Tratamento de anfíbios infectados pelo fungo quitrídio do gênero *Batrachochytrium*

Luiz Fernando Moreno[1,2], Paula Morão[1], Luís Felipe Toledo[1]

[1] *Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Laboratório de História Natural de Anfíbios Brasileiros (LaHNAB). Rua Monteiro Lobato, 255, Cidade Universitária, CEP 13083-862, Campinas, SP, Brasil.*
[2] *E-mail: lfmoreno.lima@gmail.com*

INTRODUÇÃO

Opções para tratamento de anfíbios infectados por *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) ou *B. salamandrivorans* (*Bs*) já existem e são de extrema importância para conservação de espécies em declínio (*e.g.,* Daly *et al.,* 2008; Woodhams *et al.,* 2011; Blooi *et al.,* 2015). Além da própria preservação de espécies em ambiente natural, o tratamento também é utilizado para desinfecção de animais submetidos a experimentos laboratoriais (*e.g.,* Becker *et al.,* 2014), ou mesmo para desinfecção de animais de estimação, animais expostos em zoológicos, ou mesmo anfíbios comercializados por ranários.

Nos últimos anos diversos tratamentos foram propostos e utilizados (revisões em Berger *et al.,* 2010; Baitchman e Pessier, 2013). Neste contexto, surge a dúvida de qual o melhor tratamento para cada propósito. Assim, realizamos aqui uma revisão dos tratamentos atuais, agrupando-os pelos métodos: químicos, físicos ou biológicos.

Métodos químicos

Os tratamentos químicos consistem na aplicação de substâncias químicas, geralmente através de banhos (Fig. 1), com propriedades antifúngicas, dentre as quais, a mais utilizada é o itraconazol (Forzán *et al.,* 2009; Tamukai *et al.,* 2010; Brannely *et al.,* 2012; Jones *et al.,* 2012; Une *et al.,* 2012; Georoff *et al.,* 2013; Hardy *et al.,* 2015). O itraconazol, na maioria das vezes, elimina a infecção, mas em alguns casos pode causar danos colaterais, como despigmentação cutânea (Garner *et al.,* 2009) ou mesmo levar o anfíbio ao óbito (Woodhams *et al.,* 2012). Para evitar a toxicidade do itraconazol recomenda-se administrar doses bastante diluídas, repetindo o tratamento ao longo de dias consecutivos (Brannely *et al.,* 2012; Jones *et al.,* 2012; Becker *et al.,* 2014). Como alternativas ao itraconazol, há uma gama de outras substâncias que podem ser administradas (Tabela 1). No entanto, nem todas possuem eficácia comprovada quanto à eliminação da infecção.

Métodos físicos

Os métodos físicos de tratamento consistem em elevações de temperatura do ambiente no qual os anfíbios estão (Woodhams *et al.,* 2003; Chatfield *et al.,* 2011; Geiger *et al.,* 2011). Esta estratégia visa expor o quitrídio (tanto *Bd* como *Bs*) em condição subótima quanto à faixa de crescimento máximo, entre 17 e 25°C para *Bd* (Piotrowski *et al.,* 2004) e entre 15 e 20°C para *Bs* (Blooi *et al.,* 2015). As temperaturas podem variar de 25 a 37°C e o tempo de exposição pode variar entre 1 e 98 dias. Esses tratamentos podem não curar a infecção de todos os indivíduos tratados (Chatfield *et al.,* 2011; Geiger *et al.,* 2011), mas são alternativas com menor custo e menos tóxicas que os métodos químicos (Tabela 1).

Métodos biológicos

Tratamentos biológicos consistem na inoculação de microrganismos probióticos na pele dos anfíbios, que produzem



Figura 1: Banho de itraconazol sendo aplicado em um grupo de *Adelphobates galactonotus* no Zoológico de São Paulo. Créditos: Cybele Lisboa/Zoo SP.

Tabela 1: Métodos (químicos, físicos e biológicos) utilizados para o tratamento de *Batrachochytrium dendrobatidis* e *B. salamandrivorans* (apenas um método indicado na coluna comentário). Os estágios de vida (girino, juvenil, adulto) se referem a anuros; para Caudata os tratamentos reportados foram sempre para pós-metamórficos. Cura se refere ao sucesso de cura do tratamento.

MÉTODO	ESTÁGIO DE VIDA	TRATAMENTO	DURAÇÃO DO TRATAMENTO	CURA	COMENTÁRIO	REFERÊNCIA
Métodos químicos						
Azul de Metileno	Girino	3 mg/l nos 3 primeiros dias e 6 mg/l nos 3 últimos dias	6 dias	Não	Tratamento não teve efeito	McInnes, 1999
Cloranfenicol	Adulto	Banho em solução de 10 mg/l; 5 mg de pomada	5 dias	Sim	Baixo número de indivíduos testados	Bishop *et al.*, 2009
Cloridrato de Benzalconio	Juvenil	1 mg/l; banho	3 a 7 dias	Não	—	Berger *et al.*, 2009
Fluconazol	Juvenil	25 mg/l; banho	3 a 7 dias	Não	—	Berger *et al.*, 2009
Formalina com verde-malaquita	Adulto	0,007 ml/l; banho de 24 h	8 dias (4 banhos em dias alternados)	Sim	Comumente usado em peixes, ideal para organismos aquáticos.	Parker *et al.*, 2002
General Tonic®	Girino	0,625 ml/l	7 dias	Não	Diminuição na carga de infecção, mas não curou.	Geiger e Schmidt, 2013
Itraconazol	Adulto	0,01% em solução aquosa; banho	14 dias (7 banhos em dias alternados)	Sim	Sem efeitos colaterais aparentes.	Tamukai *et al.*, 2010
Itraconazol	Adulto	0,01% em solução de Ringer; banho de 10 min	4 dias	Não	Prevalência nos indivíduos tratados menor do que nos não tratados (após 5 semanas). Itraconazol causou redução na taxa de crescimento dos indivíduos tratados.	Hardy *et al.*, 2015
Itraconazol	Adulto	0,01% em solução salina a 0,6%; banho de 5 min	11 dias	Sim	Sem efeitos colaterais.	Forzan *et al.*, 2008
Itraconazol	Adulto	0,01% em solução de Ringer; banho	14 dias	Sim	21,9% dos animais tratados se re-infectaram.	Georoff *et al.*, 2013
Itraconazol	Adulto	100 mg/l nos primeiros 3 dias, 5 mg/l nos 6 dias seguintes e 50 mg/l no último dia	10 dias	Sim	Dosagem reduzida.	Jones *et al.*, 2012
Itraconazol	Adulto	100 mgl/l, em solução com água de lago, banho de 5 min	11 dias	Não	—	Woodhams *et al.*, 2012
Itraconazol	Adulto	100 mgl/l, em solução com água de lago, banho de 5 min	5 dias	Não	—	Woodhams *et al.*, 2012
Itraconazol	Girino	0,5 a 1,5 mg/l; banho de 5 min	7 a 21 dias	Sim	Ocorreu despigmentação da pele dos girinos tratados.	Garner *et al.*, 2009
Itraconazol	Juvenil	0,0025% em solução de Ringer; banho de 5 min	6 dias	Sim	Dosagem reduzida com poucos dias de tratamento foi eficiente e diminuiu os efeitos de toxicidade do Itraconazol.	Brannely *et al.*, 2012
Itraconazol	Juvenil	100 mg/l em solução salina; banho de 5 min	3 dias	Não	Tratamento interrompido no 3º dia porque os animais morreram.	Woodhams *et al.*, 2012
Itraconazol	Juvenil	100 mg/l em solução salina a 0,6%; banho de 5 min	11 dias	Sim	—	Nichols *et al.*, 2000
Itraconazol	Salamandras	0,01% em solução com água dos tanques em que as salamandras eram criadas; banho de 5 min/dia	10 dias	Sim	No 5º dia de tratamento os animais estavam curados, sem reincidência.	Une *et al.*, 2012
Mandipropamid® – derivado de fenilglicinamidass e mandelamidas	Girino	Doses de 0.01 a 4 mg/l testadas		Não	—	Woodhams *et al.*, 2012
Nitrato de Miconazol	Juvenil	100 mg/l em solução salina a 0,6%; banho de 5 min	8 dias	Sim	Apresentou efeitos colaterais.	Nichols *et al.*, 2000
PIP Pond Plus® – mistura de bactérias probióticas indefinidas (*Bacillus* sp.), enzimas e 0,5 a 2,4% de isopropanol	Girino	25, 50 e 100 ul	7 dias	Não	—	Woodhams *et al.*, 2012
Plistopur® – Fosfato de cobre, acriflavinaHCl e P-clorofenoxetol	Girino	Banho	3 dias	Não	Animais morreram de 6 a 28 dias após a metamorfose.	Banks e McCracken, 2002

MÉTODO	ESTÁGIO DE VIDA	TRATAMENTO	DURAÇÃO DO TRATAMENTO	CURA	COMENTÁRIO	REFERÊNCIA
Steriplant® – 99,96% de água potável e 0,04% de oxidantes (NaOCl–, ClO_2, $NaClO_3$, O_3)	Girino	5 ppm, 10 ppm (5 ppm no 1º dia + 5 ppm no 2º dia) e 15 ppm (5 ppm adicionados por dia, até o 3º dia)	7 dias	Não	—	Woodhams *et al.,* 2012
Sulfato de Cobre	Adulto	1 mg/l; banhos de 30 min durante 3 dias alternados	18 dias	Não	Diagnosticado erroneamente como *Basidiobolusranarum*	Groff *et al.,* 1991
Tiofanato-metilo	Girino	0,6 mg/l	—	Sim	Além de curar a infecção pode facilitar o crescimento e desenvolvimento dos girinos.	Hanlon *et al.,* 2012
Tribrissen® – Trimetroprima e sulfadiazina	Juvenil	1 g/l; banho de 5 min	11 dias	Não	Tempo até a morte retardada pelo tratamento; carga de infecção baixa nos sobreviventes, observado por histologia aos 63 dias pós-infecção.	Nichols *et al.,* 2000
Métodos físicos						
Temperatura	Adulto	30°C	10 dias	Sim	27 de 28 indivíduos testados curados.	Chatfield *et al.,* 2011
Temperatura	Adulto	30°C durante a noite e 35°C nas 24 h seguintes	2 dias	Não	—	Woodhams *et al.,* 2012
Temperatura	Adulto	32°C	5 dias	Sim	—	Retallick e Miera, 2007
Temperatura	Girino	26 a 29°C	5 dias	Não	Curou a infecção na maior parte dos girinos. Pode ter ocorrido cura espontânea.	Geiger *et al.,* 2011
Temperatura	Juvenil	37°C por 8 horas	2 dias	Sim	Os animais sobreviveram 5 meses após o tratamento.	Woodhams *et al.,* 2003
Temperatura	Juvenil	27°C	98 dias	Não	—	Berger *et al.,* 2004
Temperatura	Salamandra	25°C	10 dias	Sim	Tratamento para *B. salamandrivorans*	Blooi *et al.,* 2015
Métodos biológicos						
Janthinobacteriumlividum	Adulto	$1{,}1 \times 10^7$ células	—	Não	—	Becker *et al.,* 2012
Pedobactercryoconitis	Adulto	$1{,}57 \times 10^8$ células, banho em água de lago	2 horas	Não	Esta bactéria não persistiu na pele do anuro.	Woodhams *et al.,* 2012
Peptídeos antimicrobianos isolados da pele de *Pelophylaxesculentus*	Juvenil	Banho de 2 min em 1 ml de solução a 400 ug/ml	1 dia	Não	—	Woodhams *et al.,* 2012
Violaceína (produzido pela bactéria *Janthinobacteriumlividum*)	Juvenil	$3{,}94 \times 10^8$ células	30 min de inoculação bacteriana + 48 h para colonização da pele pelas bactérias	Sim	—	Harris *et al.,* 2009

metabólitos capazes de inibir o crescimento de *Bd,* e na aplicação de peptídeos antimicrobianos isolados da pele de anfíbios resistentes ao *Bd.* Candidatos ao desenvolvimento de um probiótico geralmente são escolhidos entre a microbiota cultivável presente em hospedeiros tolerantes ao quitrídio, devendo ter a capacidade de inibir o crescimento de *Bd* ou de repelir o patógeno, tanto *in vitro,* quanto em um contexto ambiental, levando em consideração o ciclo de vida dos anfíbios. Além disso, devem ter a habilidade de resistir às defesas imunes do hospedeiro e se estabelecer entre a microbiota para contribuir na defesa antifúngica *in vivo,* sem causar danos ao anfíbio (Bletz *et al.,* 2013; Woodhams *et al.,* 2014). Em um contexto ambiental, o probiótico ideal deve ter efeitos mínimos fora da pele do hospedeiro e formar um sistema de auto-disseminação entre hospedeiro e ambiente (Bletz *et al.,* 2013).

Uma das bactérias que podem ser inoculadas na pele do anfíbio a ser tratado é *Janthinobacterium lividum* (Harris *et al.,* 2009). Esta bactéria é parte da microbiota residente da pele, mas quando se encontra em alta densidade produz um metabólito secundário (violaceína) capaz de inibir o crescimento de *Bd* (Brucker *et al.,* 2008) (Tabela 1). Além desta substância, outros dois metabólitos produzidos por bactérias, o 2,4-diacetilfloroglucinol e o indol-3-carboxaldeído, se mostraram eficientes em repelir zoósporos de *Bd* em experimento *in vitro* (Lam *et al.,* 2011).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao se escolher um método para tratar *Bd* e *Bs* deve-se levar em consideração diversos fatores, como a espécie de anfíbio, uma vez que as espécies podem possuir tolerâncias distintas (Lips *et al.,* 2003; Daszak *et al.,* 2004), a cepa de quitrídio, as quais podem apresentar virulências distintas (Farrer *et al.,* 2011) e o estágio de desenvolvimento do hospedeiro, uma vez que girinos, indivíduos recém-metamorfoseados e adultos apresentam diferenças em seus modos de vida (Wells, 2007) e diferenças quanto à susceptibilidade ao quitrídio (Bradley *et al.,* 2002). Este último caso é notório, dado que a maioria dos estudos foi realizada somente com adultos (Tabela 1).

Não há um tratamento ideal, devendo-se escolher o tratamento caso-a-caso. Por fim, os tratamentos aqui apresentados não são mutuamente exclusivos, isto é, podemos utilizar combinações entre tratamentos e cada combinação pode ter uma eficácia distinta (ver Woodhams *et al.,* 2014). Finalmente, o tratamento escolhido pode não eliminar por completo a infecção. Assim, recomendamos um exame pós-tratamento (ver métodos de diagnóstico em Lambertini *et al.,* 2013) para certificar-se de que a doença foi eliminada ou atenuada.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Cybele Lisboa e ao Zoológico de São Paulo por conceder a fotografia utilizada no trabalho, à Denis O. V. Andrade e C. Guilherme Becker pela leitura de versões prévias do texto, ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) por financiamento e bolsa de produtividade concedidos à L. Felipe Toledo (processos nº 405285/2013-2 e302589/2013-9, respectivamente), uma bolsa de iniciação científica (PIBIC) concedida a Paula Morão e à Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de mestrado concedida a Luiz F. Moreno.

REFERÊNCIAS

Baitchman, E. J. e A. P. Pessier. 2013. Pathogenesis, diagnosis, and treatment of amphibian chytridiomycosis. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice,* 16: 669-685.

Banks, C. e H. McCracken. 2002. Captive management and pathology of sharp snouted day frogs, *Taudactylus acutirostris,* at Melbourne and Taronga zoos. *Em:* Queensland Frog Society, Queensland Museum. 2002. Frogs in the community. Proceedings of the Brisbane Symposium 13-14 February 1999. Natrass, A. E. O., Brisbane, Australia: 94-102.

Becker, M. H., R. N. Harris, K. P. Minbiole, C. R. Schwantes, L. A. Rollins-Smith, L. K. Reinert, R. M. Brucker, R. J. Domangue e B. Gratwicke. 2011. Towards a better understanding of the use of probiotics for preventing chytridiomycosis in Panamanian golden frogs. *Ecohealth,* 8: 501-506.

Becker, C. G., D. Rodriguez, L. F. Toledo, A. V. Longo, C. Lambertini, D. T. Corrêa, D. S. Leite, C. F. B. Haddad e K. R. Zamudio. 2014. Partitioning the net effect of host diversity on an emerging amphibian pathogen. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences,* 281: 20141796.

Berger, L., R. Speare, H. Hines, G. Marantelli, K. R. McDonald, L. F. Skerratt e M. J. Tyler. 2004. Effect of season and temperature on mortality in amphibians due to chytridiomycosis. *Australian Veterinary Journal,* 82: 434-438.

Berger, L., R. Speare, G. Marantelli e L. F. Skerratt. 2009. A zoospore inhibition technique to evaluate the activity of antifungal compounds against *Batrachochytrium dendrobatidis* and unsuccessful treatment of experimentally infected green tree frogs (*Litoria caerulea*) by fluconazole and benzalkonium chloride. *Research in Veterinary Science,* 87: 106-110.

Berger, L., R. Speare, A. Pessier, J. Voyles e L. F. Skerratt. 2010. Treatment of chytridiomycosis requires urgent clinical trials. *Diseases of Aquatic Organisms,* 92: 165.

Bradley, G. A., P. C. Rosen, M. J. Sredl, T. R. Jones, and J. E. Longcore. 2002. Chytridiomycosis in native Arizona frogs. *Journal of Wildlife Diseases,* 38: 206-212.

Bishop, P. J., R. Speare, R. Poulter, M. Butler, B. J. Speare, A. Hyatt, V. Olsen e A, Haigh. 2009. Elimination of the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* by Archey's frog *Leiopelma archeyi. Diseases of Aquatic Organisms,* 84: 9-15.

Bletz, M. C., A. H. Loudon, M. H. Becker, S. C. Bell, D. C. Woodhams, K. P. Minbiole e R. N. Harris. 2013. Mitigating amphibian chytridiomycosis with bioaugmentation: characteristics of effective probiotics and strategies for their selection and use. *Ecology letters,* 16: 807-820.

Blooi, M., A. Martel, F. Haesebrouck, F. Vercammen, D. Bonte e F. Pasmans. 2015. Treatment of urodelans based on temperature dependent infection dynamics of *Batrachochytrium salamandrivorans. Scientific Reports,* 5: 8037.

Brannelly, L. A., C. L. Richards-Zawacki e A. P. Pessier. 2012. Clinical trials with itraconazole as a treatment for chytrid fungal infections in amphibians. *Diseases of Aquatic Organisms,* 101: 95.

Brannelly, L. A. 2014. Reduced itraconazole concentration and durations are successful in treating *Batrachochytrium dendrobatidis* infection in amphibians. *Journal of Visualized Experiments,* 85: e51166-e51166.

Brucker, R. M., R. N. Harris, C. R. Schwantes, T. N. Gallaher, D. C. Flaherty, B. A. Lam e K. P. Minbiole. 2008. Amphibian chemical defense: antifungal metabolites of the micro symbiont *Janthinobacterium lividum* on the salamander *Plethodon cinereus. Journal of Chemical Ecology,* 34: 1422-1429.

Chatfield, M. W. e C. L. Richards-Zawacki. 2011. Elevated temperature as a treatment for *Batrachochytrium dendrobatidis* infection in captive frogs. *Diseases of aquatic organisms,* 94: 235-238.

Daly, G., P. Johnson, G. Malolakis, A. Hyatt e R. Pietsch. 2008. Reintroduction of the Green and Golden Bell Frog *Litoria aurea* to Pambula on the south coast of New South Wales. *Australian Zoologist,* 34: 261-270.

Daszak, P., A. Strieby, A. A. Cunningham, J. E. Longcore, C. C. Brown e D. Porter. 2004. Experimental evidence that the bullfrog (*Rana catesbeiana*) is a potential carrier of chytridiomycosis, an emerging fungal disease of amphibians. *Herpetology Journal,* 14: 201-207.

Farrer, R. A., L. A. Weinert, J. Bielby, T. W. Garner, F. Balloux, F. Clare, J. Bosch, A. A. Cunningham, C. Weldon, L. H. Preez, L. Anderson, S. L. K. Pond, R. Shahar-Golan, D. A. Henk e M. C. Fisher. 2011. Multiple emergences of genetically diverse amphibian-infecting chytrids include a globalized hypervirulent recombinant lineage. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 108: 18732-18736.

Forzán, M. J., H. Gunn e P. Scott. 2008. Chytridiomycosis in an aquarium collection of frogs: diagnosis, treatment, and control. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine,* 39: 406-411.

Garner, T. W. J., G. Garcia, B. Carroll e M. C. Fisher. 2009. Using itraconazole to clear *Batrachochytrium dendrobatidis* infection, and subsequent depigmentation of *Alytes muletensis* tadpoles. *Diseases of Aquatic Organisms,* 83: 257-260.

Geiger, C. C., E. Küpfer, S. Schär, S. Wolf e B. R. Schmidt. 2011. Elevated temperature clears chytrid fungus infections from tadpoles of the midwife toad, *Alytes obstetricans. Amphibia-Reptilia,* 32: 276-280.

Geiger, C. C. e B. R. Schmidt. 2013. Laboratory tests of antifungal agents to treat tadpoles against the pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis. Diseases of Aquatic Organisms,* 103: 191-197.

Georoff, T. A., R. P. Moore, C. Rodriguez, A. P. Pessier, A. L. Newton, D. McAloose e P. P. Calle. 2013. Efficacy of treatment and long-term follow--up of *Batrachochytrium dendrobatidis* PCR-positive anurans following itraconazole bath treatment. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine,* 44: 395-403.

Groff, J. M., A. Mughannam, T. S. McDowell, A. Wong, M. J. Dykstra, F. L. Frye eR. P. Hedrick. 1991. An epizootic of cutaneous zygomycosis in cultured dwarf African clawed frogs (*Hymenochirus curtipes*) due to *Basidiobolus ranarum. Journal of Medical and Veterinary Mycology,* 29: 215-223.

Hanlon, S. M., J. L. Kerby e M. J. Parris. 2012. Unlikely remedy: Fungicide clears infection from pathogenic fungus in larval southern leopard frogs (*Lithobates sphenocephalus*). *PLoS ONE,* 7: e43573.

Hardy, B. M., K. L. Pope, J. Piovia-Scott, R. N. Brown e J. E. Foley. 2015. Itraconazole treatment reduces *Batrachochytrium dendrobatidis* prevalence and increases overwinter field survival in juvenile Cascades frogs. *Diseases of Aquatic Organisms,* 112: 243-250.

Harris, R. N., R. M. Brucker, J. B. Walke, M. H. Becker, C. R. Schwantes, D. C. Flaherty, B. A. Lam, D. C. Woodhams, C. J. Briggs, V. T. Vredenburg e K. P. Minbiole. 2009. Skin microbes on frogs prevent morbidity and mortality caused by a lethal skin fungus. *The ISME journal,* 3: 818-824.

Jones, M. E., D. Paddock, L. Bender, J. L. Allen, M. D. Schrenzel e A. P. Pessier. 2012. Treatment of chytridiomycosis with reduced-dose itraconazole. *Diseases of Aquatic Organisms,* 99: 243-249.

Lam, B. A., D. B. Walton e R. N. Harris. 2011. Motile zoospores of Batrachochytrium dendrobatidis move away from antifungal metabolites produced by amphibian skin bacteria. *Ecohealth,* 8: 36-45.

Lambertini, C., D. Rodriguez, F. B. Brito, D. S. Leite e L. F. Toledo. 2013. Diagnóstico do fungo quitrídio: *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Herpetologia Brasileira,* 2(1): 12-17.

Lips K. R., J. D. Reeve e L. R. Witters. 2003. Ecological traits predicting amphibian population declines in Central America. *Conservation Biology,* 17: 1078-1088.

McInnes K. 1999. An investigation into the treatment of chytrid fungus in the larval stages of Australian amphibians. Tese de doutorado, Deakin University, Melbourne, Australia.

Nichols, D. K., E. W. Lamirande, A. P. Pessier e J. E. Longcore. 2000. Experimental transmission and treatment of cutaneous chytridiomycosis in poison dart frogs (*Dendrobates auratus* and *Dendrobates tinctorius*). *Proceedings of the American Association of Zoo Veterinarians and International Association for Aquatic Animal Medicine Joint Conference:* 42-44.

Parker, J. M., I. Mikaelian, N. Hahn e H. E. Diggs. 2002. Clinical diagnosis and treatment of epidermal chytridiomycosis in African clawed frogs (*Xenopus tropicalis*). *Comparative Medicine,* 52: 265-268.

Piotrowski, J. S., A. S. Annis e J. E. Longcore. 2004. Physiology of *Batrachochytrium dendrobatidis,* a chytrid pathogen of amphibians. *Mycologia,* 96: 9-15.

Retallick, R. W. e V. Miera. 2007. Strain differences in the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis* and non-permanent, sub-lethal effects of infection. *Diseases of Aquatic Organisms,* 75: 201.

Tamukai, K., Y. Une, A. Tominaga, K. Suzuki e K. Goka. 2011. Treatment of spontaneous chytridiomycosis in captive amphibians using itraconazole. *Journal of Veterinary Medical Science,* 73: 155-159.

Une, Y., K. Matsui, K. Tamukai e K. Goka. 2012. Eradication of the chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in the Japanese giant salamander *Andrias japonicus*. *Diseases of Aquatic Organisms,* 98: 243-247.

Wells, K. D. 2007. The Ecology and Behavior of Amphibians. The University of Chicago Press, Chicago, Estados Unidos, 1148 pp.

Woodhams, D. C., R. A. Alford e G. Marantelli. 2003. Emerging disease of amphibians cured by elevated body temperature. *Diseases of Aquatic Organisms,* 55: 65-67.

Woodhams, D. C., J. Bosch, C. J. Briggs, S. Cashins, L. R. Davis, A. Lauer, E. Muths, R. Puschendorf, B. R. Schmidt, B. Sheafor e J. Voyles. 2011. Mitigating amphibian disease: strategies to maintain wild populations and control chytridiomycosis. *Frontiers in Zoology,* 8: 8.

Woodhams, D. C., C. C. Geiger, L. K. Reinert, L. A. Rollins-Smith, B. Lam, R. N. Harris, C. J. Briggs, V. T. Vredenburg e J. Voyles. 2012. Treatment of amphibians infected with chytrid fungus: learning from failed trials with itraconazole, antimicrobial peptides, bacteria, and heat therapy. *Diseases of Aquatic Organisms,* 98: 11.

Woodhams, D. C., H. Brandt, S. Baumgartner, J. Kielgast, E. Küpfer, U. Tobler, L. R. Davis, L. R. Benedikt, R. Schmidt, C. Bel, S. Hodel, R. Knight e V. McKenzie. 2014. Interacting symbionts and immunity in the amphibian skin mucosome predict disease risk and probiotic effectiveness. *PLoS ONE,* 9: e96375.



Hypsiboas prasinus, **Ponta Grossa, PR - Foto:** Magno Segalla.