558-39.2.329>
- Chen, Y. H., Chi, M. J., Sun, P. L., Yu, P. H., Liu, C. H., Cano-Lira, J. F., & Li, W. T. (2020). Histopathology, molecular identification and antifungal susceptibility testing of *Nannizziopsis arthrosporioides* from a captive cuban rock iguana (*Cyclura nubila*). *Mycopathologia*, 185(6), 1005-1012.

<https://doi.org/10.1007/s11046-020-00481-6>

- Christman, J. E., Alexander, A. B., Donnelly, K. A., Ossiboff, R. J., Stacy, N. I., Richardson, R. L., Case, J. B., Childress, A. L., & Wellehan, J. F. X. (2020). Clinical manifestation and molecular characterization of a novel member of the Nannizziopsiaceae in a pulmonary granuloma from a Galapagos Tortoise (*Chelonoidis nigra*). *Front Vet Sci*, 7, 24.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00024>
- Diaz-Delgado, J., Marrow, J. C., Flanagan, J. P., Bauer, K. L., Zhang, M., Rodrigues-Hoffmann, A., Groch, K. R., Gomez, G., & Balamayooran, G. (2020). Outbreak of *Paranannizziopsis australasiensis* infection in captive African bush vipers (*Atheris squamigera*). *J Comp Pathol*, 181, 97-102.
<https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2020.10.004>
- Dolinski, A. C., Allender, M. C., Hsiao, V., & Maddox, C. W. (2014). Systemic *Ophidiomyces ophiodiicola* infection in a free-ranging plains garter snake (*Thamnophis radix*). *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 24(1).
<https://doi.org/10.5818/1529-9651-24.1.7>
- Dorcas, M. E., & Willson, J. D. (2009). Innovative methods for studies of snake ecology and conservation. In S. J. Mullin & R. A. Seigel (Eds.), *Snakes: Ecology and Conservation* (1 ed., pp. 5-37). Cornell University Press.
- Franklinos, L. H. V., Lorch, J. M., Bohuski, E., Rodriguez-Ramos Fernandez, J., Wright, O. N., Fitzpatrick, L., Petrovan, S., Durrant, C., Linton, C., Balaz, V., Cunningham, A. A., & Lawson, B. (2017). Emerging fungal pathogen *Ophidiomyces ophiodiicola* in wild European snakes. *Sci Rep*, 7(1), 3844.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-03352-1>
- Fuchs, L. D., Tupper, T. A., Aguiler, R., Lorentz, E. B., Borzarth, C. A., Fernanderz, D. J., & Lawlor, D. M. (2020). Detection of *Ophidiomyces ophiodiicola* at two mid-Atlantic natural areas in Anne Arundel county, Maryland and Fairfax county, Virginia, USA. *Amphibian & Reptile Conservation*, 14(1), 22-28.
- Garcia-Hermoso, D., Hamane, S., Fekkar, A., Jabet, A., Denis, B., Siguier, M., Galeazzi, G., Haddad, E., Brun, S., Vidal, V., Nevez, G., Le Berre, R., Gits-Muselli, M., Lanternier, F., & Bretagne, S. (2020). Invasive infections with *Nannizziopsis obscura* species complex in 9 patients from west Africa, France, 2004-2020(1). *Emerg Infect Dis*, 26(9).
<https://doi.org/10.3201/eid2609.200276>
- Glorioso, B. M., Bartoszek, I., & Lorch, J. M. (2020). Low-level detection of SFD-causing *Ophidiomyces* on Burmese pythons in southwest Florida, with confirmation of the pathogen on co-occurring native snakes. *Herpetological Review*, 51(2), 245-247.

- Glorioso, B. M., Waddle, J. H., Green, D. E., & Lorch, J. M. (2016). First documented case of snake fungal disease in a free-ranging wild Snake in Louisiana. *Southeastern Naturalist*, 15(1), N4-N6. <https://doi.org/10.1656/058.015.0111>
- Grisnik, M., Leys, J. E., Bryan, D., Hardman, R. H., Miller, D. L., Cobb, V. A., Ogle, C., Simpson, C., Campbell, J. R., Applegate, R. D., Allender, M. C., Norderg, E. J., Hoekstra, A. A., & Walker, D. M. (2018). Host and geographic range of snake fungal disease in Tennessee, USA. *Herpetological Review*, 49(4), 682-690.
- Guthrie, A. L., Knowles, S., Ballmann, A. E., & Lorch, J. M. (2016). Detection of snake fungal disease due to *Ophidiomyces ophiodiicola* in Virginia, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, 52(1), 143-149. <https://doi.org/10.7589/2015-01-007>
- Haynes, E., Chandler, H. C., Stegenga, B. S., Adamovicz, L., Ospina, E., Zerpa-Catanho, D., Stevenson, D. J., & Allender, M. C. (2020). Ophidiomycosis surveillance of snakes in Georgia, USA reveals new host species and taxonomic associations with disease. *Sci Rep*, 10(1), 10870. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67800-1>
- Hileman, E. T., Allender, M. C., Bradke, D. R., Faust, L. J., Moore, J. A., Ravesi, M. J., & Tetzlaff, S. J. (2017). Estimation of *Ophidiomyces* prevalence to evaluate snake fungal disease risk. *The Journal of Wildlife Management*, 82(1), 173-181. <https://doi.org/10.1002/jwmg.21345>
- Humphrey, S., Alexander, S., & Ha, H. J. (2016). Detection of *Paranannizziopsis australasiensis* in tuatara (*Sphenodon punctatus*) using fungal culture and a generic fungal PCR. *N Z Vet J*, 64(5), 298-300. <https://doi.org/10.1080/00480169.2016.1177472>
- Johnson, R. S., Sangster, C. R., Sigler, L., Hambleton, S., & Paré, J. A. (2011). Deep fungal dermatitis caused by the *Chrysosporium* anamorph of *Nannizziopsis vriesii* in captive coastal bearded dragons (*Pogona barbata*). *Aust Vet J*, 89(12), 515-519. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2011.00851.x>
- Lafortune, M., Wellehan, J. F. X., Terrell, S. P., Jacobson, E. R., Heard, D., & Kimbrough, J. W. (2005). Shell and systemic hyalohyphomycosis in fly river turtles, *Carettochelys insculpta*, caused by *Paecilomyces lilacinus*. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 15(2), 15-19.
- Last, L. A., Fenton, H., Gonyor-McGuire, J., Moore, M., & Yabsley, M. J. (2016). Snake fungal disease caused by *Ophidiomyces ophiodiicola* in a free-ranging mud snake (*Farancia abacura*). *J Vet Diagn Invest*, 28(6), 709-713. <https://doi.org/10.1177/1040638716663250>
- Le Donne, V., Crossland, N., Brandao, J., Sokolova, Y., Fowlkes, N., Nevarez, J. G.,

- Langohr, I. M., & Gaunt, S. D. (2016). *Nannizziopsis guarroi* infection in 2 inland bearded dragons (*Pogona vitticeps*): clinical, cytologic, histologic, and ultrastructural aspects. *Vet Clin Pathol*, 45(2), 368-375. <https://doi.org/10.1111/vcp.12345>
- Licitra, D., Quinn, D. P., Reeder, J. E., Gavitt, T., Dickson, J., Hess, B., Mangold, B. J., Tuttle, A. D., Rosas-Rosas, A., Frasca, S., Jr., & Szczepanek, S. M. (2019). snake fungal disease in colubridae snakes in Connecticut, USA in 2015 and 2017. *J Wildl Dis*, 55(3), 658-662. <https://doi.org/10.7589/2018-04-100>
- Lind, C. M., McCoy, C. M., & Farrell, T. M. (2018). Tracking Outcomes of Snake Fungal Disease in Free-ranging Pygmy Rattlesnakes (*Sistrurus miliarius*). *J Wildl Dis*, 54(2), 352-356. <https://doi.org/10.7589/2017-05-109>
- Long, R. B., Love, D., Seeley, K. E., Patel, S., Allender, M. C., Garner, M. M., & Ramer, J. (2019). Host factors and testing modality agreement associated with *Ophidiomyces* infection in a free-ranging snake population in southeast Ohio, USA. *J Zoo Wildl Med*, 50(2), 405-413. <https://doi.org/10.1638/2018-0143>
- Lorch, J. M., Knowles, S., Lankton, J. S., Michell, K., Edwards, J. L., Kapfer, J. M., Staffen, R. A., Wild, E. R., Schmidt, K. Z., Ballmann, A. E., Blodgett, D., Farrell, T. M., Glorioso, B. M., Last, L. A., Price, S. J., Schuler, K. L., Smith, C. E., Wellehan, J. F., Jr., & Blehert, D. S. (2016). Snake fungal disease: an emerging threat to wild snakes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 371(1709). <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0457>
- Lorch, J. M., Lankton, J., Werner, K., Falendysz, E. A., McCurley, K., & Blehert, D. S. (2015). Experimental infection of snakes with *Ophidiomyces ophiodiicola* causes pathological changes that typify snake fungal disease. *mBio*, 6(6), e01534-01515. <https://doi.org/10.1128/mBio.01534-15>
- Luangsa-Ard, J., Housbraken, J., Doorn, T. v., Hong, S.-B., Borman, A. M., Hywel-Jones, N. L., & Samson, R. A. (2011). *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS Microbiol Lett*, 321(2), 141-149. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02322.x>
- Masters, N. J., Alexander, S., Jackson, B., Sigler, L., Chatterton, J., Harvey, C., Gibson, R., Humphrey, S., Rawdon, T. G., Spence, R. P., Ha, H. J., McInnes, K., & Jakob-Hoff, R. (2016). Dermatomycosis caused by *Paranannizziopsis australasiensis* in five tuatara (*Sphenodon punctatus*) and a coastal bearded dragon (*Pogona barbata*) in a zoological collection in New Zealand. *N Z Vet J*, 64(5), 301-307. <https://doi.org/10.1080/00480169.2016.1177473>
- McBride, M. P., Wojick, K. B., Georoff, T. A., Kimbro, J., Garner, M. M., Wang, X., Childress, A. L., & Wellehan, J. F. (2015). *Ophidiomyces ophiodiicola* dermatitis in eight free-ranging timber rattlesnakes (*Crotalus horridus*) from

- Massachusetts. *J Zoo Wildl Med*, 46(1), 86-94. <https://doi.org/10.1638/2012-0248R2.1>
- McCoy, C. M., Lind, C. M., & Farrell, T. M. (2017). Environmental and physiological correlates of the severity of clinical signs of snake fungal disease in a population of pigmy rattlesnakes, *Sistrus miliarius*. *Conservation Physiology*, 5(1). <https://doi.org/10.1093/conphys/cow077>
- McKenzie, J. M., Price, S. J., Fleckenstein, J. L., Drayer, A. N., Connette, G. M., Bohuski, E., & Lorch, J. M. (2019). Field diagnostics and seasonality of *Ophidiomyces ophiodiicola* in wild snake populations. *Ecohealth*, 16(1), 141-150. <https://doi.org/10.1007/s10393-018-1384-8>
- McKenzie, R. A., Green, P. E., & Branch, P. (1976). Mycotic dermatitis in captive carpet snakes (*Morelia spilotes variegata*). *J Wildl Dis*, 12(3), 405-408. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-12.3.405>
- Meier, G., Notomista, T., Marini, D., & Ferri, V. (2018). First case of snake fungal disease affecting a free-ranging *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) in Ticino Canton, Switzerland. *Herpetology Notes*, 11, 885-891.
- Miller, D. L., Radi, Z. A., Stiver, S. L., & Thornhill, T. D. (2004). Cutaneous and pulmonary mycosis in green anacondas (*Eunectes murinus*). *J Zoo Wildl Med*, 35(4), 557-561. <https://doi.org/10.1638/03-096>
- Minard, H. M., Burrell, C., Delgado, J. D., Rech, R. R., & Nabity, M. B. (2016). What's your diagnosis? Skin impression smear from a Bearded Dragon. *Vet Clin Pathol*, 45(3), 505-506. <https://doi.org/10.1111/vcp.12384>
- Nichols, D. K., Weyant, R. S., Lamirande, E. W., Sigler, L., & Mason, R. T. (1999). Fatal mycotic dermatitis in captive brown tree snakes (*Boiga irregularis*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 30(1), 111-118. <https://www.jstor.org/stable/20095829>
- Paré, J. A., & Sigler, L. (2016). An overview of reptile fungal pathogens in the genera *Nannizziopsis*, *Paranannizziopsis*, and *Ophidiomyces*. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 26(1-2). <https://doi.org/10.5818/1529-9651-26.1-2.46>
- Paré, J. A., Sigler, L., Hunter, B., Summerbell, R. C., Smith, D. A., & Machin, K. L. (1997). Cutaneous mycoses in chameleons caused by the *Chrysosporium* anamorph of *Nannizziopsis vriesii* (Apinis) Currah. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 28(4), 443-453. <https://www.jstor.org/stable/20095688>
- Paré, J. A., Sigler, L., Rypien, K. L., & Gibas, C.-F. C. (2003). Cutaneous mycobiota of captive squamate reptiles with notes on the scarcity of *Chrysosporium* Anamorph of *Nannizziopsis vriesii*. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 13(4), 10-15.

- Paré, A., Coyle, K. A., Sigler, L., Maas, A. K., 3rd, & Mitchell, R. L. (2006). Pathogenicity of the *Chrysosporium* anamorph of *Nannizziopsis vriesii* for veiled chameleons (*Chamaeleo calyptratus*). *Med Mycol*, 44(1), 25-31. <https://doi.org/10.1080/13693780500165461>
- Paré, J. A., Sigler, L., Rypien, K. L., & Gibas, C.-F. C. (2003). Cutaneous mycobiota of captive squamate reptiles with notes on the scarcity of *Chrysosporium* Anamorph of *Nannizziopsis vriesii*. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 13(4), 10-15.
- Peterson, N. R., Rose, K., Shaw, S., Hyndman, T. H., Sigler, L., Kurtboke, D. I., Llinas, J., Littleford-Colquhoun, B. L., Cristescu, R., & Frere, C. (2020). Cross-continental emergence of *Nannizziopsis barbatae* disease may threaten wild Australian lizards. *Sci Rep*, 10(1), 20976. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77865-7>
- Price, S. J., Oldham, C. R., Boys, W. M., & Fleckenstein, L. J. (2015). First Record of snake fungal disease in Kentucky. *Journal of the Kentucky Academy of Science*, 76(1-2), 47-48. <https://doi.org/10.3101/1098-7096-76.1.47>
- Rainwater, K. L., Wiederhold, N. P., Sutton, D. A., Garner, M. M., Maguire, C., Sanders, C., Gibas, C., Cano, J. F., Guarro, J., & Stchigel, A. M. (2019). Novel *Paranannizziopsis* species in a Wagler's viper (*Tropidolaemus wagleri*), tentacled snakes (*Erpeton tentaculatum*), and a rhinoceros snake (*Rhynchophis boulengeri*) in a zoological collection. *Med Mycol*, 57(7), 825-832. <https://doi.org/10.1093/mmy/myy134>
- Rajeev, S., Sutton, D. A., Wickes, B. L., Miller, D. L., Giri, D., Van Meter, M., Thompson, E. H., Rinaldi, M. G., Romanelli, A. M., Cano, J. F., & Guarro, J. (2009). Isolation and characterization of a new fungal species, *Chrysosporium ophioidicola*, from a mycotic granuloma of a black rat snake (*Elaphe obsoleta obsoleta*). *J Clin Microbiol*, 47(4), 1264-1268. <https://doi.org/10.1128/JCM.01751-08>
- Rhim, H., & Han, J.-I. (2019). *Nannizziopsis chlamydospora* associated necrotizing dermatomycosis in a bearded dragon (pogona vitticeps). *Journal of Exotic Pet Medicine*, 31, 1-2. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2019.03.020>
- Schmidt-Ukaj, S., Loncaric, I., Klang, A., Spargser, J., Habich, A. C., & Knotek, Z. (2014). Infection with *Devriesea agamarum* and *Chrysosporium guarroi* in an inland bearded dragon (*Pogona vitticeps*). *Vet Dermatol*, 25(6), 555-558, e597. <https://doi.org/10.1111/vde.12146>
- Schneider, J., Heydel, T., Klasen, L., Pees, M., Schrod, W., & Schmidt, V. (2018). Characterization of *Nannizziopsis guarroi* with genomic and proteomic analysis in three lizard species. *Med Mycol*, 56(5), 610-620.

<https://doi.org/10.1093/mmy/myx083>

- Shender, L. A., Guzman-Vargas, V., Alexander, J. L., Fenton, H. M. A., Niedringhaus, K. D., & Allender, M. C. (2020). Ophidiomycosis in Florida's wild snakes: state records and treatment of an infected *Nerodia taxispilota*. *Herpetological Review*, 51(1), 47-51.
- Sigler, L., Hambleton, S., & Paré, J. A. (2013). Molecular characterization of reptile pathogens currently known as members of the *Chrysosporium* anamorph of *Nannizziopsis vriesii* complex and relationship with some human-associated isolates. *J Clin Microbiol*, 51(10), 3338-3357.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01465-13>
- Snyder, S. D., Sutton, W. B., & Walker, D. M. (2020). Prevalence of *Ophidiomyces ophiodiicola*, the causative agent of snake fungal disease in the interior plateau ecoregion of Tennessee, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, 56(4), 907-911.
<https://doi.org/10.7589/2019-04-109>
- Stchigel, A. M., Sutton, D. A., Cano-Lira, J. F., Cabanes, F. J., Abarca, L., Tintelnor, K., Wickes, B. L., Garcia, D., & Guarro, J. (2013). Phylogeny of chrysosporia infecting reptiles: proposal of the new family Nannizziopsiaceae and five new species. *Persoonia*, 31, 86-100. <https://doi.org/10.3767/003158513X669698>
- Stengle, A. G., Farrell, T. M., Freitas, K. S., Lind, C. M., Price, S. J., Butler, B. O., Tadevosyan, T., Isidoro-Ayza, M., Taylor, D. R., Winzeler, M., & Lorch, J. M. (2019). Evidence of vertical transmission of the snake fungal pathogen *Ophidiomyces ophiodiicola*. *J Wildl Dis*, 55(4), 961-964.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30896366>
- Sun, P. L., Yang, C. K., Li, W. T., Lai, W. Y., Fan, Y. C., Huang, H. C., & Yu, P. H. (2021). Infection with *Nannizziopsis guarroi* and *Ophidiomyces ophiodiicola* in reptiles in Taiwan. *Transbound Emerg Dis*.
<https://doi.org/10.1111/tbed.14049>
- Takami, Y., Nam, K. O., Takaki, Y., Kadekaru, S., Hemmi, C., Hosoya, T., & Une, Y. (2021). First report of ophidiomycosis in Asia caused by *Ophidiomyces ophiodiicola* in captive snakes in Japan. *J Vet Med Sci*, 83(8), 1234-1239.
<https://doi.org/10.1292/jvms.21-0177>
- Tetzlaff, S., Allender, M. C., Ravasi, M., & Smith, J. (2015). First report of snake fungal disease from Michigan, USA involving Massaugas, *Sitrurus catenatus* (Rafinesque 1818). *Herpetology Notes*, 8, 31-33.
- Tournade, C. M., Doss, G. A., Adamovicz, L. A., Ambar, N., Allender, M. C., Lennox, A. M., Gasper, D. J., & Mans, C. (2021). Antemortem diagnosis of *Nannizziopsis guarroi* fungal pneumonia in a green iguana (*Iguana iguana*). *Journal of Exotic Pet Medicine*, 38, 44-47.

<https://doi.org/10.1053/j.jepm.2021.04.006>

Webster, R. K. E. (2018). *The epidemiology and pathology of Paranannizziopsis australasiensis in New Zealand reptiles* Massey University. Palmerston North New Zealand.

