

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

Luiz Fernando Moreno^{1,2}, Paula Morão¹, Luís Felipe Toledo¹

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 <i>et al.</i> , 2009
Cloridrato de Benzalconio	Juvenil	1 mg/l; banho	3 a 7 dias	Não	—	Berger <i>et al.</i> , 2009
Fluconazol	Juvenil	25 mg/l; banho	3 a 7 dias	Não	—	Berger <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 2015
Itraconazol	Adulto	0,01% em solução salina a 0,6%; banho de 5 min	11 dias	Sim	Sem efeitos colaterais.	Forzan <i>et al.</i> , 2008
Itraconazol	Adulto	0,01% em solução de Ringer; banho	14 dias	Sim	21,9% dos animais tratados se re-infectaram.	Georoff <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 2012
Itraconazol	Adulto	100 mg/l, em solução com água de lago, banho de 5 min	11 dias	Não	—	Woodhams <i>et al.</i> , 2012
Itraconazol	Adulto	100 mg/l, em solução com água de lago, banho de 5 min	5 dias	Não	—	Woodhams <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 2012
Itraconazol	Juvenil	100 mg/l em solução salina a 0,6%; banho de 5 min	11 dias	Sim	—	Nichols <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 2012
Mandipropamid® – derivado de fenilglicinamidas e mandelamidas	Girino	Doses de 0.01 a 4 mg/l testadas		Não	—	Woodhams <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 2000
PIP Pond Plus® – mistura de bactérias probióticas indefinidas (<i>Bacillus</i> sp.), enzimas e 0,5 a 2,4% de isopropanol	Girino	25, 50 e 100 ul	7 dias	Não	—	Woodhams <i>et al.</i> , 2012
Plistipur® – 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 <i>et al.</i> , 2012
Sulfato de Cobre	Adulto	1 mg/l; banhos de 30 min durante 3 dias alternados	18 dias	Não	Diagnosticado erroneamente como <i>Basidiobolus ranarum</i>	Groff <i>et al.</i> , 1991
Tiofanato-metilo	Girino	0,6 mg/l	—	Sim	Além de curar a infecção pode facilitar o crescimento e desenvolvimento dos girinos.	Hanlon <i>et al.</i> , 2012
Tribissen® – Trimetoprima 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 <i>et al.</i> , 2000
Métodos físicos						
Temperatura	Adulto	30°C	10 dias	Sim	27 de 28 indivíduos testados curados.	Chatfield <i>et al.</i> , 2011
Temperatura	Adulto	30°C durante a noite e 35°C nas 24 h seguintes	2 dias	Não	—	Woodhams <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 2011
Temperatura	Juvenil	37°C por 8 horas	2 dias	Sim	Os animais sobreviveram 5 meses após o tratamento.	Woodhams <i>et al.</i> , 2003
Temperatura	Juvenil	27°C	98 dias	Não	—	Berger <i>et al.</i> , 2004
Temperatura	Salamandra	25°C	10 dias	Sim	Tratamento para <i>B. salamandrivorans</i>	Blooi <i>et al.</i> , 2015
Métodos biológicos						
<i>Janthinobacterium lividum</i>	Adulto	1,1 × 10 ⁷ células	—	Não	—	Becker <i>et al.</i> , 2012
<i>Pedobacter cryocanis</i>	Adulto	1,57 × 10 ⁸ células, banho em água de lago	2 horas	Não	Esta bactéria não persistiu na pele do anuro.	Woodhams <i>et al.</i> , 2012
Peptídeos antimicrobianos isolados da pele de <i>Pelophylax esculentus</i>	Juvenil	Banho de 2 min em 1 ml de solução a 400 µg/ml	1 dia	Não	—	Woodhams <i>et al.</i> , 2012
Violaceína (produzido pela bactéria <i>Janthinobacterium lividum</i>)	Juvenil	3,94 × 10 ⁸ células	30 min de inoculação bacteriana + 48 h para colonização da pele pelas bactérias	Sim	—	Harris <i>et al.</i> , 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 e 302589/2013-9, 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. Gallaheer, 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. Striemy, 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. Kúpfer, 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 e R. 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 sphenoccephalus*). *PLoS ONE*, 7: e43573.
- Hardy, B. M., K. L. Pope, J. Piovio-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.