

SCHIMMELZIEKTE BIJ SLANGEN - EEN NIEUWE BEDREIGING?

SNAKE FUNGAL DISEASE - A NOVEL THREAT?

Päivi Salo, Hollanterintie 7, 20660 Littoinen,
pakisa@utu.fi, 050 533 6193

Päivi Salo, Hollanterintie 7, 20660 Littoinen,
pakisa@utu.fi, 050 533 619

Samenvatting

Slangenschimmelziekte (SSZ) is een opkomende bedreiging voor in het wild levende slangen. Deze ziekte is voor het eerst geïdentificeerd in 2006 en het wordt veroorzaakt door de op dode of rottende organische stoffen (saproben) levende schimmel *Ophidiomyces ophiodiicola*. De huidige verspreiding van SSZ is voornamelijk in het oosten van de Verenigde Staten, maar de schimmel is ook gediagnosticeerd bij wilde slangen in Canada en Europa. Tot dusverre is de schimmel geïsoleerd van meer dan dertig verschillende soorten slangen. Verschillende details van zijn levenscyclus, milieu- en andere factoren die de kwetsbaarheid van de gastheer en de pathogeniteit van de schimmel beïnvloeden, alsmede de langetermijneffecten van SSZ op slangenpopulaties, zijn nog onbekend. SSZ vormt echter een ernstig risico voor geïsoleerde, kleine populaties van reeds bedreigde slangen.

Abstract

Snake fungal disease (SFD) is an emerging threat to wild snakes. First identified in 2006, it is caused by the environmental saprobe *Ophidiomyces ophiodiicola*. The current distribution of SFD is focused on Eastern United States, but the fungus has also been diagnosed in wild snakes in Canada and Europe. So far it has been isolated from over 30 different snake species. Several details of the fungus life cycle, environmental and other factors affecting host vulnerability and fungus pathogenicity, and long-term impacts of SFD on snake populations are still unknown. However, SFD poses a serious risk to isolated, small populations of already threatened snake species.

Inleiding

In 1998 werd een ziekte gevonden die amfibieën in de hele wereld bedreigde, en veroorzaakt wordt door de schimmel *Batrachochytrium dendrobatidis*. Een andere schimmel, behorend tot hetzelfde geslacht, *Batrachochytrium salamandrivorans*, werd ontdekt in 2010, toen de schimmel zich vanuit Azië naar Europa verspreide

Introduction

In 1998 a disease threatening amphibians all around the world, caused by the fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*, was identified. Another fungus belonging to the same genus, *Batrachochytrium salamandrivorans*, was detected in 2010 when the fungus spread from Asia to Europe and caused mass die-offs of Fire salamanders (*Salamandra salamandra*) in the Netherlands and Belgium. In 2006 bats discovered in a hibernation cave on the east coast of the United States were found to be infected by the fungus *Pseudogymnoas-*

en een massale sterfte van vuursalamanders (*Salamandra salamandra*) in Nederland en België veroorzaakte. In 2006 bleken vleermuizen, die overwinterden in een grot aan de oostkust van de Verenigde Staten, besmet te zijn met de schimmel *Pseudogymnoascus destructans*. Tot nu toe heeft deze ziekte, genaamd het 'wit-teneussyndroom', meer dan zes miljoen vleermuizen in Noord-Amerika gedood. Slangen worden ook bedreigd door een recent geïdentificeerde schimmelziekte, maar onderzoek naar de oorsprong, verspreiding en effecten van dit pathogeen staat nog in de kinderschoenen.

De eerste bevestigde waarnemingen van een ernstige schimmelziekte bij slangen vonden ook plaats aan de oostkust van de Verenigde Staten. Onderzoekers hebben regelmatig de laatste overlevende en extreem geïsoleerde Bosratel-slangpopulatie (*Crotalus horridus*) in de staat New Hampshire gevolgd (Clark *et al.* 2011). Na veertien jaar vertoonden veel slangen in 2006 ongewone huidbeschadigingen rondom de kop, de kin of andere delen van het lichaam, een indicatie voor een schimmelinfectie. In de daaropvolgende herfst bleven veel ratelslangen uitzonderlijk lang dralen buiten hun overwinteringsonderkomens. Sommige van deze individuen zijn dood aangetroffen in het voorjaar van 2007. Tussen 2006 en 2007 nam de populatiegrootte globaal af met 50%. Verschillende soorten huidbeschadigingen waren eerder al in andere populaties Bosratelslangen waargenomen na beëindiging van hun winterslaap. Deze beschadigingen verdwenen echter meestal na hun vervelling (ecdysis), en waren niet duidelijk verbonden met een toegenomen ratel-slangsterfte. Onderzoekers suggereerden dat de dodelijke schimmelinfectie bij Bosratelslangen in New Hampshire verband hield met een uitzonderlijk hoge zomerse regenval in het gebied.

De tweede ontmoeting met een ongewone schimmelinfectie bij wilde slangen vond plaats in 2008, toen onderzoekers drie ernstig geïnfecteerde Oost-massasauga-ratelslangen (*Sistrurus catenatus catenatus*) ontdekten in Illinois (Allender *et al.* 2011). De koppen van de dieren waren ernstig opgezwollen en misvormd en

cus destructans. So far, this disease termed white-nose syndrome has decimated more than 6 million bats in North America. Snakes are also threatened by a recently identified fungal disease, but research on the origin, distribution and impacts of this pathogen is still in its infancy.

The first confirmed observations of a severe fungal disease in snakes also took place on the east coast of the United States. Researchers have regularly monitored the last surviving and extremely isolated Timber rattlesnake (*Crotalus horridus*) population in the state of New Hampshire (Clark *et al.* 2011). After 14 years of ecological monitoring, in 2006 many snakes displayed unusual skin lesions around the head, chin or other parts of the body, indicative of fungal infection. In the following autumn, several rattlesnakes lingered exceptionally late out of their hibernation den. Some of these individuals were found dead in the spring 2007, and overall the population size declined by 50% between 2006 and 2007. Various types of skin lesions had previously been observed after emergence from hibernation also in other Timber rattlesnake populations. However, these lesions usually disappeared after shedding (ecdysis), and their occurrence was not obviously connected to increased rattlesnake mortality. Researchers suggested that the deadly fungal infection affecting Timber rattlesnakes in New Hampshire was related to exceptionally high summer rainfalls in the area.

The second encounter with an unusual fungal infection in wild snakes occurred in 2008, when researchers discovered three seriously infected Eastern massasauga rattlesnakes (*Sistrurus catenatus catenatus*) in Illinois (Allender *et al.* 2011). The heads of the animals were severely swollen and disfigured, and all three perished within three weeks after discovery. DNA-sequencing identified the cause of these symptoms as a fungus belonging to genus *Chrysosporium*, more specifically species *Chrysosporium ophioidicola*. As with the New Hampshire

alle drie waren binnen drie weken na ontdekking dood. DNA-onderzoek identificeerde de oorzaak van deze symptomen als een schimmel, behorend tot het geslacht *Chrysosporium*, en meer specifiek *Chrysosporium ophiodiicola*. Net als bij de New Hampshire Bosratslang, was deze bedreigde Massasauga-populatie jarenlang gevolgd zonder enig teken van uitbraken. Na deze eerste gevallen werd de ziekte slangenschimmelziekte (SSZ) genoemd.

Tot dusverre is SSZ wereldwijd in meer dan dertig verschillende slangensoorten aangetroffen. De meeste waarnemingen aan wilde slangen vonden plaats in de oostelijke VS, maar SSZ werd ook gevonden in Canada. De ziekte is ook vastgesteld bij slangen in gevangenschap, bijvoorbeeld in het Verenigd Koninkrijk, Duitsland en Australië. Onlangs is de schimmel geïdentificeerd in exemplaren van in het wild levende Europese slangen, die tussen 2010 en 2016 werden verzameld. De schimmel werd gedetecteerd in verschillende ringslangen (*Natrix natrix*) en één Europese adder (*Vipera berus*) in het Verenigd Koninkrijk, evenals in een Dobbelsteenslang (*Natrix tessellata*) in Tsjechië (Franklinos *et al.* 2017). Slangenschimmelziekte is daarom tenminste vanaf 2010 in Europa aanwezig en niet eerder waargenomen of gezocht.

Identificatie van het SSZ-pathogeen en ontwikkeling van de ziekte

In de vroege stadia van SSZ-onderzoek was het enige wat met zekerheid bekend was, dat één of meer schimmelsoorten betrokken waren bij het veroorzaken van de infectie. Het pathogeen dat aanvankelijk werd geïdentificeerd als *Chrysosporium ophiodiicola*, behoorde tot een groep soorten waarvan bekend is dat ze huidinfecties bij reptielen veroorzaken. Meer gedetailleerde, genetische studies resulteerden echter in een volledige herindeling van deze groep. Verschillende soorten werden overgebracht naar andere geslachten en *Chrysosporium ophiodiicola* werd hernoemd als *Ophidiomyces ophiodiicola*. Tot nu toe is dit de enige bekende soort in zijn geslacht. De wetenschappelijke naam

Timber rattlesnakes, this threatened Massasauga population had been monitored for years with no previous signs of any outbreaks. After these initial cases the disease was termed Snake Fungal Disease (SFD).

So far SFD has been identified in over 30 different snake species around the world. Most observations in wild snakes have been located in the Eastern USA, but SFD has also been found in Canada. It has been identified in captive snakes e.g. in the United Kingdom, Germany and Australia. Recently the fungus has been identified in specimens of wild European snakes collected in 2010-2016. The fungus was detected in several Grass snakes (*Natrix natrix*) and one European adder (*Vipera berus*) from the United Kingdom, as well as in one Dice snake (*Natrix tessellata*) from the Czech Republic (Franklinos *et al.* 2017). Snake fungal disease has therefore been present in Europe since at least 2010, but it has not been observed or searched for previously.

Identifying the SFD pathogen and development of the disease

At the early stages of SFD research the only thing known for certain was that one or more fungus species were involved in causing the infection. The pathogen initially identified as *Chrysosporium ophiodiicola* belonged to a group of species known to cause skin infections in reptiles. However, more detailed genetic studies resulted in complete reorganisation of this group; several species were transferred to other genera and *Chrysosporium ophiodiicola* was renamed as *Ophidiomyces ophiodiicola*. So far it is the only known species in its genus. The scientific name infers that the species is truly a 'snake fungus'. Although several fungi can cause sporadic skin infections in wild snakes, experimental infections conducted in laboratories have confirmed *Ophidiomyces ophiodiicola* as the causative agent of SFD (Lorch *et al.* 2015).

For a snake to become infected with SFD, the fungus must first pass the outermost layer of



Figuur 1a-d:

Een juveniele Breedbandwaterslang (*Nerodia fasciata confluens*) besmet met *Ophidiomyces ophiodiicola* uit Louisiana, Verenigde Staten. Het dier vertoont zweren van de huid op de kop, talrijke knobbeltjes bedekt door geruwde huid op het rugoppervlak en verschillende korstige ventrale schubben.

A juvenile Broad-banded watersnake (*Nerodia fasciata confluens*) infected with *Ophidiomyces ophiodiicola* from Louisiana, United States. The animal exhibits ulceration of the skin on the head, numerous nodules overlaid by roughened skin on the dorsal surface, and several crusty ventral scales.

Photo/Foto: Brad M. Glorioso / U.S. Geological Survey

houdt in dat de soort een echte 'slangenschimmel' is. Alhoewel verschillende schimmels bij in het wild levende slangen sporadische huidinfecties kunnen veroorzaken, hebben experimentele infecties in laboratoria bevestigd dat *Ophidiomyces ophiodiicola* de veroorzaker van SSZ is (Lorch *et al.* 2015).

Om een slang te infecteren met SSZ, moet de schimmel eerst de buitenste laag van de huid van de slang passeren, het *stratum corneum*, die uit gekeratiniseerde cellen bestaat. In intacte staat biedt deze laag een zeer effectieve bescherming van de diepere huidlagen. In de praktijk komen echter verschillende verwondingen en schaafwonden van het *stratum corneum* bij wilde slangen veel voor, en ze bieden de schimmel een gemakkelijke toegang tot dieper in de epidermis. Niettemin is *Ophidiomyces ophiodiicola* blijkbaar ook in staat om door een volkomen gezonde huid te dringen. Wanneer de myceliumdraden (hyfen) van de schimmel dieper in de opperhuid komen, wordt de immuunrespons van de slang uitgelokt. Immuncellen komen samen op de plaats van de infectie en veroorzaken oedeem (opbouw van vocht, wat leidt tot zwelling). Binnen enkele dagen wordt de geïnfecteerde huid dikker en necrotisch, en de infectieplaats is bedekt met geelachtig bruine korstjes, typisch voor SSZ. Wanneer de korstjes afbreken, gaat de infectieplaats zweren, wat resulteert in diepere wonden. De schimmel blijft groeien in de necrotische huid en de grootte van de beschadigingen neemt verder toe. Geïnfecteerde slangen hebben vaak verschillende korsten en beschadigingen van verschillende delen van het lichaam. De schimmel groeit meestal alleen in de opperhuid, met af en toe hyfen die dieper in de huid doordringen. In ernstige gevallen echter kan de schimmel doordringen in bijvoorbeeld spier- en botweefsel, het hoornvlies, de longen of andere organen. Maar dergelijke verspreide infecties worden zelden waargenomen bij wilde slangen. Zieke individuen sterven waarschijnlijk aan andere oorzaken, voordat de schimmelinfectie zo'n gevorderde toestand bereikt.

the skin of the snake, *stratum corneum*, which consists of keratinized cells. When intact, this layer provides highly effective protection for the deeper skin layers. In practice, however, different injuries and abrasions of the *stratum corneum* are very common in wild snakes, and they offer the fungus an easy access deeper into the epidermis. Nevertheless, *Ophidiomyces ophiodiicola* is apparently also able to penetrate through perfectly healthy skin. When the hyphae of the fungus enter deeper into the epidermis, the snake's immune response is elicited. Immune cells congregate at the site of infection, causing oedema (accumulation of fluid, leading to swelling). Within days the infected skin becomes thickened and necrotic, and the infection site is covered with yellowish-brown crusts, typical of SFD. When the crusts break off, the infection site ulcerates, resulting in deeper wounds. The fungus continues to infiltrate into the necrotic skin and the size of the lesions increases further. Infected snakes often have several crusts and lesions in different parts of the body. The fungus usually grows only within the epidermis with occasional hyphae penetrating deeper into the dermis. However, in severe cases the fungus may invade e.g. muscle and bone tissue, the cornea, lungs or other organs. Such disseminated infections are rarely observed in wild snakes, though; sick individuals likely die from other causes before the fungal infection reaches such an advanced state.

Besides eliciting their immune response, infected snakes will try to fight off the fungus by increasing their moulting frequency. Both necrotic tissue and fungal hyphae are removed with the shedding of the old epidermis. New skin usually appears healthy, although some deformed scales may remain as a remnant of the disease. In case the infection is solely limited to the upper epidermis, the snake may completely heal itself from SFD by shedding. However, infection may rapidly recur if the moult is incomplete or pieces of the old skin adhere to the new skin. A single moult will not help if the fungus has grown into the new epidermis before the old one is shed - in such cas-

Naast het uitlokken van hun immunerespons, zullen geïnfecteerde slangen proberen de schimmel af te weren door vaker te vervellen. Zowel necrotisch weefsel als schimmelhyfen worden verwijderd met het afstoten van de oude epidermis. Een nieuwe huid ziet er meestal gezond uit, hoewel sommige misvormde schubben kunnen overblijven als restverschijnsel van de ziekte. In het geval dat de infectie alleen beperkt is tot de bovenste opperhuidlaag, kan de slang zichzelf volledig genezen van SSZ door het vervellen. Een infectie kan echter snel terugkeren, als de vervelling onvolledig is, of als delen van de oude huid zich aan de nieuwe huid hechten. Een eenmalige vervelling zal niet helpen als de schimmel in de nieuwe opperhuid is gegroeid voordat de oude is afgeworpen. In dergelijke gevallen moet de slang mogelijk meer keren snel achter elkaar vervellen. Experimenteel geïnfecteerde Kornslangen (*Pantherophis guttatus*) bijvoorbeeld, vervelden ruwweg elke twee weken, terwijl gezonde slangen in de controlegroep slechts één keer per maand vervelden (Lorch *et al.* 2015).

Het inschatten van de sterfte door SSZ in het wild is erg moeilijk, maar sommige soorten lijken kwetsbaarder dan andere. Terwijl ernstige schimmelinfecties meestal dodelijk zijn, kan de directe doodsoorzaak een optelsom zijn van verscheidene factoren. Een verspreide infectie in de longen kan bijvoorbeeld voldoende weefselschade veroorzaken om de gastheer direct te doden. In de meeste gevallen lijkt SSZ echter een chronische ziekte te zijn en de secundaire effecten ervan zijn de reden waarom een gastheer uiteindelijk ten onder gaat. Secundaire effecten omvatten bijvoorbeeld verslechtering van het gezichtsvermogen of de reuk, die beide het vangen van prooien door de slangen kunnen schaden en tot hongersnood kunnen leiden. Zowel wilde slangen die lijden aan SSZ, als slangen die experimenteel zijn geïnfecteerd met SSZ in het laboratorium, zijn meestal uitgehongerd. Een slang die is verzwakt door SSZ, kan kwetsbaarder zijn voor verschillende andere ziekteverwekk-

es the snake may need to shed several times in rapid succession. For example, experimentally infected Corn snakes (*Pantherophis guttatus*) moulted roughly every two weeks while healthy snakes in the control group moulted only once per month (Lorch *et al.* 2015).

Estimating the mortality caused by SFD in the wild is very difficult, but some species appear more vulnerable than others. While severe fungal infections are usually lethal, the proximate cause of death can be a sum of multiple factors. For example, a disseminated infection in the lungs may cause enough tissue damage to directly kill the host. However, in most cases SFD appears to be a chronic disease and its secondary effects are the reason a host finally perishes. Secondary effects include e.g. deterioration of vision or olfaction, both of which may impair snake hunting and lead to starvation. Both wild snakes suffering from SFD and snakes experimentally infected by SFD in the laboratory are usually famished. A snake weakened by SFD may be more vulnerable to several other pathogens; on the other hand, other infections could make snakes more susceptible to SFD.

Snakes suffering from SFD may engage in several risky behaviours. For example, experimentally infected Corn snakes would lie exposed in their terrariums twice as often as the healthy control animals (Lorch *et al.* 2015). As sick individuals will attempt to raise their body temperature to be able to fight the infection, they may continue basking in open spaces even when they should already be hibernating. Basking individuals are vulnerable not only to predation but also to adverse weather conditions; snakes staying out too long or emerging too early from hibernation may succumb to freezing temperatures. Hibernation and the occurrence of SFD could be correlated. For example, snakes may be more susceptible to infection during hibernation as their immune defences and other vital functions become frugal. Communal hibernation sites may increase pathogen transmission rates as several individuals lie in

kers. Anderzijds kunnen andere infecties slangen vatbaarder maken voor SSZ.

Slangen die lijden aan SSZ kunnen verschillende risicovolle gedragingen vertonen. Experimenteel geïnfecteerde Korenslangen zouden bijvoorbeeld twee keer zo vaak onbeschut in hun terrarium liggen als de gezonde controledieren (Lorch *et al.* 2015). Omdat zieke individuen proberen hun lichaamstemperatuur te verhogen om de infectie te kunnen bestrijden, kunnen ze blijven zonnen in open ruimtes, zelfs als ze al zouden moeten overwinteren. Zonnende exemplaren zijn niet alleen kwetsbaar voor predatie, maar ook voor ongunstige weersomstandigheden. Slangen die te lang buiten blijven, of te vroeg uit de overwintering komen, kunnen bezwijken bij temperaturen onder nul. De overwintering en het optreden van SSZ kunnen mogelijk gecorreleerd zijn. Slangen kunnen bijvoorbeeld gevoeliger zijn voor infecties tijdens de overwintering, omdat hun immuunsysteem en andere vitale functies in effectiviteit afnemen. Gemeenschappelijke overwinteringsplaatsen kunnen de overdrachtsnelheid van pathogenen verhogen, omdat verschillende individuen dicht bij elkaar liggen. SSZ wordt echter ook waargenomen bij soorten die het hele jaar door actief zijn, zoals Dwergratelslangen (*Sistrurus miliarius barbouri*) in Florida. Maar bij deze soort is de ziekte ook ernstiger en komt vaker voor tijdens het koude seizoen. Daarom moet nog worden onderzocht, of de seizoensverandering in de intensiteit van de infectie afhangt van veranderingen in de energiebalans van slangen, of de fysiologie van het pathogeen zelf.

Waar komt SSZ vandaan?

De schimmel *Ophidiomyces ophiodiicola* die SSZ veroorzaakt, behoort niet tot de normale micro-organismen van de slangenhuid. Nu onderzoekers eindelijk weten waar ze naar moeten zoeken, is deze schimmel ook in oudere monsters geïdentificeerd. Zo heeft SSZ zich al in 1986 voorgedaan in in gevangenschap levende dieren in het oosten van de VS. Er zijn

close proximity to one another. However, SFD is also observed in species that stay active all year round, such as Pigmy rattlesnakes (*Sistrurus miliarius barbouri*) in Florida. Yet in this species the disease is also more severe and more common during the cold season. Hence, it remains to be investigated whether the seasonal change in the acuteness of the infection depends on changes in the energy balance of snakes or the physiology of the pathogen itself.

Where does SFD originate from?

The fungus causing SFD, *Ophidiomyces ophiodiicola*, does not belong to normal snake skin microbiota. Now that researchers finally know what they should be looking for, this fungus has been identified in older samples as well. For example, SFD has occurred in captive animals in Eastern USA already in 1986. There are no confirmed observations in the wild before 2008. In principle, such a sudden emergence of a disease implies a recent spill-over from captive animals into nature. However, the geographical dispersal pattern of SFD cases is not typical of a recently introduced pathogen; the disease cases lack a systematic spatial pattern.

At the same time, it is also impossible to ascertain that the fungus has not occurred in the wild previously. Literature is filled with notes, going back for decades, about snakes emerging from hibernation with lesions and blisters. Such observations would imply that SFD has been around for a long time. These kinds of 'hibernation blisters' are relatively often seen, but until now they have not been studied in detail. Unfortunately, historical observations cannot be directly linked to modern *Ophidiomyces ophiodiicola* -infections without proper samples. For example, in the early 2000s both rattlesnakes and gartersnakes (*Thamnophis* sp.) in Florida were troubled by an epidemic whose symptoms were afterwards matched with those of SFD. However, the disease was not identified more specifically at the time. Using other than DNA-based methods for identification can also be misleading; if only morphologi-

geen bevestigde waarnemingen in het wild van vóór 2008. In principe betekent een dergelijke plotselinge opkomst van een ziekte een recente overdracht van in gevangenschap levende dieren naar de natuur. Het geografische verspreidingspatroon van SSZ-gevallen is echter niet typerend voor een recent geïntroduceerde pathogeen. De ziektegevallen missen een systematisch ruimtelijk patroon.

Tegelijkertijd is het ook onmogelijk om vast te stellen dat de schimmel niet eerder in het wild is voorgekomen. De literatuur is gevuld met aantekeningen, die al decennia teruggaan, over slangen die uit hun winterslaap komen met beschadigingen en blaren. Dergelijke opmerkingen zouden impliceren dat SSZ al lang bestaat. Dit soort 'overwinteringsblaren' wordt relatief vaak gezien, maar tot nu toe zijn ze niet in detail bestudeerd. Helaas kunnen historische waarnemingen niet rechtstreeks worden gekoppeld aan huidige *Ophidiomyces ophiodiicola*-infecties zonder de juiste monsters. Begin 2000 hadden bijvoorbeeld ratelslangen en kousebandslangen (*Thamnophis* sp.) in Florida last van een epidemie waarvan de symptomen naderhand gezien overeenkwamen met die van SSZ. De ziekte werd echter niet specifiek geïdentificeerd op dat moment. Het gebruik van andere dan op DNA gebaseerde methoden voor identificatie kan ook misleidend zijn. Als alleen morfologische kenmerken van de hyfen worden gebruikt voor identificatie, is het goed mogelijk dat *Ophidiomyces ophiodiicola* verward kan worden met andere schimmels die huidinfecties veroorzaken bij slangen. Zo werd de schimmelinfectie die in het midden van de jaren negentig dwergratelslangen besmette, destijds geïdentificeerd als *Geotrichum candidum* (Cheatwood *et al.* 2003), maar op basis van morfologie alleen is die soort gemakkelijk te verwarren met *Ophidiomyces ophiodiicola*.

Bovendien is onderzoek van de gezondheid van slangenpopulaties in het wild nooit erg uitgebreid geweest, vandaar dat bevestigde waarnemingen van geïnfecteerde individuen zowel ruimtelijk als in de tijd verspreid zijn. Al-

cal characters of the hyphae are used for identification, it is quite possible to mistake *Ophidiomyces ophiodiicola* for other fungi causing skin infections in snakes. For example, the fungal infection disturbing Pigmy rattlesnakes in the mid-1990s was identified at the time as *Geotrichum candidum* (Cheatwood *et al.* 2003), but based on morphology alone that species is easy to confuse with *Ophidiomyces ophiodiicola*.

In addition, health monitoring of wild snake populations has never been very extensive - hence confirmed observations of infected individuals are both spatially and temporally scattered. All things considered, it is quite possible that *Ophidiomyces ophiodiicola* has been around for several decades. Also, the *Ophidiomyces ophiodiicola* strains recently isolated from wild snakes in Europe are distinct from those found in North America and cultures of the European isolates grow more slowly than those examined in eastern United States, suggesting that the fungus might naturally have a Holarctic distribution (Franklinos *et al.* 2017). SFD may thus be an older phenomenon than we have imagined; perhaps it just has not been correctly identified previously.

In case *Ophidiomyces ophiodiicola* is an old acquaintance, why are problems emerging only now? Research in the lab has shown *Ophidiomyces ophiodiicola* to be a persistent and opportunistic environmental saprobe: it can survive in the soil without a host and it tolerates water stress much better than typical soil fungi. The fungus grows rapidly in warm and moist conditions, but growth rate declines in temperatures above +30°C. One possible explanation for the escalating occurrence and pathogenicity of *Ophidiomyces ophiodiicola* lies in climate change: increasing precipitation and higher temperatures offer more opportunities for the fungus. Environmental conditions preferred by *Ophidiomyces ophiodiicola* are unpleasant for snakes: for example, in cloudy and rainy weather snakes have little means of increasing their body temperature

les bij elkaar genomen, is het heel goed mogelijk dat *Ophidiomyces ophiodiicola* al tientallen jaren bestaat. Ook verschillen de *Ophidiomyces ophiodiicola*-stammen die recentelijk geïsoleerd zijn bij wilde slangen in Europa van die in Noord-Amerika. En de kweken van de in Europa geïsoleerde schimmels groeien langzamer dan die in het oosten van de Verenigde Staten, wat suggereert dat de schimmel van nature een holarctische (dat is in de noordelijke delen van Noord-Amerika, Europa en Azië) verspreiding zou kunnen hebben (Franklinos *et al.* 2017). SSZ kan dus een ouder fenomeen zijn dan we ons hebben voorgesteld. Misschien is het gewoon niet eerder correct geïdentificeerd.

In het geval dat *Ophidiomyces ophiodiicola* een oude bekende is, waarom zijn er dan nu pas problemen mee? Onderzoek in het lab heeft aangetoond dat *Ophidiomyces ophiodiicola* een persistente en opportunistische milieusaprobe is: de schimmel kan overleven in de bodem zonder een gastheer en hij verdraagt de stress van water veel beter dan typische bodemschimmels. De schimmel groeit snel in warme en vochtige omstandigheden, maar de groeisnelheid daalt bij temperaturen boven +30°C. Een mogelijke verklaring voor het veelvuldiger voorkomen en de pathogeniteit van *Ophidiomyces ophiodiicola* ligt in de klimaatverandering: de toenemende regenval en hogere temperaturen bieden meer kansen voor de schimmel. Omgevingscondities die de voorkeur hebben van *Ophidiomyces ophiodiicola* zijn onaangenaam voor slangen. Zo hebben slangen bij bewolkt en regenachtig weer weinig middelen om hun lichaamstemperatuur te verhogen tot het niveau dat nodig is om infecties te bestrijden. Met de klimaatverandering zullen de winters milder worden en infecties tijdens de overwintering kunnen toenemen als gevolg van hogere temperaturen in de holen. Aan de andere kant kunnen extreme weersomstandigheden ten gevolge van klimaatverandering óók infecties in andere seizoenen doen toenemen. Bijvoorbeeld, bij extreem heet en droog weer zullen de slangen gaan schuilen onder de grond, waar de schimmel het hele jaar door perfecte omstandigheden heeft.



Figuur 2:
Een monster van *Ophidiomyces ophiodiicola* afkomstig van een geïnfecteerde slang wordt gekweekt op een petrischaal.

A sample of *Ophidiomyces ophiodiicola* originating from an infected snake is being cultured on a Petri dish.
Photo/Foto: C. Schuman. CC-BY-SA-4.0



Figuur 3:
Een close-up van een hyfen van *Ophidiomyces ophiodiicola*.

A close-up of *Ophidiomyces ophiodiicola* hyphae.
Photo/Foto: L. Sigler, C. Gibas. CC-BY-SA-4.0

Tot dusver hebben SSZ-uitbraken grote schade aangericht, vooral in kleine en geïsoleerde slangenpopulaties. Ten eerste worden dergelijke bedreigde populaties vaak ongebruikelijk goed gevolgd, waardoor ook epidemieën van ziekten gemakkelijker worden waargenomen. Ziekten in een algemene, wijdverspreide soort kunnen meer tijd en moeite kosten om te detecteren. Ten tweede kan een hoge mate van inteelt in kleine geïsoleerde populaties deze populatie kwetsbaarder maken voor een ernstige epidemie. Inteelt, d.w.z. paren tussen naaste verwanten, vermindert de genetische diversiteit van de populatie en kan de immuunafweer van ingeteelde individuen in gevaar brengen, waardoor ze meer risico lopen ziek te worden. De factoren die leiden tot de isolatie van een slangenpopulatie kunnen ook bijdragen aan de verspreiding van SSZ. Terwijl bijvoorbeeld habitatfragmentatie barrières creëert die populaties van elkaar scheiden, kan dit ook alle slangen in het gebied dwingen zich te verzamelen in de enige overgebleven geschikte winterslaapplaats, waardoor een transmissie gemakkelijker wordt. Veranderingen in het milieu kunnen populatie-afnames van prooisorten van slangen veroorzaken, waardoor uitgemergelde slangen gevoelig worden voor ziekten. Gewijzigde habitats hebben mogelijk niet langer goede plekken om te zonnebaden, waar slangen infecties kunnen bestrijden door hun lichaamstemperatuur hoog genoeg te verhogen.

Het belang van SSZ voor slangen, slangenbescherming en onderzoek

Tot dusver is er erg weinig bekend over *Ophidiomyces ophiodiicola*, de ziekte die hem veroorzaakt en de gevoeligheid van verschillende slangensoorten om besmet te raken met SSZ. In veel gevallen is een SSZ-infectie waarschijnlijk een samenvoeging van verschillende factoren. Bijvoorbeeld, in het geval van de New Hampshire Bosratelslangen, werd de epidemie waarschijnlijk veroorzaakt door de geringe genetische diversiteit in de populatie als gevolg van habitatfragmentatie en -isolatie, gecombineerd met een uitzonderlijk hoge neerslag

to the level necessary for fighting infections. With climate change the winters will become milder, and infections during hibernation may increase due to higher temperatures in the dens. On the other hand, extreme weather conditions predicted by climate change may also increase infections in other seasons: for example, under extremely hot and dry conditions the snakes will seek shelter underground, where the fungus has perfect conditions all year round.

So far SFD outbreaks have wreaked havoc especially in small and isolated snake populations. Firstly, such threatened populations are often unusually well monitored, hence also disease epidemics are more easily observed. Disease in a common, widespread species might take more time and effort to detect. Secondly, high levels of inbreeding in small isolated populations may well render these populations more vulnerable to a severe epidemic. Inbreeding, i.e. mating between close relatives, reduces genetic diversity of the population and may compromise the immune defence of inbred individuals, putting them more at risk of getting sick. The factors leading to the isolation of a snake population may also contribute to the spread of SFD. For example, while habitat fragmentation creates barriers which separate populations from each other, it may also force all snakes in the area to gather in the only remaining suitable hibernation site, thus enabling easier transmission. Changes in the environment may cause population declines in snake prey species, making emaciated snakes susceptible to diseases. Modified habitats may no longer have good basking sites where snakes could fight infections by raising their body temperatures high enough.

The importance of SFD to snakes, snake conservation, and research

So far so very little is known about *Ophidiomyces ophiodiicola*, the disease it causes, and the susceptibility of different snake species in becoming infected with SFD. In many



Figuur 4:

Korsten en beschadigingen veroorzaakt door *Ophidiomyces ophiodiicola* op een Breedkopslang (*Hoplocephalus bungaroides*) in de dierentuin van Adelaide, Australië. Slangen kunnen ook last hebben van andere schimmelinfecties. Vandaar dat de diagnose vaak wordt bevestigd met behulp van DNA-onderzoek.

Crusts and lesions caused by *Ophidiomyces ophiodiicola* on a Broad-headed snake (*Hoplocephalus bungaroides*) in Adelaide Zoo, Australia. Snakes can suffer also from other fungal infections. Hence the diagnosis is often confirmed using DNA-tests. Photo/Foto: Adelaide Zoo. CC-BY-SA-4.0.

gedurende twee opeenvolgende jaren. In sommige slangenpopulaties waren SSZ-symptomen verwaarloosbaar en heeft de ziekte hun populatiegrootte niet beïnvloed. SSZ is echter duidelijk een bedreiging voor het behoud van slangen, aangezien het de mortaliteit van met name bedreigde soorten al heeft verhoogd.

Naast het verhogen van de individuele sterfte, kan een chronische SSZ-infectie leiden tot een verminderd voortplantingssucces, wat uiteindelijk leidt tot afname van de populatie. Zelfs perfect gezonde individuen van verschillende slangensoorten zijn vrij traag wat betreft de voortplanting. Vandaar dat zelfs een kleine verandering in worpgrootte na verloop van tijd grote gevolgen kan hebben voor de populatiegrootte. Dergelijke langetermijneffecten zijn de reden waarom we dringend behoefte hebben aan meer gedetailleerde informatie over SSZ. Op welke manieren beïnvloedt de schimmel

cases a SFD infection is probably an aggregation of several different factors. For example, in the case of New Hampshire Timber rattlesnakes, the epidemic was likely caused by the low level of genetic diversity in the population due to habitat fragmentation and isolation, combined with the exceptionally high precipitation over two successive years. In some snake populations SFD symptoms have been negligible and the disease has not affected their population size. However, SFD is clearly a threat to snake conservation since it has already increased the mortality of especially threatened species.

Besides increasing individual mortality, a chronic SFD infection may result in poor breeding success, leading eventually to population declines. Even perfectly healthy individuals of several snake species are quite slow to reproduce; hence even a small change in litter size may in time have large



Figuur 5:

Eastern racer (Coluber constrictor), een Noord-Amerikaanse soort, die typische tekenen van een schimmelinfectie van de huid vertoont. De pijlen wijzen naar de geruwde korstige schubben op de kin en aan de zijkant van de nek.

Eastern racer (Coluber constrictor), a North American species, showing typical signs of fungal skin infection. The arrows point to the roughened crusty scales on the chin and on the side of the neck.

Photo/Foto: David E. Green / U.S. Geological Survey.

zijn gastheer? Welke factoren leiden uiteindelijk tot de dood van een besmet individu? Welke factoren maken slangen kwetsbaarder voor schimmelinfecties? Wat zijn de effecten van SSZ op populatieniveau bij verschillende soorten? Hoe beïnvloeden omgevingsfactoren de populatiedynamiek van de schimmel?

Bij gebrek aan meer gedetailleerde informatie is het nog niet mogelijk om het wereldwijde belang van SSZ voor slangen en de bescherming ervan in te schatten. Onderzoekers die zich op de ziekte concentreren, proberen er ook effectieve behandelingen tegen te vinden. In het geval van ernstig bedreigde slangenpopulaties kan het lot van zelfs maar één individuele slang cruciaal zijn. Onder dergelijke omstandigheden bestaat de mogelijkheid de geïnfecteerde slang in gevangenschap te rehabiliteren. Elke behandeling die de algemene gezondheid verbetert, kan het dier helpen bij het bestrijden van de ziekte. Behandelingen met

impacts on the population size. Such long-term impacts are the reason why we urgently need more detailed information on SFD. In what ways does the fungus affect its host? Which factors eventually lead to the death of an infected individual? Which factors make snakes more vulnerable to fungal infection? What are the population level impacts of SFD in different species? How do different environmental factors affect fungus population dynamics?

In lack of more detailed information it is not yet possible to estimate the global importance of SFD to snakes and their conservation. Researchers focused on the disease are also trying to find effective treatments against it. In case of critically endangered snake populations the fate of even one snake individual can be crucial; under such circumstances one option is trying to rehabilitate the infected snake in captivity. Any treatment enhancing general health can assist the animal in fighting off the disease. Treatments with antifungal agents (fungicides) have not yet provided consistent positive results. Until we know more about

antischimmelmiddelen (fungiciden) hebben nog geen consistent positief resultaat opgeleverd. Totdat we meer weten over deze ziekte, moet elke persoon die met slangen uit het wild omgaat, speciale aandacht besteden aan een goede desinfectie van handen en uitrusting. Een andere voorzorgsmaatregel is dat gereedschappen die in het veld worden gebruikt, gescheiden moeten zijn van gereedschappen die in terraria worden gebruikt. Omdat slangen asymptomatische dragers van SSZ kunnen zijn, moet in de internationale dierenhandel met de ziekte rekening worden gehouden. Al met al streven slangenonderzoekers wereldwijd naar een verbetering van het beeld van slangen bij het grote publiek, zoals dat is gebeurd voor vleermuizen. De waardering voor vleermuizen is namelijk aanzienlijk toegenomen, omdat het nut dat zij hebben voor ecosystemen, en de economische waarde hiervan bekend is gemaakt (bijvoorbeeld Kunz *et al.* 2011). In dezelfde geest zullen hopelijk zowel het grote publiek als beleidsmakers het belang en de gevolgen van de bescherming van slangen en reptielen begrijpen, zowel met betrekking tot SSZ als met andere bedreigingen.

Vertaald uit het Engels door Ruud de Lang.

Eerder gepubliceerd in *Herpetomania* en met toestemming van de redactie gepubliceerd in *Litteratura Serpentina*.

this disease, any person handling wild snakes should pay special attention to proper disinfection of hands and equipment. As another precaution, tools used in the field should be separate from tools used in terrariums. As snakes can be asymptomatic carriers of SFD, the disease should be taken into consideration in international animal trade. All in all, snake researchers worldwide are striving for a similar enhancement in the public image of snakes that has happened for bats. The appreciation for bats has namely increased markedly since the ecosystem services they provide and the economic value of these services have been made known (e.g. Kunz *et al.* 2011). In a similar vein, hopefully both the general public and policy makers will understand the importance and repercussions of snake and reptile conservation, both regarding SFD and other threats.

First published in *Herpetomania* 26 (2017) and with permission republished in *Litteratura Serpentina*.

Referenties - References

- 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. *Emerging Infectious Diseases* 17: 2383-2384.
- Allender, M.C., Raudabaugh, D.B., Gleason, F.H. & Miller, A.N. 2015: The natural history, ecology, and epidemiology of *Ophidiomyces ophiodiicola* and its potential impact on free-ranging snake populations. *Fungal Ecology* 17: 187-196.
- 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. *Journal of Wildlife Diseases* 39: 329-337.
- Clark, R.W., Marchand, M.N., Clifford, B.J., Stechert, R. & Stephens, S. 2011: Decline of an isolated timber rattlesnake (*Crotalus horridus*) population: interactions between climate change, disease, and loss of genetic diversity. *Biological Conservation* 144: 886-891.
- Franklinos, L.H.V., Lorch, J.M., Bohuski, E., Rodriguez-Ramos Fernandez, J., Wright, O.N., Fitzpatrick, L., Petrovan, S., Durrant, C., Linton, C., Baláz, V., Cunningham, A.A. & Lawson, B. 2017: Emerging fungal pathogen *Ophidiomyces ophiodiicola* in wild European snakes. *Nature Scientific Reports* 7: 3844.
- Kunz, T.H., Braun de Torrez, E., Bauer, D., Lobova, T. & Fleming, T.H. 2011: Ecosystem services provided by bats. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1223: 1-38.
- 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: e01534-15.
- 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 Jr, J.F.X. & Blehert, D.S. 2016: Snake fungal disease: an emerging threat to wild snakes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 371: 20150457.