

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

**Ocorrência de hemoparasitas em cães: diagnóstico molecular e avaliação de
coinfecções**

São Luís - MA
2026

RAFAEL JEFFERSON DOS SANTOS COSTA

**Ocorrência de hemoparasitas em cães: diagnóstico molecular e avaliação de
coinfecções**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual do Maranhão, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Área de Concentração: Medicina Veterinária Preventiva, Reprodução e Conservação Animal.

Linha de Pesquisa: Epidemiologia, Patogênese e Controle de Doença de Animais e Microbiologia dos Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Alcina Vieira de Carvalho Neta.

Coorientadora: Profa. Dra. Ellainy Maria Conceição Silva.

São Luís - MA
2026

Costa, Rafael Jefferson dos Santos.

Ocorrência de hemoparasitas em cães: diagnóstico molecular e avaliação de coinfeções ./ Rafael Jefferson dos Santos Costa. - São Luís - MA, 2026.
60f.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Maranhão, 2026.

Orientadora: Profa. Dra. Alcina Vieira de Carvalho Neta.
Coorientadora: Profa. Dra. Ellainy Maria Conceição Silva

1. Hemoparasitoses. 2. Cães. 3. Biologia molecular. 4. Epidemiologia.
I. Título.

CDU:636.7.09

Elaborado por Luciana de Araújo - CRB 13/445



Universidade Estadual do Maranhão
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

ATA N° 124

Aos quatorze dias do mês de abril do ano de dois mil e vinte e seis, às 09h00min, compareceu na Sala de Aula II - LAMP/UEMA, o Pós-Graduando Rafael Jefferson dos Santos Costa (CPF [redacted]), para apresentar e defender a Dissertação intitulada "OCORRÊNCIA DE HEMOPARASITAS EM CÃES: DIAGNÓSTICO MOLECULAR E AVALIAÇÃO DE COINFECÇÕES", perante a Banca Examinadora de Dissertação abaixo relacionada. Após a apresentação e arguição pelos membros da Banca, o Pós-Graduando foi considerado (Reprovado/Aprovado), **APROVADO**, conferindo-lhe o título de "Mestre em Ciência Animal", conforme as normas vigentes na Universidade Estadual do Maranhão UEMA. Encerrados os trabalhos, foi lavrada a presente ATA que, após lida por mim, professora Dra. Alcina Vieira de Carvalho Neta (Orientadora), e aprovada, recebeu a assinatura dos membros da Banca. A versão final da Dissertação deverá ser entregue ao Programa, no prazo de 60 dias, contendo as modificações sugeridas pela banca examinadora e constantes na folha de correção anexa, conforme o Art. 59º §3º do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal PPGCA/UEMA. O Pós-graduando não terá o título se não cumprir as exigências acima.

Dr. (a) RENATA MONDÊGO DE OLIVEIRA, UEMA

Examinador(a) Externo à Instituição

Documento assinado digitalmente
 **RENATA MONDEGO DE OLIVEIRA**
Data: 08/05/2026 09:35:58-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Dr. (a) RITA DE MARIA SEABRA NOGUEIRA, UEMA

Examinador(a) Interno

Documento assinado digitalmente
 **RITA DE MARIA SEABRA NOGUEIRA**
Data: 07/05/2026 21:45:16-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Dr. (a) ALCINA VIEIRA DE CARVALHO NETA, UEMA

Presidente(a)

Documento assinado digitalmente
 **ALCINA VIEIRA DE CARVALHO NETA**
Data: 07/05/2026 12:52:49-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

RAFAEL JEFFERSON DOS SANTOS COSTA

Mestrando(a)

Documento assinado digitalmente
 **RAFAEL JEFFERSON DOS SANTOS COSTA**
Data: 07/05/2026 11:33:12-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por me conceder saúde, força, sabedoria e perseverança para superar os desafios e chegar até esta importante etapa da minha vida acadêmica.

Aos meus pais pelo amor, incentivo e apoio dedicados a mim, e por me conduzirem pelo caminho da educação, que forjou meu caráter e meus valores. Obrigado por todas as orações que, com certeza, me ajudaram a chegar até aqui. Agradeço também à minha irmã pela cumplicidade e por sempre torcer pelo meu sucesso, incentivando meu crescimento.

À minha companheira de vida, Naylla Costa, por ser meu apoio diário e minha maior incentivadora, deixo minha profunda gratidão.

À minha orientadora, Profa. Dra. Alcina Vieira, expresso minha profunda gratidão pela confiança, paciência, disponibilidade e valiosa orientação nesta pesquisa. Além da oportunidade de ingressar no mestrado, sua orientação me proporcionou importantes oportunidades de crescimento profissional. À minha coorientadora, Profa. Dra. Ellainy Maria, agradeço pelo suporte, pelas sugestões, pela atenção dedicada e pelas contribuições científicas que enriqueceram este estudo e minha trajetória no diagnóstico veterinário.

À equipe do Laboratório de Patologia Molecular da Universidade Estadual do Maranhão, pelo acolhimento e por todo o suporte prestado na realização das análises que possibilitaram a execução e a conclusão deste projeto. Em especial, a Anna Letícia, Sarah Cristina e Maria Luísa, pela convivência, apoio e parceria ao longo dessa trajetória.

À Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) e à Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA), pelo suporte essencial ao desenvolvimento desta pesquisa.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho, deixo meus mais sinceros agradecimentos. Nenhuma pesquisa é construída de forma isolada, e cada apoio, orientação, conhecimento e recurso oferecido foi fundamental para a execução deste estudo. Muito obrigado.

RESUMO

Doenças transmitidas por carrapatos em cães constituem um desafio relevante para a clínica veterinária em áreas urbanas de regiões tropicais. Em São Luís, Maranhão, Brasil, a circulação dos patógenos do gênero *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Babesia* e *Hepatozoon* é presumida com base em estudos sorológicos prévios, porém pouco documentada por métodos moleculares que permitam detecção sensível, identificação específica de espécies e avaliação de coinfeções. Este estudo objetivou estimar a frequência desses agentes e descrever os padrões de coinfeção em cães atendidos no Hospital Veterinário Francisco Edilberto Uchoa Lopes da Universidade Estadual do Maranhão. Realizou-se um inquérito molecular com 200 amostras de sangue total coletadas entre novembro/2024 e setembro/2025. O DNA foi extraído por kit comercial, com triagem por qPCR multiplex para *Ehrlichia . canis*, *Anaplasma platys* e *Babesia* spp., e nested PCR para *Hepatozoon* spp. Desse modo, amostras positivas foram confirmadas por sequenciamento de Sanger e BLASTn. Observou-se 39% (78/200) de positividade para pelo menos um agente: 23% (46/200) para *E. canis*, 16,5% (33/200) para *A. platys*, 13% (26/200) para *Babesia* spp. e 3% (6/200) para *Hepatozoon* spp. Dentre as amostras positivas, 32 apresentaram coinfeções. Nesse contexto, a associação mais comum foi entre *A. platys* e *E. canis* (10%; 20/200), seguida por *E. canis* e *Babesia* spp. (4,5%; 9/200). As demais combinações ocorreram com frequência de 0,5% cada (1/200): *A. platys* + *Babesia* spp., *E. canis* + *Hepatozoon* spp. e coinfeção tripla. O sequenciamento confirmou *Babesia vogeli*, *A. platys*, *E. canis* e *Hepatozoon canis* (98,53-100% identidade com isolados nacionais/internacionais). Não houve diferença significativa por sexo ou faixa etária ($p>0,05$), mas tendência maior em cães >5 anos. Os achados evidenciam a circulação de hemoparasitas em cães de São Luís com predominância de *E. canis* e notável ocorrência de coinfeções, contribuindo para o conhecimento epidemiológico dessas infecções.

Palavras-chave: hemoparasitoses, cães, biologia molecular, epidemiologia.

ABSTRACT

Tick-borne diseases in dogs represent a significant challenge for veterinary practice in urban areas of tropical regions. In São Luís, Maranhão, Brazil, the circulation of pathogens from the genera *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Babesia*, and *Hepatozoon* has been presumed based on previous serological studies, but remains poorly documented using molecular methods that allow sensitive detection, species-level identification, and assessment of coinfections. This study aimed to estimate the frequency of these agents and describe coinfection patterns in dogs treated at the Veterinary Hospital “Francisco Edilberto Uchoa Lopes” of the State University of Maranhão. A molecular survey was conducted using 200 whole blood samples collected between November 2024 and September 2025. DNA was extracted using a commercial kit, followed by screening with multiplex qPCR for *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, and *Babesia* spp., and nested PCR for *Hepatozoon* spp. Positive samples were confirmed by Sanger sequencing and BLASTn analysis. Overall, 39% (78/200) of samples were positive for at least one agent: 23% (46/200) for *E. canis*, 16.5% (33/200) for *A. platys*, 13% (26/200) for *Babesia* spp., and 3% (6/200) for *Hepatozoon* spp. Among positive samples, 32 presented coinfections. The most frequent association was *A. platys* + *E. canis* (10%; 20/200), followed by *E. canis* + *Babesia* spp. (4.5%; 9/200). Other combinations occurred at a frequency of 0.5% each (1/200): *A. platys* + *Babesia* spp., *E. canis* + *Hepatozoon* spp., and triple coinfection. Sequencing confirmed *Babesia vogeli*, *A. platys*, *E. canis*, and *Hepatozoon canis* (98.53–100% identity with national and international isolates). No significant differences were observed regarding sex or age group ($p > 0.05$), although a higher frequency trend was noted in dogs older than 5 years. These findings demonstrate the circulation of hemoparasites in dogs from São Luís, with predominance of *E. canis* and a notable occurrence of coinfections, contributing to the epidemiological understanding of these infections.

Keywords: hemoparasitoses; dogs; molecular biology; epidemiology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Frequência absoluta de cães positivos para hemoparasitas, estratificada por sexo, em cães de São Luís, MA.....	28
Figura 2. Padrões de infecção e coinfecção por hemoparasitas em cães de São Luís, MA, visualização em UpSet plot.	30

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1. Alvos moleculares, tamanho dos fragmentos e iniciadores utilizados nas reações de PCR para detecção de *Babesia* spp., *Anaplasma* spp., *Hepatozoon* spp., *Ehrlichia* spp, conforme descrito na literatura. 24

Tabela 1. Frequência de detecção de hemoparasitas em cães de São Luís, MA, por técnicas de diagnóstico molecular (qPCR multiplex e PCR convencional). 26

Tabela 2. Frequência de detecção de hemoparasitas por faixa etária em cães de São Luís, MA, determinada por métodos moleculares (qPCR multiplex e PCR convencional).
..... 29

Tabela 3. Identidade de sequências de *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Ehrlichia* spp. e *Hepatozoon* spp. obtidas neste estudo, com base em alinhamento com sequências do GenBank. 31

LISTA DE ABREVIACÕES

ALP – Fosfatase alcalina.

ALT – Alanina aminotransferase.

AST – Aspartato aminotransferase.

BLASTn – *Basic Local Alignment Search Tool* (nucleotídeos).

CEEA – Comissão de Ética e Experimentação Animal.

Ct – Cycle threshold (ciclo limiar).

DNA – Ácido desoxirribonucleico.

dNTPs – Desoxinucleotídeos trifosfato.

EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético.

ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.

FAM / HEX / ROX – Fluoróforos/canais de detecção em qPCR.

GenBank – Base de dados do NCBI para sequências genéticas.

LAMP – Loop-mediated Isothermal Amplification.

MgCl₂ – Cloreto de magnésio.

NCBI – National Center for Biotechnology Information.

PCR – Reação em cadeia da polimerase.

qPCR – PCR em tempo real.

RIFI – Reação de Imunofluorescência Indireta.

rRNA 16S / 18S – Genes do RNA ribossomal.

UEMA – Universidade Estadual do Maranhão.

LISTA DE SIMBOLOS

°C – Graus Celsius.

μL – Microlitro

mL – Mililitro.

pb (bp) – Pares de bases (*base pairs*).

% – Porcentagem.

χ^2 – Estatística do teste do qui-quadrado de Pearson.

p – Nível descritivo do teste (valor de p).

gl – Graus de liberdade do teste estatístico.

$\leq / \geq$ – Menor/menor ou igual.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2.1 Gênero <i>Ehrlichia</i>.....	10
2.1.1 Panorama epidemiológico de <i>Ehrlichia</i> spp.....	11
2.2 Gênero <i>Anaplasma</i>.....	12
2.2.1 Panorama epidemiológico de <i>Anaplasma</i> spp.....	13
2.3 Gênero <i>Babesia</i>.....	14
2.3.1 Panorama epidemiológico de <i>Babesia</i> spp.....	16
2.4 Gênero <i>Hepatozoon</i>.....	17
2.4.1 Panorama epidemiológico de <i>Hepatozoon</i> spp.	18
2.5 Métodos diagnósticos laboratoriais para hemoparasitas	19
3 OBJETIVOS	21
3.1 Geral.....	21
3.2 Específicos.....	21
4 MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1 Comitê de ética	21
4.2 Amostragem.....	21
4.3 Coleta de Amostras Biológicas.....	22
4.4 Extração de DNA	22
4.5 Amplificação de DNA simultânea de <i>Babesia</i> spp., <i>Ehrlichia canis</i> e <i>Anaplasma platys</i>.....	22
4.6 Amplificação do DNA de <i>Hepatozoon</i> spp.	22
4.7 Ensaio de PCR e nested PCR para identificação das espécies	23
4.7.1 Purificação e sequenciamento	25
4.7.2 Análise das sequências	25
4.8 Análise Estatística	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
6 CONCLUSÕES.....	35
REFERÊNCIAS.....	36
ANEXO A.....	56

1 INTRODUÇÃO

A detecção de agentes infecciosos em populações caninas é uma ferramenta essencial para o monitoramento epidemiológico e para o avanço das estratégias de controle em saúde animal. Entre os hemoparasitas de maior relevância na medicina veterinária, destacam-se os gêneros *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Babesia* e *Hepatozoon*, que apresentam ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais, incluindo áreas urbanas e periurbanas do Brasil (Dantas-Torres *et al.*, 2012; Evaristo *et al.*, 2024; Savić *et al.*, 2014).

Os parasitas dos gêneros *Ehrlichia* spp. e *Anaplasma* spp. são bactérias Gram-negativas da ordem Rickettsiales (família Anaplasmataceae), com transmissão vetorial mediada por carrapatos, como *Rhipicephalus sanguineus* (Dantas-Torres, 2021; Tortora *et al.*, 2017). Por sua vez, *Babesia* spp. são protozoários intraeritrocitários da ordem Piroplasmida (família Babesiidae), transmitidos também por carrapatos, com destaque para *Rhipicephalus* e *Ixodes* spp. (Jalovecka *et al.*, 2019). Já o gênero *Hepatozoon*, pertencente à Ordem Adeleorina (família Hepatozoidae), tem como hospedeiros definitivos os carrapatos *R. sanguineus* e algumas espécies de *Amblyomma* spp. (Baneth *et al.*, 2007). Os cães se infectam por meio da ingestão desses carrapatos contendo oocistos, atuando como hospedeiros intermediários no ciclo do parasito (Monteiro *et al.*, 2017).

Embora a ocorrência de hemoparasitas em cães seja bem documentada no Brasil (Paschoal *et al.*, 2020; França *et al.*, 2025), no Maranhão, especialmente em São Luís, ainda são limitados os estudos moleculares recentes que avaliem não apenas a detecção, mas também os perfis de coinfeção entre esses agentes. Nesse contexto, destaca-se o estudo sorológico e molecular conduzido por Costa *et al.* (2015) na microrregião de Chapadinha (MA), que detectou, em cães, *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis* e *Rickettsia* spp., com infecções confirmadas por PCR e associadas à alta infestação por carrapatos dos complexos *R. sanguineus* e *Amblyomma*. Além disso, Silva *et al.* (2012) confirmaram, por PCR, a presença de *Babesia canis vogeli* em cães e em *R. sanguineus* na microrregião de Imperatriz, na mesorregião do Oeste Maranhense, demonstrando a circulação do agente e de seu vetor em diferentes localidades do estado.

Métodos parasitológicos e sorológicos, embora amplamente utilizados, podem apresentar limitações relacionadas à sensibilidade, especificidade e capacidade de diferenciar espécies e estágios de infecção (Mehrotra *et al.*, 2025). Nesse cenário, técnicas moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR) e a PCR em tempo real

(qPCR) têm se consolidado como abordagens altamente sensíveis e específicas, permitindo não apenas a detecção direta do material genético dos agentes, mas também a sua quantificação e posterior sequenciamento para confirmação de espécies (Reithinger, Dujardin, 2007, Galluzzi *et al.*, 2018).

A utilização dos métodos moleculares tem possibilitado avanços significativos na vigilância de doenças transmitidas por vetores, sobretudo ao identificar infecções em fases iniciais ou subclínicas e ao detectar coinfeções que poderiam passar despercebidas por métodos convencionais (Dordio *et al.*, 2021). Além disso, a análise genética das cepas circulantes contribui para o entendimento da diversidade molecular dos agentes e suas implicações na epidemiologia e no controle das infecções (Sádlová *et al.*, 2024).

Diante da importância desses patógenos, a realização de estudos que envolvam a detecção molecular e a caracterização genética em cães é essencial para apoiar ações de vigilância em saúde e aprofundar o conhecimento sobre a circulação desses microrganismos em regiões endêmicas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Gênero *Ehrlichia*

Pertencente à família Anaplasmataceae e à ordem Rickettsiales, o gênero *Ehrlichia* compreende bactérias gram-negativas, intracelulares obrigatórias, que se replicam em vacúolos citoplasmáticos de células do hospedeiro, principalmente monócitos e macrófagos (Greene, 2011). O gênero inclui várias espécies de importância veterinária e humana, cada uma associada a hospedeiros específicos. *E. canis* parasita canídeos, como cães, lobos e chacais (Thrall, 2015). Por sua vez, *E. chaffeensis* e *E. ewingii* infectam humanos, antílopes e cães, enquanto *E. muris* tem como principais hospedeiros roedores e também pode infectar humanos. *E. ruminantium* é encontrada em ruminantes e pode acometer humanos (Monteiro, 2017).

O ciclo de *E. canis* tem início quando o carrapato vetor, geralmente *R. sanguineus*, se alimenta de um cão infectado e ingere o agente (Ferrolho *et al.*, 2025). Após o repasto, a bactéria multiplica-se no trato digestivo, infectando o epitélio do intestino médio, hemócitos e glândulas salivares do carrapato (Smith *et al.*, 1976). Essa característica garante a transmissão transtadial, permitindo que o patógeno seja mantido de um estágio de desenvolvimento para o outro, por exemplo, de larva para ninfa ou de ninfa para adultos (Ipek *et al.*, 2018). Embora Oliveira *et al.* (2019) tenham detectado DNA de *E. canis* nos ovários de carrapatos *R. sanguineus*, sugerindo a possibilidade de

transmissão transovariana, até o momento não há comprovação de que essa via de transmissão realmente ocorra, ou seja, que o agente seja transferido para os ovos e resulte na infecção da progênie (Oliveira *et al.*, 2019; Ravindran *et al.*, 2023).

No hospedeiro mamífero, a bactéria apresenta tropismo por monócitos/macrófagos, nos quais se replica em vacúolos citoplasmáticos, formando mórulas, e dissemina-se pelo sistema fagocitário mononuclear, com predileção por baço, linfonodos, fígado e medula óssea. Consequentemente, as principais repercussões incluem inflamação vascular e disfunção hematopoiética (Aziz *et al.*, 2022, Levenhagen *et al.*, 2013). Cães infectados por *E. canis* podem apresentar sinais clínicos e alterações laboratoriais de caráter inespecífico, o que torna o diagnóstico um desafio (Espino-Solís *et al.*, 2023). Além disso, a doença pode variar desde formas leves, muitas vezes subclínicas, até quadros graves e potencialmente fatais, caracterizados por mielossupressão (Waner; Harrus *et al.*, 2013). Entre os sinais clínicos mais comuns estão febre, depressão, anorexia, linfadenomegalia, letargia, esplenomegalia, palidez das mucosas e petéquias em membranas mucosas, sendo que, em fases mais crônicas, podem ocorrer edemas em membros posteriores, estomatite ulcerativa, icterícia e sinais neurológicos (Elitok; Ungur 2016; Meneses *et al.*, 2008; Mylonakis; Theodorou, 2017).

Na erliquiose monocítica canina, os achados laboratoriais incluem trombocitopenia, anemia leve e leucopenia na fase aguda, que podem persistir na fase subclínica (Greene, 2015). Infecções crônicas podem levar a pancitopenia e alterações bioquímicas, como hipoalbuminemia, hiperglobulinemia e elevação de enzimas hepáticas (Kottadamane *et al.*, 2017). Ademais, alterações em níveis graves como anemia, leucopenia, hipopotassemia, prolongamento do tempo de tromboplastina parcial ativada e trombocitopenia, sobretudo quando associadas à pancitopenia, indicam pior prognóstico em cães com erliquiose. Já valores próximos da normalidade nesses parâmetros estão ligados a maior chance de sobrevivência (Shipov *et al.*, 2008).

2.1.1 Panorama epidemiológico de *Ehrlichia* spp.

Espécies de *Ehrlichia* apresentam distribuição mundial, com maior prevalência em regiões tropicais e subtropicais, apresentando prevalências variáveis conforme a região, o tipo de população animal e o método diagnóstico (Aziz *et al.*, 2022; Xia *et al.*, 2012). Na África, estudo sorológico revelou alta soropositividade de 31,5% em cães no Quênia e 68,5% na Tanzânia, com detecção de anticorpos contra *E. canis* e *E. ewingii* (Judy *et al.*, 2023). Na Europa, Miró *et al.* (2022) realizaram um estudo retrospectivo com

resultados de testes rápidos ELISA aplicados em clínicas veterinárias de 35 países entre 2016–2020. Nesse período, a positividade para *Ehrlichia* spp. caiu de 4,3% para 3,4%, apesar do aumento no número de testes. As taxas variaram amplamente entre países, com valores mais altos na Grécia (19,6%) e menor que 1% em países como Dinamarca, Estônia, Hungria, Eslovênia e Suécia.

Nos Estados Unidos, Gettings *et al.* (2020) analisaram 31,2 milhões de testes entre 2013–2019 e observaram aumento na soropositividade para *Ehrlichia* spp., com tendências regionais crescentes em Missouri, Arkansas, Mississippi, Alabama, Virgínia, Carolina do Norte, Geórgia e Texas. Na América do Sul, a prevalência de *E. canis* varia entre diferentes países e regiões.

Na Área Metropolitana de Buenos Aires, Argentina, um estudo detectou 6,7% de positividade em amostras analisadas por PCR (Cicuttin *et al.*, 2016). Na Colômbia, a infecção foi confirmada em 18% dos cães avaliados (Arroyave *et al.*, 2020), enquanto no Paraguai a positividade molecular alcançou 10,4% (Pérez-Macchi *et al.*, 2019). No Brasil, estudos moleculares indicam taxas de 30,8% em Porto Seguro, Bahia (Carvalho *et al.*, 2024), e 13,7% em uma região costeira do Ceará (Fonsêca *et al.*, 2022). Na zona sul de São Paulo, 42,6% dos cães avaliados foram positivos em testes sorológicos, porém apenas 16,7% apresentaram positividade concomitante nos testes sorológicos e moleculares (Queiroz *et al.*, 2022). Na região semiárida do Rio Grande do Norte, 13,3% dos animais testaram positivo por nested-PCR (Nogueira *et al.*, 2024). Um levantamento mais abrangente, envolvendo 49 municípios de diferentes regiões do Brasil, revelou uma soroprevalência geral de 56% para *E. canis*, com maior frequência no Centro-Oeste (57,2%) e menor no Sul (16,3%), utilizando ELISA (Taques *et al.*, 2020).

2.2 Gênero *Anaplasma*

As bactérias do gênero *Anaplasma* pertencem à família Anaplasmataceae, ordem Rickettsiales, são gram-negativas, intracelulares obrigatórias, com tropismo por células sanguíneas específicas (Rar *et al.*, 2021). A espécie *A. platys* parasita preferencialmente plaquetas, causando a trombocitopenia cíclica canina e *Anaplasma phagocytophilum* infecta neutrófilos, sendo o agente da anaplasmoose granulocítica (Atif, 2016; Da Silva *et al.*, 2016; Stuen *et al.*, 2013). Além disso, já foram relatados casos de infecção humana por *A. platys* e *A. phagocytophilum*, com confirmação molecular do agente em pacientes expostos a carrapatos, o que evidencia o potencial zoonótico do patógeno (Arraga-Alvarado *et al.*, 2014; Breitschwerdt *et al.*, 2014).

O ciclo biológico de *Anaplasma* spp. envolve a multiplicação da bactéria em células específicas do hospedeiro vertebrado e a manutenção nos carrapatos ixodídeos (Perveen *et al.*, 2023; Rar *et al.*, 2021). Após o vetor realizar o repasto em animais infectados, as bactérias colonizam inicialmente o epitélio do intestino médio do carrapato, onde ocorre a primeira multiplicação (Monteiro, 2017). Em seguida, migram para as glândulas salivares, completando outro ciclo replicativo e sendo liberadas na saliva, o que possibilita a infecção de novos hospedeiros durante futuros repastos (Ueti, 2009). Essa transmissão é caracteristicamente transestadial, ocorrendo entre os diferentes estágios de desenvolvimento do vetor (larva, ninfa e adulto), mas não se perpetua de forma transovariana (Aktas; Ozubek, 2018; Snellgrove, *et al.*, 2020)

Em cães, a infecção por *A. platys* está relacionada principalmente a febre, letargia, anorexia, emagrecimento progressivo e manifestações hemorrágicas como petéquias e epistaxe, além de mucosas pálidas e linfadenomegalia em infecções mais intensas (Bouzouraa *et al.*, 2016; Nair *et al.*, 2016). *A. phagocytophilum* pode causar hipertemia, inapetência, dor articular, linfadenomegalia, esplenomegalia, vômito, diarreia, trombocitopenia, podendo ainda evoluir com sinais respiratórios ou neurológicos em casos complicados (Kohn *et al.*, 2008; Teodorowski *et al.*, 2021).

Entre as alterações hematológicas observadas em cães infectados por *Anaplasma*, a trombocitopenia se destaca como o achado mais consistente, sendo registrada em praticamente todos os animais positivos em alguns estudos e considerada a alteração mais comum tanto nas infecções por *A. platys* quanto por *A. phagocytophilum*. Além disso, outras anormalidades relatadas incluem queda no nível de hematócrito, elevação dos níveis das enzimas hepáticas e hiperbilirrubinemia (Bouzouraa *et al.*, 2016; Chirek *et al.*, 2018; Teodorowski *et al.*, 2021).

2.2.1 Panorama epidemiológico de *Anaplasma* spp.

A presença de *Anaplasma* em cães é reconhecida mundialmente, com ampla documentação na Europa. Para *A. phagocytophilum*, há registros em países como Áustria, Alemanha, Espanha, Suécia, Portugal, Letônia, Polônia, Reino Unido, Finlândia, França, Hungria, Romênia e Suíça. A espécie *A. platys* é relatada sobretudo na bacia do Mediterrâneo, incluindo Itália, Espanha, Portugal, França, Turquia, Grécia, Croácia e Romênia (Barutzki *et al.*, 2006; De la Fuente *et al.*, 2006; Facile *et al.*, 2024; Hamel *et al.*, 2009; Kirtz *et al.*, 2007; Sainz *et al.*, 2015). Na Ásia, há relatos de *A. platys* em cães de Taiwan e da Tailândia. Ademais, estudos conduzidos na China identificaram múltiplas

espécies de *Anaplasma*, como *A. phagocytophilum*, *A. platys*, *Anaplasma bovis*, *A. ovis* e *A. capra*, infectando diversas espécies de mamíferos (Chao *et al.*, 2024; Lin *et al.*, 2023; Piratae *et al.*, 2019; Shi *et al.*, 2019). Diversas espécies do gênero estão presentes em todo o continente africano, afetando tanto animais domésticos quanto silvestres. Estudos confirmam a ocorrência de espécies como *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale*, *Anaplasma ovis*, *A. platys* e *A. phagocytophilum* em diferentes regiões, incluindo África do Norte, África Subsaariana e países como Senegal, Etiópia, Quênia, Namíbia e África do Sul (Kolo *et al.*, 2023; Matei *et al.*, 2016; Said *et al.*, 2018; Villiers *et al.*, 2025; Zobba *et al.*, 2022).

Nas Américas, as mesmas espécies de *Anaplasma* citadas anteriormente têm sido relatadas, embora com menor frequência geral. Entre as mais notificadas destacam-se *A. phagocytophilum*, *A. platys*, *A. marginale* e *A. bovis*, com registros em Brasil, México, Chile, Argentina, Colômbia, Panamá, Estados Unidos e Guiana Francesa (Bonilla-Aldana *et al.*, 2020; Cardozo *et al.*, 2007; Dahmani *et al.*, 2015; Di Cataldo *et al.*, 2021; Eiras *et al.*, 2013; El Hamiani Khatat *et al.*, 2021; Movilla *et al.*, 2016; Santamaria *et al.*, 2014).

No Brasil, investigações moleculares e sorológicas evidenciam a ampla circulação de *Anaplasma* spp. em populações caninas de áreas urbanas e rurais, com registros tanto de *A. platys* quanto de *A. phagocytophilum* em diferentes regiões do país. (França *et al.*, 2025; Lasta *et al.*, 2013; Machado *et al.*, 2010; Melo *et al.*, 2016; Minervino *et al.*, 2023; Ribeiro *et al.*, 2017; Santos *et al.*, 2011; Soares *et al.*, 2017). No Maranhão, há evidências sorológicas de infecção canina por *Anaplasma*; entretanto, faltam confirmações moleculares e sequenciamentos que caracterizem as espécies/linhagens circulantes no estado (Sousa *et al.*, 2020).

2.3 Gênero *Babesia*

O gênero *Babesia* reúne protozoários da ordem Piroplasmida e família Babesiidae, caracterizados por seu desenvolvimento no interior de eritrócitos de hospedeiros vertebrados e pela transmissão principalmente por carrapatos ixodídeos (Monteiro, 2017). A babesiose é considerada uma zoonose de importância crescente para a saúde pública, pois depende de reservatórios animais e carrapatos do gênero *Ixodes* para manter seu ciclo e alcançar o ser humano (Gray *et al.*, 2019). Casos têm sido descritos em diversos continentes desde o primeiro relato em 1957, com maior frequência na América do Norte e na Europa, onde espécies como *B. microti* e *B. divergens* são responsáveis pela maioria das infecções humanas (Skrabalo; Deanovic 1957; Young *et al.*, 2019).

O ciclo biológico de *Babesia* é heteroxeno, pois envolve dois hospedeiros distintos: o carrapato, considerado hospedeiro definitivo por abrigar a fase sexuada do parasito e os vertebrados, que funcionam como hospedeiros intermediários, onde ocorrem as fases assexuadas (Mirzayee *et al.*, 2024). Durante o repasto sanguíneo, os carrapatos infectados inoculam esporozoítos presentes na saliva, que penetram nas hemácias e se transformam em trofozoítos (Friedhoff *et al.*, 2018). Estes se multiplicam por divisão binária, originando merozoítos que, ao romperem as hemácias, invadem novas células, perpetuando a infecção. Parte dos merozoítos se diferencia em gamontes, que serão ingeridos pelo carrapato (Monteiro, 2017). No intestino do vetor ocorre a gametogonia, seguida da formação do zigoto e do oocineto, que migra para as glândulas salivares, onde se transforma em novos esporozoítos, reiniciando o ciclo ao serem transmitidos para outro hospedeiro vertebrado (Jalovecka *et al.*, 2019).

A transmissão de *Babesia* pelos carrapatos pode ocorrer por diferentes mecanismos, sendo que, na forma transtadial, o protozoário permanece viável durante as mudas do vetor, passando de um estágio de desenvolvimento para o seguinte e garantindo a continuidade da infecção (Bonnet *et al.*, 2007; Monteiro, 2017). A transmissão transovariana, por sua vez, consiste na transferência do parasito da fêmea para os ovos, culminando na infecção da progênie (Ravindra *et al.*, 2023; Friedhoff *et al.*, 2018). A transmissão intraestadial, embora menos comum, ocorre quando um carrapato, geralmente macho, transmite o parasito a outro hospedeiro ainda no mesmo estágio de vida (Antunes *et al.*, 2017; Chauvin *et al.*, 2009).

Em cães infectados por diferentes espécies de *Babesia*, os sinais clínicos e laboratoriais apresentam variações de intensidade, mas compartilham características comuns. De modo geral, observa-se letargia, anorexia, febre, mucosas pálidas, icterícia e pigmentúria, acompanhados de fraqueza, desidratação e distúrbios gastrointestinais, como vômitos e diarreia). Alterações neurológicas, arritmias e hemorragias podem ocorrer nos quadros mais graves. (Davitkov *et al.*, 2015; Salem; Farag, *et al.*, 2015).

As alterações hematológicas e bioquímicas incluem anemia, frequentemente regenerativa, e trombocitopenia, considerada o achado laboratorial mais marcante em todas as espécies de *Babesia* (Chan *et al.*, 2025). Outros distúrbios laboratoriais relatados são leucopenia ou leucocitose, hiperproteinemia, hipoalbuminemia, hipocolesterolemia, pancitopenia, bem como aumento de enzimas hepáticas, proteinúria e bilirrubinúria. Desequilíbrios eletrolíticos, como hipoglicemia, hiponatremia e hiperpotassemia,

também podem estar presentes (Leisewitz *et al.*, 2019; Leisewitz *et al.*, 2023; Salem; Farag, *et al.*, 2015)

A gravidade do quadro clínico varia de acordo com alguns fatores, entre estes a espécie envolvida: *Babesia rossi* está associada a maior patogenicidade, cursando com doença grave, alta mortalidade, sinais neurológicos e síndrome da resposta inflamatória sistêmica (Leisewitz *et al.*, 2023). Por outro lado, *Babesia gibsoni* pode causar quadros crônicos ou agudos de anemia hemolítica e trombocitopenia, com risco de letalidade. (Bilwal *et al.*, 2017; Leisewitz *et al.*, 2023). Infecções por *B. canis* tendem a apresentar evolução moderada, caracterizada por febre, anemia, icterícia e trombocitopenia (Badawi; yousif 2020; Salem; Farag, *et al.*, 2015). Já *B. vogeli* está relacionada a manifestações clínicas leves ou subclínicas, mas pode causar quadro clínico mais severo em animais imunossuprimidos (Wang *et al.*, 2018).

2.3.1 Panorama epidemiológico de *Babesia* spp.

Em cães, diversas espécies de *Babesia* são descritas. Entre elas, *B. vogeli* é a mais prevalente mundialmente, com registros no Brasil, México, Colômbia, Argentina, França, Portugal, Egito, Nigéria, Quênia e Austrália (Camilo *et al.*, 2021; Ngoka *et al.*, 2021; Panti-May *et al.*, 2020; Zygner *et al.*, 2023). *B. canis* é amplamente relatada na França, Itália, Croácia, Polônia e Portugal, além da China, enquanto *B. rossi* predomina na África, com notificações na África do Sul, Nigéria, Quênia, Sudão do Sul, Uganda e Zâmbia (Annoscia *et al.*, 2017; Cacciò *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2020; Penzhorn *et al.*, 2020; Zygner *et al.*, 2023).

No Brasil, *B. vogeli* é frequentemente detectada em diversas regiões do país, incluindo Uberlândia, Minas Gerais, com uma taxa de 30,67% de positividade por observação microscópica do esfregaço de sangue, confirmada por PCR. (Barbosa *et al.*, 2020). Em Goiana, Pernambuco, e São Joaquim de Bicas, Minas Gerais, *B. vogeli* foi a única espécie detectada em cães, com 82,4% de soropositividade por RIFI e 14% de positividade molecular confirmada por PCR (Dantas-Torres *et al.*, 2021). Além de *B. vogeli*, já foram relatados casos esporádicos de outras espécies em cães domésticos e animais silvestres, como *B. gibsoni* e *B. caballi*, embora sejam muito menos frequentes. (De Sousa *et al.*, 2018; Jefferies *et al.*, 2007; Jojima *et al.*, 2008).

No Maranhão, há registros de diferentes espécies de *Babesia* em distintos hospedeiros, evidenciando a diversidade desse gênero no estado. Em bovinos leiteiros da Ilha de São Luís, foram detectadas infecções por *B. bovis* e *B. bigemina*, incluindo casos

de coinfeção entre essas espécies, identificadas por ELISA, esfregaços sanguíneos e confirmadas por PCR (Costa et al., 2015). Em equinos da Baixada Maranhense, verificou-se soroprevalência de *B. caballi*, confirmada por PCR (Nogueira et al., 2017). Em cães, a presença de *B. vogeli* foi constatada por métodos sorológicos e moleculares em animais da cidade de São Luís, da microrregião de Imperatriz e do município de Chapadinha (Costa et al., 2015; Galeno et al., 2018; Silva et al., 2012).

2.4 Gênero *Hepatozoon*

O gênero *Hepatozoon* é constituído por protozoários hemoparasitas pertencentes ao filo Apicomplexa, ordem Eucoccidiorida e família Hepatozoidae (Levine, 1988). Esses parasitos possuem ciclo de vida heteroxênico, envolvendo hospedeiros vertebrados e invertebrados hematófagos, como carrapatos, ácaros e flebotomíneos (Baneth, 2011).

Nos cães, a transmissão ocorre principalmente por carrapatos, destacando-se *R. sanguineus* e espécies do gênero *Amblyomma* (Monteiro, 2017). Anfíbios, répteis, aves e diversos mamíferos podem atuar como hospedeiros intermediários, sendo a infecção particularmente frequente em roedores e carnívoros (Clemente et al., 2023; Silva et al., 2021). De forma geral, as espécies de *Hepatozoon* apresentam baixa especificidade quanto ao hospedeiro, tanto intermediário quanto definitivo (Thomas et al., 2024).

Este protozoário apresenta ciclo heteroxênico, que envolve um vertebrado como hospedeiro intermediário e o carrapato como hospedeiro definitivo (Baneth, 2011; Barta et al., 1989). Em geral, o vertebrado é infectado ao ingerir o vetor com esporocistos (De Sousa et al., 2017). Os esporozoítos liberados disseminam-se pelo sangue e colonizam órgãos (baço, linfonodos, fígado, medula óssea, pulmões e, no caso de *Hepatozoon americanum*, musculatura), onde fazem merogonia, gerando merontes e merozoítos (Monteiro, 2017). Subsequentemente, parte desses merozoítos invadem leucócitos circulantes, diferenciando-se em gamontes (Smith et al., 1996). Posteriormente, o carrapato se infecta ao repastar em hospedeiro com gamontes e, no vetor, ocorrem gamogonia e fecundação, formando oocinetos que migram à hemocele, onde amadurecem em oocistos. Nessas, a esporogonia produz esporozoítos infectantes (Baneth et al., 2007). O ciclo se completa quando um novo vertebrado ingere o carrapato parasitado. Também podem ocorrer rotas alternativas, como predação de vertebrados infectados e, raramente, transmissão transplacentária (Hodžić et al., 2007; Johnson et al., 2009).

A infecção por *Hepatozoon* em cães varia de subclínica a grave, com manifestações inespecíficas (O'Dwyer, 2011). No Brasil, *H. canis* costuma cursar de forma subclínica, geralmente com baixa parasitemia. Quadros mais severos são observados sobretudo em filhotes, cães imunossuprimidos ou quando há infecções concomitantes (Mundim *et al.*, 2008; O'Dwyer, 2011). Contudo, *H. americanum* tende a ser mais debilitante, com miosite e evolução potencialmente fatal (Baneth *et al.*, 2003). Os sinais relatados incluem anorexia, apatia, prostração, pirexia, palidez de mucosas, dor, diarreia, vômito, rigidez, claudicação, secreção ocular, polidipsia, poliúria e, nos casos graves, caquexia e dor muscular (Baneth, 2011; Mundim *et al.*, 2008).

Em cães com hepatozoonose, observa-se tipicamente anemia normocítica normocrômica de caráter não regenerativo, podendo ser acompanhada por trombocitopenia, leucocitose, neutrofilia, eosinopenia e monocitopenia (Fonseca *et al.*, 2022). No perfil bioquímico, costumam ocorrer elevações de ALT, AST e ALP, além de marcadores renais como ureia e creatinina, refletindo envolvimento hepático e renal (Verma *et al.*, 2024).

2.4.1 Panorama epidemiológico de *Hepatozoon* spp.

Estudos moleculares mostram que espécies como *H. canis* e *Hepatozoon felis* apresentam ampla distribuição mundial, com registros em cães, gatos, roedores, répteis e aves na Europa, Américas, Ásia, África e Oceania (Morelli *et al.*, 2021; Thomas *et al.*, 2024; Vásquez-Aguilar *et al.*, 2021). Entre as espécies menos relatadas, destaca-se *Hepatozoon silvestris*, recentemente descrita em países europeus, incluindo Itália, Portugal, Suíça e Turquia, e reconhecida como potencial agente de hepatozoonose felina, com relatos de infecções assintomáticas e sintomáticas, incluindo casos fatais (Carbonara *et al.*, 2023; Giannelli *et al.*, 2017; Hodžić; Alić *et al.*, 2023; Kegler *et al.*, 2018; Önder *et al.*, 2025). No Paquistão, foram detectados *H. canis* em cães parasitados por carrapatos (*R. sanguineus*), *Hepatozoon ayorgbor* em cabras parasitadas por *R. Rhipicephalus haemaphysaloides*, *Hepatozoon colubri* em ovelhas parasitadas por *Haemaphysalis sulcata* e em vacas parasitadas por *Hyalomma anatolicum*. Isto evidencia o potencial de disseminação de espécies originárias da fauna silvestre para animais domésticos (Tila *et al.*, 2023).

No Brasil, *Hepatozoon* spp. apresenta ampla distribuição, sendo registrado em diferentes biomas, como Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal, infectando tanto animais domésticos quanto silvestres (Weck *et al.*, 2022). Em cães, *H. canis* é a espécie mais

prevalente e amplamente distribuída em cães domésticos em todas as regiões do Brasil (Maia *et al.*, 2019; Forlano *et al.*, 2007; Rubini *et al.*, 2005). No entanto, há relatos de *H. americanum* em cães domésticos no Norte do país, apesar dessa espécie ser classicamente descrita na América do Norte (De Azevedo Gomes *et al.*, 2016).

No Maranhão, embora não haja relatos de estudos moleculares de *Hepatozoon* em cães, há evidências de circulação do parasito em outras espécies na Ilha de São Luís. Em felinos domésticos, De Bortoli *et al.* (2011) testaram 200 amostras sanguíneas através de PCR para o gene alvo 18S rRNA e detectaram um animal positivo, cuja sequência se agrupou no clado de *H. felis*. Em gambás (*Didelphis marsupialis*), Braga *et al.* (2023) detectaram DNA de *Hepatozoon* por PCR em três de 45 indivíduos. As sequências agruparam-se no clado de *H. felis*, sugerindo genótipos putativos, isto é, variantes genéticas inferidas a partir do agrupamento filogenético e da similaridade de sequência, sem confirmação definitiva da identidade do parasito por caracterização mais abrangente. Esses achados sugerem a participação de hospedeiros sinantrópicos no ciclo local de *Hepatozoon* e reforçam a lacuna de dados em cães, apontando a necessidade de inquéritos moleculares e investigação de vetores na região.

2.5 Métodos diagnósticos laboratoriais para hemoparasitas

A confirmação da infecção por hemoparasitas em cães requer o uso combinado de abordagens laboratoriais, que incluem técnicas microscópicas, sorológicas e moleculares, uma vez que manifestações clínicas inespecíficas e diferentes fases do ciclo infeccioso limitam a confiabilidade de métodos isolados (Ferrolo *et al.*, 2025; Martinescu *et al.*, 2024; Mylonakis *et al.*, 2017).

A avaliação citológica é tradicionalmente empregada no diagnóstico inicial dessas enfermidades (Mylonakis *et al.*, 2003). Esfregaços sanguíneos corados por Giemsa ou Panótico permitem a visualização direta dos parasitas no interior das células-alvo, embora a sensibilidade seja geralmente baixa em infecções subclínicas ou com parasitemia reduzida (Bouzouraa *et al.*, 2016). No caso de *E. canis*, a identificação de mórulas intracitoplasmáticas em monócitos é indicativa de infecção aguda, com taxas de detecção direta entre 4% e 5,6% em diferentes estudos, podendo ser aprimorada com a análise da fina camada leucocitária ou sangue capilar periférico obtido da ponta da orelha ou cauda (Ristic; Woldehiwet, 1993; Rodriguez-Vivas *et al.*, 2005).

Para *A. platys*, o diagnóstico microscópico baseia-se na visualização de corpúsculos de inclusão plaquetária, porém a sensibilidade é limitada pela flutuação

cíclica da parasitemia e pela dependência da habilidade técnica do examinador (Greene, 2008; Monteiro, 2017; Rucksaken *et al.*, 2019). Nas babesioses caninas, distinguem-se formas piriformes maiores de *B. canis* (2,5–5 µm) e formas pequenas e pleomórficas de *B. gibsoni* (1–2,5 µm), geralmente associadas a estágios agudos da doença. Infecções crônicas frequentemente passam despercebidas pela microscopia (Nelson; Couto *et al.*, 2015). Nas infecções por *Hepatozoon* spp., a identificação de gamontes circulantes em leucócitos também apresenta baixa sensibilidade, subestimando casos com parasitemia discreta (Monteiro, 2017; Dordio *et al.*, 2021).

Os métodos sorológicos, como RIFI e ELISA, desempenham papel relevante na triagem de infecções, sobretudo para *E. canis* e *A. platys*, permitindo a detecção de anticorpos específicos mesmo em animais assintomáticos. Entretanto, não distinguem infecção ativa de exposição pregressa e podem sofrer interferências por reações cruzadas, especialmente entre *Ehrlichia* e *Anaplasma*, o que reforça a necessidade de testes complementares (Waner *et al.*, 2001; Qurollo *et al.*, 2021; Harrus *et al.*, 2002; Kaewmongkol *et al.*, 2020). Em *Babesia* spp., os testes sorológicos auxiliam particularmente nos quadros de baixa parasitemia, nos quais a detecção direta é difícil (Kiouani *et al.*, 2020). Para *Hepatozoon* spp., os ensaios sorológicos ainda são pouco explorados e sua disponibilidade comercial é limitada, o que ressalta a importância do desenvolvimento de ferramentas mais específicas e sensíveis para fins epidemiológicos (Modrý *et al.*, 2017; Thomas *et al.*, 2024).

O diagnóstico molecular, por sua vez, representa a ferramenta mais sensível e específica para a detecção desses agentes. A PCR convencional e suas variações, como nested PCR e qPCR, têm sido amplamente empregadas para identificar *Ehrlichia* spp. com maior precisão que a microscopia, permitindo o diagnóstico de infecções ativas, inclusive em casos subclínicos (Faria *et al.*, 2010; Harrus; Waner *et al.*, 2011; Sainz *et al.*, 2015). Para *Anaplasma* spp., essas metodologias também são consideradas padrão-ouro, permitindo discriminar espécies filogeneticamente próximas, como *A. platys* e *A. phagocytophilum* (Qurollo *et al.*, 2021; Sparagano *et al.*, 2003). No caso de *Babesia* spp., a amplificação e o sequenciamento de fragmentos do gene 18S rRNA permitem diferenciar espécies como *B. canis*, *B. vogeli* e *B. rossi* e distinguir formas grandes das pequenas (por exemplo, *B. gibsoni*), superando as limitações da microscopia (Cacciò *et al.*, 2002). Para *Hepatozoon* spp., métodos moleculares como PCR, nested PCR, qPCR e amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) apresentam sensibilidade significativamente superior às técnicas microscópicas.

Estudos comparativos entre métodos moleculares demonstram que a sensibilidade diagnóstica pode variar entre diferentes formatos de PCR, havendo situações em que a nested PCR apresenta maior sensibilidade, enquanto a qPCR oferece maior rapidez e capacidade de discriminação simultânea entre agentes (Lv *et al.*, 2022).

Nesse contexto, destacam-se a qPCR, pela capacidade de quantificar carga parasitária, e o LAMP, pela rapidez e simplicidade de execução, características especialmente úteis em contextos de triagem e monitoramento terapêutico (Díaz-Sánchez *et al.*, 2021; Singh *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2008; Upadhyay *et al.*, 2021).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar, por métodos moleculares, a ocorrência e as coinfeções de *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. e *Hepatozoon* spp. em cães de São Luís, Maranhão.

3.2 Específicos

- Detectar o DNA de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* e *Babesia* spp. em sangue total de cães, por qPCR multiplex;
- Detectar o DNA de *Hepatozoon* spp. em sangue total de cães, por nested PCR;
- Determinar a ocorrência de coinfeções entre os agentes detectados;
- Realizar o sequenciamento genético de amostras positivas para confirmação das espécies dos agentes detectados.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Comitê de ética

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEA) do curso de Medicina Veterinária da UEMA, sob o protocolo nº 19/2026 (Anexo A).

4.2 Amostragem

Foram incluídas, por conveniência, amostras de cães de ambos os sexos e de diferentes faixas etárias, oriundos da Ilha de São Luís, Maranhão, atendidos no Hospital Veterinário Francisco Edilberto Uchôa Lopes, da Universidade Estadual do Maranhão, com suspeita clínica e/ou laboratorial de uma ou mais hemoparasitoses investigadas no estudo. As amostras de sangue total foram coletadas entre novembro de 2024 e setembro de 2025.

4.3 Coleta de Amostras Biológicas

O sangue periférico foi coletado por venopunção da veia jugular ou cefálica, com auxílio de seringa e agulhas descartáveis (21-23G), após antissepsia do local com álcool 70%. Em seguida, 2 mL foram transferidos para tubos contendo EDTA, homogeneizados por inversão suave, identificados e mantidos entre 2 e 8 °C até o processamento para extração de DNA.

4.4 Extração de DNA

A extração do DNA genômico das amostras de sangue total foi realizada utilizando o kit comercial da Nova Biotecnologia (Cotia, Brasil), de acordo com as instruções do fabricante, exceto que, na etapa de eluição, foi utilizado 40 µL do tampão de eluição.

4.5 Amplificação de DNA simultânea de *Babesia* spp., *Ehrlichia canis* e *Anaplasma platys*.

A amplificação do DNA extraído das amostras foi realizada por reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) multiplex, utilizando kit comercial (Nova Biotecnologia, Brasil) desenvolvido para detecção simultânea de *Babesia* spp., *E. canis* e *A. platys*. O ensaio emprega sondas fluorescentes distintas para cada alvo, o que permite a discriminação simultânea das amplificações em diferentes canais de leitura: FAM para *Babesia* spp., HEX para *E. canis* e ROX para *A. platys*, uma vez que cada fluoróforo emite fluorescência em comprimentos de onda específicos.

As reações foram conduzidas em termociclador QuantStudio 5 (Applied Biosystems), com protocolo térmico composto por desnaturação inicial a 95 °C por 2 minutos, seguida de 40 ciclos de 95 °C por 15 segundos e 60 °C por 45 segundos, com captação de fluorescência em tempo real.

Para controle de qualidade, foram incluídos controles positivos e negativos em cada ensaio. As amostras foram consideradas positivas para determinado hemoparasita quando apresentaram valor de ciclo limiar (Ct) inferior a 37 no canal correspondente. Valores iguais ou superiores a 37, ou ausência de amplificação, foram interpretados como resultado negativo.

4.6 Amplificação do DNA de *Hepatozoon* spp.

Para detecção de *Hepatozoon* spp. por nested PCR do 18S rRNA, foram seguidas as condições descritas por De Azevedo Gomes *et al.* (Quadro 1). Cada reação teve volume final de 25 µL, composto por 12,5 µL de PCR Master Mix Ludwig© (Taq DNA Polymerase, dNTPs, MgCl₂ e tampão), 1 µL de cada primer (10 pmol), 8,5 µL de água livre de nucleases (Promega) e 2 µL de DNA. Na primeira reação, com HepF/HepR, foi realizada desnaturação inicial a 95 °C por 5 minutos, seguida de 35 ciclos de 95 °C por 30 segundos, 57 °C por 30 segundos e 72 °C por 1 minuto, com extensão final a 72 °C por 10 minutos. Na segunda reação, com HepNF/HepNR, o mesmo perfil térmico foi mantido, alterando-se apenas o número de ciclos para 30. Para a segunda reação, 2 µL do produto da primeira reação foi usado como molde. Por fim, os produtos foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1,5% para visibilização dos resultados.

4.7 Ensaios de PCR e nested PCR para identificação das espécies

As amostras que apresentaram resultado positivo no qPCR multiplex para *Babesia* spp., *E. canis* e *A. platys* foram submetidas a amplificações adicionais por PCR convencional e nested PCR, visando à identificação por sequenciamento das espécies envolvidas.

Para amplificação de *Babesia* spp. por nested PCR do gene 18S rRNA, utilizou-se os oligonucleotídeos descritos por Jefferies *et al.* (2007) (Quadro 1). Cada reação teve volume final de 25 µL, composto por 12,5 µL de PCR Master Mix Ludwig© (Taq DNA Polymerase, dNTPs, MgCl₂ e tampão), 1 µL de cada primer (10 pmol), 8,5 µL de água livre de nucleases (Promega) e 2 µL de DNA. Na primeira reação, com os pares de primers BTF1/BTR1, realizou-se ativação inicial a 94 °C por 3 minutos, seguida de 45 ciclos de 94 °C por 30 segundos, 58 °C por 20 segundos e 72 °C por 30 segundos, com extensão final a 72 °C por 7 minutos. O amplicon externo esperado foi de aproximadamente 930 pb. Na segunda reação, utilizando os pares de primers BTF2/BTR2, empregou-se 2 µL do produto da primeira PCR como molde e manteve-se o mesmo perfil térmico, ajustando-se apenas o anelamento para 62 °C, e procedeu-se à extensão final a 72 °C por 7 minutos, obtendo-se um produto interno em torno de 800 pb.

Para amplificação do gene 16S rRNA de *Anaplasma* spp., realizou-se PCR convencional conforme descrito por Zobba *et al.* (2014), utilizando os primers AnaplsppF/Anaplr3, que geram um fragmento de aproximadamente 800 pb. Cada reação teve volume final de 25 µL, composto por 12,5 µL de PCR Master Mix Ludwig© (Taq DNA Polymerase, dNTPs, MgCl₂ e tampão) 1 µL de cada primer (10 pmol), 8,5 µL de

água livre de nucleases e 2 µL de DNA extraído. O ciclo térmico consistiu em desnaturação inicial a 94 °C por 3 minutos, seguida de 30 ciclos de 94 °C por 30 segundos, 50 °C por 30 segundos e 72 °C por 1 minuto, com extensão final a 72 °C por 10 minutos.

Para amplificação do gene *dsb* de *Ehrlichia* spp., foi realizada reação de nested PCR conforme descrito por Dehnoaliyan et al. (2024), utilizando, na primeira reação, os primers externos DSB-330 e DSB-720, e, na segunda reação, os primers internos DSB-380 e DSB-720. Essas reações produziram amplicons de 401 pb e 349 pb, respectivamente. Cada reação teve volume final de 25 µL, composto por 12,5 µL de PCR Master Mix Ludwig® (Taq DNA Polymerase, dNTPs, MgCl₂ e tampão) 1 µL de cada primer (10 pmol), 8,5 µL de água livre de nucleases e 2 µL de DNA extraído. As condições de termociclagem foram: 96 °C por 3 min, seguido de 35 ciclos de 95 °C por 30 s, 55 °C por 30 s e 72 °C por 40 s, com extensão final a 72 °C por 10 min. Para a segunda reação, 2 µL do produto da primeira reação foi usado como molde, mantendo-se o mesmo perfil térmico.

Todas as amostras foram amplificadas contendo controles positivo e negativos. Após cada reação de PCR, os produtos foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1,5% para visualização dos resultados.

Quadro 1. Alvos moleculares, tamanho dos fragmentos e iniciadores utilizados nas reações de PCR para detecção de *Babesia* spp., *Anaplasma* spp., *Hepatozoon* spp., *Ehrlichia* spp, conforme descrito na literatura.

Alvo	Gene/tamanho	Iniciadores (5' – 3')	Referência
<i>Babesia</i> spp.	18S rRNA/ 1° 930 bp 2° 800 bp	BTF1 (external) GGCTCATTACAACAGTTATAG BTR1 (external) CCCAAAGACTTTGATTTCTCTC BTF2 (internal) CCGTGCTAATTGTAGGGCTAATAC BTR2 (internal) GGACTACGACGGTATCTGATCG	Jefferies et al. (2007)
<i>Anaplasma</i> spp.	16S rRNA/ 800bp	AnaplsppF: AGAAGAAGTCCCGGCAAAC Anaplr3: GAGACGACTTTTACGGATTAGCTC	Zobba et al. (2014)

<i>Hepatozoon</i> spp.	18S rRNA/ 1°666 pb 2°~670 pb	HepF (external) ATACATGAGCAAAATCTCAAC HepR (external) CTTATTATTCCATGCTGCAG HepNF (internal) GGTATGGTATTGGCTTACCG HepNR (internal) CGAGCTTTTAACTGCAACA	De Azevedo Gomes <i>et al.</i> (2016); Inokuma <i>et al.</i> (2002).
<i>Ehrlichia</i> spp	DSB/ 1° 401 bp 2 ° 349 bp	DSB-330 (external) GATGATGTTTGAAGATATSAAACAAAT DSB-720 (external) CTATTTTACTTCTTAAAGTTGATAWATC DSB-380 (internal) ATTTTLAGRGATTTTCCAATACTTGG DSB-720 (internal) CTATTTTACTTCTTAAAGTTGATAWATC	Dehnoaliyan <i>et al.</i> (2024)

4.7.1 Purificação e sequenciamento

Os produtos positivos foram purificados com o kit Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega), conforme instruções do fabricante, e o DNA foi quantificado em NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA). O sequenciamento de Sanger foi realizado pelo método de terminação por dideoxinucleotídeos (Sanger et al., 1977) no analisador ABI PRISM 3700 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA).

4.7.2 Análise das sequências

As sequências de nucleotídeos obtidas foram avaliadas quanto à qualidade no software FinchTV 1.4 (Geospiza, Inc., Seattle, WA, EUA). As sequências de consenso foram geradas no CAP3 – Sequence Assembly Program (Huang e Madan, 1999). Em

seguida, foram comparadas a sequências depositadas no GenBank (NCBI) por meio do algoritmo BLASTn, para confirmar a identidade específica dos agentes detectados.

4.8 Análise Estatística

Os dados foram tabulados em planilhas eletrônicas e analisados no Jamovi e IBM SPSS Statistics. Realizou-se análise descritiva das frequências absolutas e percentuais de positividade por agente, bem como das proporções de cães monoinfectados, coinfectados e negativos. Para comparar as frequências de detecção entre os hemoparasitas investigados, utilizou-se o teste Q de Cochran. Para avaliar a associação entre a positividade e as variáveis sexo e faixa etária, empregou-se o teste do qui-quadrado de Pearson. Os resultados foram apresentados em valores absolutos, adotando-se nível de significância de $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 200 amostras de sangue total analisadas, 39% (78/200) foram positivas por qPCR multiplex ou Nested PCR para pelo menos um dos agentes investigados. As frequências de positividade na qPCR multiplex, considerando infecções únicas e coinfeções, foram de 23% para *E. canis* (46/200), 16,5% para *A. platys* (33/200) e 13% para *Babesia* spp. (26/200). Na Nested PCR 3% das amostras foram positivas para *Hepatozoon* spp. (6/200) (Tabela 1).

Tabela 1. Frequência de detecção de hemoparasitas em cães de São Luís, MA, por técnicas de diagnóstico molecular (qPCR multiplex e PCR convencional)

Hemoparasitas	Detecção do patógeno			<i>p value</i> *
	Positivo <i>n</i> / %	Negativo <i>n</i> / %	Total	
<i>Ehrlichia canis</i>	46 (23)	154 (77,0)	200	<0,001 ¹
<i>Anaplasma platys</i>	33 (16,5)	167 (83,5)	200	
<i>Babesia</i> spp.	26 (13,0)	174 (87,0)	200	
<i>Hepatozoon</i> spp.	6 (3,0)	194 (97,0)	200	

n = número de cães; % percentual na linha; * Nível de significância $p < 0,05$, ¹Diferenças globais avaliadas pelo teste Q de Cochran ($Q = 37,891$; $gl = 3$; $p < 0,001$).

Foi observada a ocorrência de hemoparasitas em cães com suspeita clínica na região estudada, reforçando a importância dessas infecções na rotina clínica veterinária local. Em comparação, em outros estudos moleculares, frequências superiores foram relatadas em cães de Mossoró (RN), em um estudo realizado por Araújo *et al.* (2025), onde 72,3% dos animais apresentaram positividade para pelo menos um agente, enquanto valores inferiores foram observados no Sul do Brasil, por Paschoal *et al.* (2020), que identificou 22,5% de positividade em cães atendidos em um hospital veterinário.

As diferenças entre os estudos podem estar relacionadas ao perfil da casuística, à intensidade de exposição aos vetores e às particularidades epidemiológicas de cada área. Além disso, aspectos metodológicos também devem ser considerados na interpretação desses achados, uma vez que a sensibilidade diagnóstica pode variar conforme a abordagem molecular adotada, bem como de acordo com os genes-alvo e os primers empregados na detecção dos agentes (Rucksaken *et al.*, 2019). Assim, a dinâmica de circulação dos hemoparasitas pode variar de maneira significativa entre diferentes estados brasileiros e, inclusive, entre municípios de uma mesma região geográfica.

Além dos aspectos diagnósticos, a ocorrência de hemoparasitas em cães está intimamente relacionada à maior atividade de vetores ixodídeos em ambientes cujas condições climáticas tropicais e ecológicas favorecem sua manutenção e dispersão (Zemtsova *et al.*, 2016). Somado a isso, projeções climáticas indicam aumento da adequabilidade ambiental para carrapatos em áreas do nordeste do Brasil até 2050, sugerindo a manutenção ou mesmo a expansão de condições favoráveis à sua ocorrência (Sánchez *et al.*, 2023). Tal panorama reforça a importância do monitoramento epidemiológico contínuo (Dantas-Torres *et al.*, 2016), uma vez que a persistência e a ampliação de áreas adequadas ao vetor podem favorecer a circulação e a transmissão de hemoparasitas em populações caninas no estado do Maranhão, com potenciais impactos sobre a dinâmica dessas infecções na região.

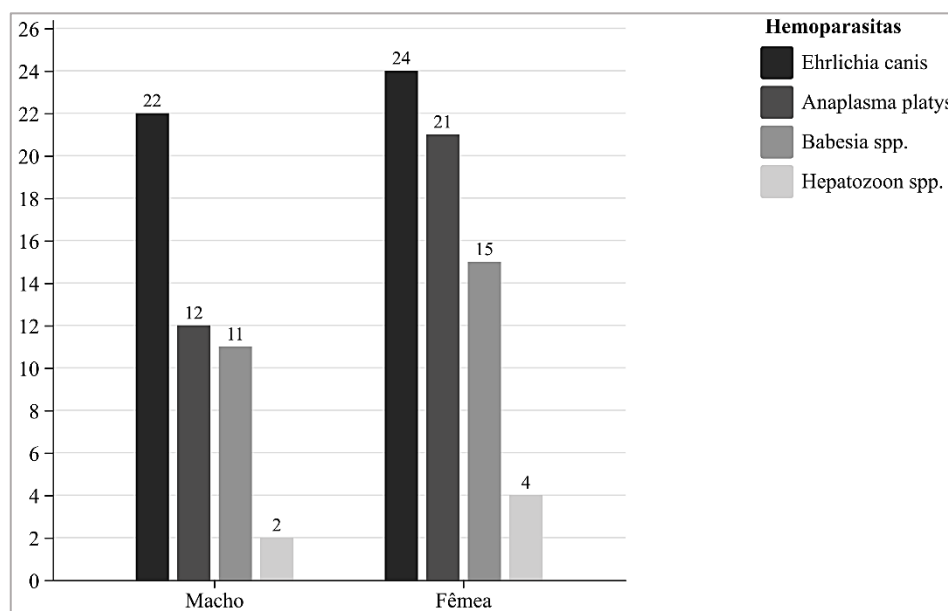
Dentre os agentes investigados, *E. canis* foi o que apresentou maior taxa de detecção, representando 23% das infecções identificadas. Esse resultado é consistente com outras pesquisas, que demonstraram o predomínio de infecções por *E. canis*, indicando esse agente como um dos principais hemoparasitas em cães (Guedes *et al.*, 2015; Guimarães *et al.*, 2021; Rotondano *et al.*, 2015; Pereira *et al.*, 2023). Embora não possa ser elucidado com os dados desta pesquisa, esse padrão pode estar relacionado à elevada e já comprovada competência vetorial de populações de *Rhipicephalus*

sanguineus, bem como à ampla distribuição geográfica de *E. canis* e à sua capacidade de persistir em cães, frequentemente em estados de portador assintomático ou crônico, o que pode contribuir para a manutenção da transmissão entre hospedeiros (Fourie *et al.*, 2013; Hess *et al.*, 2006; Ribeiro *et al.*, 2017). Em conjunto, esses fatores podem favorecer a manutenção e a circulação de *E. canis*, contribuindo para a maior frequência observada na região estudada.

Em contraste com os demais agentes investigados, *Hepatozoon* spp. apresentou a menor taxa de detecção. O baixo percentual, em comparação com os demais hemoparasitas investigados, pode estar relacionado a diferenças no modo de transmissão e na dinâmica epidemiológica desse protozoário. Enquanto *E. canis*, *A. platys* e *Babesia* spp. são transmitidos principalmente pela inoculação durante a hematofagia do carrapato, a infecção por *Hepatozoon* spp. ocorre de acordo com Osathanon *et al.*, (2025) e Baneth *et al.* (2022), geralmente, pela ingestão do carrapato infectado pelo hospedeiro vertebrado, tornando assim o processo de transmissão menos frequente.

Com relação às taxas de infecção (positivo para pelo menos um agente) e o sexo, observou-se frequências semelhantes, sendo 57,1% (64/112) nas fêmeas e 53,4% (47/88) nos machos. A infecção por *E. canis* foi a mais frequente entre ambos os grupos (Figura 1), não sendo observada associação estatisticamente significativa entre essas variáveis e a positividade para os hemoparasitas.

Figura 1. Frequência absoluta de cães positivos para hemoparasitas, estratificada por sexo, em cães de São Luís, MA



Com relação à idade, cães com mais de cinco anos concentraram o maior número de detecções de hemoparasitas (Tabela 2). *E. canis* foi o patógeno mais frequentemente detectado em todas as faixas etárias, com proporções relativamente semelhantes entre os grupos. Observou-se ainda tendência de aumento proporcional de *A. platys* nas faixas etárias mais avançadas, com maior proporção em cães com mais de cinco anos. Em contrapartida, *Babesia* spp. apresentou maior proporção em cães mais jovens, com redução nas faixas etárias subsequentes. *Hepatozoon* spp., por sua vez, foi o hemoparasita menos frequente em todas as idades avaliadas. No entanto, não foi observada associação estatisticamente significativa entre faixa etária e positividade.

Tabela 2. Frequência de detecção de hemoparasitas por faixa etária em cães de São Luís, MA, determinada por métodos moleculares (qPCR multiplex e PCR convencional).

Hemoparasitas	Faixa etária			P value
	≤1,5 anos n=24	>1,5–5 anos n=24	>5 anos n=63	
<i>Ehrlichia canis</i>	11 (45.8)	9 (37.5)	26 (41.3)	0.347
<i>Anaplasma platys</i>	3 (12.5)	8 (33.3)	22 (34.9)	
<i>Babesia</i> spp.	7 (29.2)	6 (25.0)	13 (20.6)	
<i>Hepatozoon</i> spp.	3 (12.5)	1 (4.2)	2 (3.2)	

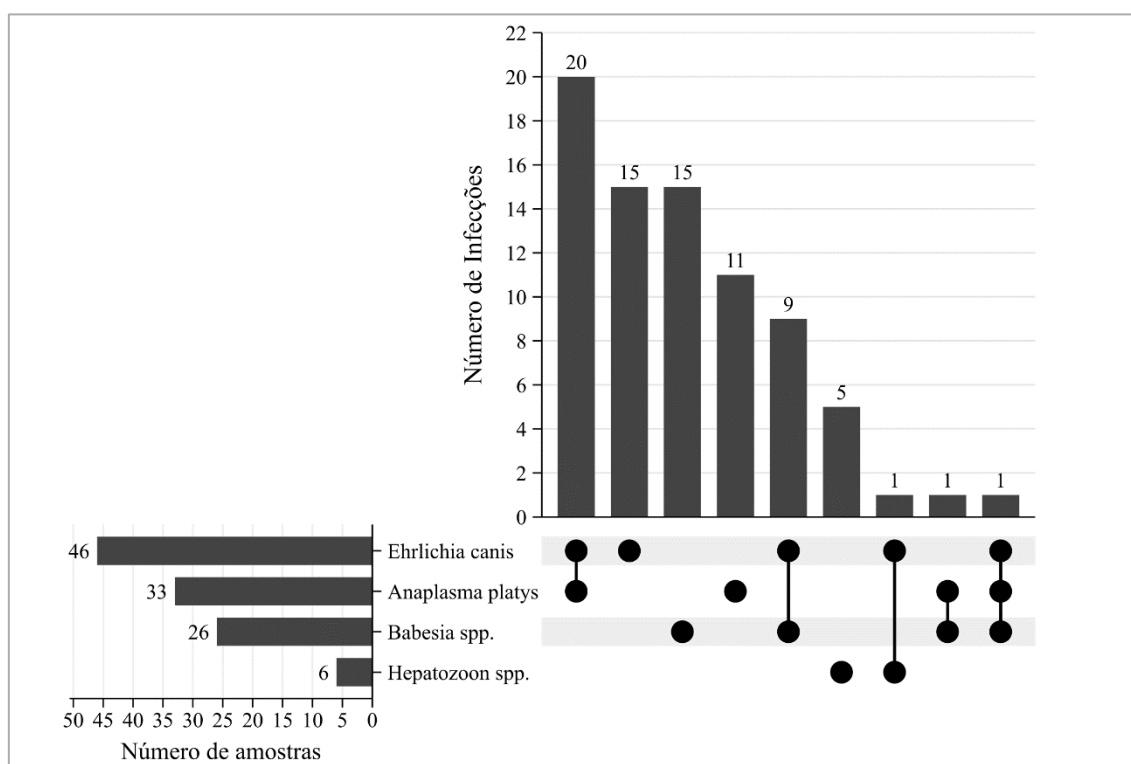
n = animais positivos na faixa etária da coluna; Valores entre parênteses indicam % na coluna; Nível de significância p<0,05.

A positividade para hemoparasitas em cães pode estar associada à idade e ao sexo, no entanto, essa relação nem sempre é consistente, uma vez que muitos estudos não identificam diferenças significativas, e os achados podem variar de acordo com a região e o desenho amostral (Maurya *et al.*, 2025; Paschoal *et al.*, 2020). Observa-se, contudo, uma tendência de maiores taxas em cães adultos e idosos, o que sugere que a maior frequência nesses grupos pode estar relacionada segundo Ebani *et al.* (2019) e Sainz *et al.* (2015) à exposição cumulativa aos vetores ao longo da vida, aumentando a probabilidade de infecção com o avanço da idade.

Entre as amostras positivas (n = 78), 32 (41%) apresentaram coinfeções. A combinação mais frequente ocorreu entre *A. platys* e *E. canis*, correspondendo a 10% (20/200) do total de cães avaliados, seguida por 4,5% (9/200) para coinfeção por *E. canis*

e *Babesia* spp. As demais combinações ocorreram em menor frequência, incluindo 0,5% (1/200) para *A. platys* e *Babesia* spp., 0,5% (1/200) para *E. canis* e *Hepatozoon* spp. e 0,5% (1/200) para infecção tripla envolvendo *A. platys*, *E. canis* e *Babesia* spp. (Figura 2).

Figura 2. Padrões de infecção e coinfecção por hemoparasitas em cães de São Luís, MA, visualização em UpSet plot.



No contexto das infecções simultâneas, estudos moleculares realizados em diferentes países demonstram que coinfeções são comuns em áreas endêmicas para carrapatos (Cardoso *et al.*, 2016; Checa *et al.*, 2024). Nessa perspectiva, Chamsai *et al.* (2024) e Balmori de la Puente *et al.* (2024) sugerem que a elevada frequência de coinfeções pode estar relacionada à estreita associação com o vetor *R. sanguineus*, cuja capacidade de abrigar e transmitir múltiplos patógenos favorece, ao mesmo tempo, maior ocorrência de coinfeções em populações caninas.

O agente *E. canis* esteve presente na maioria das coinfeções observadas, reforçando o importante papel deste agente na epidemiologia das hemoparasitoses no local de estudo. Em contraste, a participação de *Hepatozoon* spp. nas coinfeções foi substancialmente inferior, diferindo do observado em estudos realizados no Nordeste brasileiro, como o de Araújo *et al.* (2025), no Rio Grande do Norte, onde esse agente

apresentou envolvimento mais expressivo em associações com outros hemoparasitas. Essa divergência sugere que o papel de *Hepatozoon* spp. nas coinfeções pode variar entre localidades da mesma região geográfica, possivelmente em função de diferenças ecológicas, epidemiológicas e na dinâmica de transmissão.

Ressalta-se que, até o momento, não há publicações na Ilha do Maranhão que tenham investigado, por técnicas moleculares, a ocorrência de *Hepatozoon* spp. em cães, inclusive em associação com outros hemoparasitas. Nesse contexto, esse achado é relevante por acrescentar dados sobre a circulação desse agente e sua participação em coinfeções, contribuindo para o direcionamento da suspeita clínica e para sua inclusão no diagnóstico diferencial, particularmente em áreas endêmicas para infecções transmitidas por carrapatos.

As coinfeções por hemoparasitas podem exercer importante impacto na evolução das enfermidades, contribuindo para o agravamento dos quadros clínicos e laboratoriais em cães infectados (Boonhoh *et al.*, 2023). Estudos anteriores reforçam essa relação, uma vez que infecções simultâneas têm sido associadas a maior severidade da doença, como observado por Rawangchue e Sungpradit (2020) em cães coinfectados por *Babesia* spp. e *Ehrlichia* spp., e por Bonilla-Aldana *et al.* (2022), que relataram agravamento de parâmetros hematológicos, incluindo trombocitopenia, neutropenia e pancitopenia. Nesse contexto, embora não tenha sido realizada avaliação clínica dos animais neste estudo, a elevada frequência de coinfeções observada sugere relevância desses achados na prática veterinária, reforçando a importância da investigação simultânea de diferentes hemoparasitas, uma vez que o reconhecimento dessas associações pode impactar diretamente a conduta terapêutica, a necessidade de suporte intensivo e o monitoramento laboratorial dos animais.

Os resultados de BLASTn confirmaram que as sequências obtidas neste estudo correspondem a *B. vogeli*, *A. platys*, *E. canis* e *H. canis*, com elevados percentuais de homologia com sequências previamente depositadas no banco de dados genético, corroborando a identidade molecular dos hemoparasitas detectados nas amostras analisadas, e alta especificidade dos testes empregados (Tabela 3).

Para *Babesia* spp., todas as sequências apresentaram identidade de 100% com *B. vogeli*, incluindo isolados de cães no Brasil e em outros países, além de elevada similaridade com sequências provenientes de felinos.

As sequências de *Anaplasma* spp. demonstraram identidade de 100% com *A. platys*, corroborando sua ampla distribuição geográfica e diversidade de hospedeiros. Para

Ehrlichia spp., as amostras apresentaram alta similaridade com *E. canis*, incluindo isolados previamente descritos em cães, hospedeiros silvestres e carrapatos, tanto no Brasil quanto em outros países.

Em relação a *Hepatozoon* spp., as sequências obtidas apresentaram elevada similaridade com *H. canis*, com identidade variando entre 98,53% a 99,63%, quando comparadas a isolados descritos em diferentes regiões geográficas.

Tabela 3. Identidade de sequências de *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Ehrlichia* spp. e *Hepatozoon* spp. obtidas neste estudo, com base em alinhamento com sequências do GenBank.

Análise do BLASTn - gene 18S rRNA de <i>Babesia</i> spp.				
ID animal	Identidade	Hospedeiro/Local	E-value/ Query Coverage	Número de acesso (Genbank)
C29	<i>Babesia vogeli</i> / 100%	Cão/Brasil (DF)	0.0/100%	MZ594998.1
	<i>Babesia</i> sp./ 100%	Gato/Brasil (centroeste)	0.0/100%	KP410275.1
	<i>Babesia vogeli</i> / 100%	Gato/Brasil (sudeste)	0.0/100%	OM069368.1
	<i>Babesia vogeli</i> / 100%	Cão/Brasil (RJ)	0.0/100%	MN823188.1
	<i>Babesia</i> sp./ 100%	Cão/Brasil (Pantanal)	0.0/100%	KY450735.1
	<i>Babesia vogeli</i> /100%	Cão/Brasil (MG)	0.0/100%	AY371194.1
	<i>Babesia vogeli</i> /100%	Cão/Brasil (Pará)	0.0/100%	KT333456
	<i>Babesia vogeli</i> /100%	Cão/Costa do Marfim	0.0/100%	MK495836.1
	<i>Babesia vogeli</i> /100%	Gato /Tailândia	0.0/100%	MW377730.1
	<i>Babesia vogeli</i> /100%	Cão/Japão	0.0/100%	AB083374.1
	<i>Babesia vogeli</i> /100%	Cão/Paraguai	0.0/100%	MH100720.1
	<i>Babesia vogeli</i> /100%	Cão/Índia	0.0/100%	PP859284.1
	<i>Babesia vogeli</i> /100%	Cão /China	0.0/100%	MG586235.1
	<i>Babesia vogeli</i> /99,87%	Gato/Brasil	0.0/98%	ON227489.1
Análise do BLASTn - gene 16S rRNA de <i>Anaplasma</i> spp.				
ID animal	Identidade	Hospedeiro/Local	E-value/ Query Coverage	Número de acesso (Genbank)
C38	<i>Anaplasma platys</i> /100%	Bovino/Quênia	0.0/100%	PV133725.1
	<i>Anaplasma platys</i> /100%	Cão/Índia	0.0/100%	KT982643.1
C99	<i>Anaplasma platys</i> /100%	Cão/Filipinas	0.0/100%	KX447504.1

C154		<i>Rhipicephalus</i>	0.0/100%	
C161	<i>Anaplasma platys</i> /100%	<i>sanguineus</i> /Taiwan		OK560288.1
C196	<i>Anaplasma platys</i> /100%	Cão/Croácia	0.0/100%	KY114935.1
C197	<i>Anaplasma platys</i> /100%	Cão/Zâmbia	0.0/100%	LC269822.1
	<i>Anaplasma platys</i> /100%	Cão/Tailândia	0.0/100%	EF139459.1
	<i>Anaplasma platys</i> /100%	Cão/Cuba	0.0/100%	KX792089.2

Análise do BLASTn - gene DSB de *Ehrlichia* spp.

ID animal	Identidade	Hospedeiro/Local	E-value/ Query Coverage	Número de acesso (Genbank)
	<i>Ehrlichia canis</i> /99.64%	Cão/Brasil (NAT)	2e-137/100%	MG772657.1
C11	<i>Ehrlichia canis</i> /100%	<i>Rhipicephalus</i> <i>sanguineus</i> /Brasil (MT)	1e-135 /98%	KP167596.1
C40				
C50	<i>Ehrlichia canis</i> /99.27%	Cão/Argentina	1e-135/100%	AF403710.1
C93				
C197	<i>Ehrlichia canis</i> /99.27%	Tamanduá- bandeira/ Brasil (SP)	1e-135/100%	MT212420.1
	<i>Ehrlichia canis</i> /99.27%	<i>Rhipicephalus</i> <i>sanguineus</i> / Colômbia	1e-135/100%	OR269931.1

Análise do BLASTn -gene 18S rRNA de *Hepatozoon* spp.

ID anim al	Identidade	Hospedeiro/Local	E-value/ Query Coverage	Número de acesso (Genbank)
	<i>Hepatozoon canis</i> /99,63%	Cão/Paquistão	3e-116/ 100%	MG209581.1
	<i>Hepatozoon canis</i> /99,63%	Cão/ Índia	3e-116/ 100%	KU527127.1
C23	<i>Hepatozoon canis</i> /99,63%	Cão/Tailândia	3e-116/ 100%	MK830996.1
C54				
C121	<i>Hepatozoon canis</i> /98,53%	Cão/Malta	3e-116/ 100%	KX069244.1
C129				
C156	<i>Hepatozoon canis</i> /99,26%	Cão/Nigéria	3e-116/ 100%	JQ976624.1
C174				
	<i>Hepatozoon canis</i> /99,26%	Cão/Gana	3e-116/ 100%	PV125703.1

NAT: Natal; MT: Mato Grosso; SP: São Paulo; MS: Mato Grosso do Sul; RO: Rondônia; PA: Pará. GenBank: banco de dados público de sequências genéticas do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI).

Os resultados do sequenciamento são consistentes com estudos prévios que também relataram a ocorrência dessas espécies de hemoparasitas em cães (Adao *et al.*, 2017; Araújo *et al.*, 2025; Ahmad *et al.*, 2018; Camilo *et al.*, 2021; Lauzi *et al.*, 2016). Nesse sentido, a identificação molecular em nível de espécie fornece informações essenciais para a detecção dos agentes, permitindo uma interpretação mais precisa do potencial impacto clínico dessas infecções. Esses achados reforçam a importância da caracterização molecular como ferramenta complementar ao diagnóstico, contribuindo para uma abordagem mais acurada no manejo de hemoparasitoses em áreas endêmicas.

Entre esses agentes, *E. canis* se destaca como a espécie de maior relevância veterinária, estando associada a diferentes formas clínicas, que variam de infecções subclínicas a quadros mais graves e potencialmente fatais, frequentemente acompanhados por alterações hematológicas significativas (Espino-Solís *et al.*, 2023; Ferrolho *et al.*, 2025).

Por outro lado, *A. platys* e *H. canis* podem estar associadas a infecções de curso discreto ou subclínico, com baixa expressão clínica em parte dos casos, o que pode favorecer sua manutenção silenciosa em populações caninas (Selim *et al.*, 2021; Venugopal *et al.*, 2025; Oliveira *et al.*, 2021). Da mesma forma, *B. vogeli* é frequentemente associada a quadros de menor gravidade clínica, podendo inclusive ocorrer de forma subclínica, embora alterações hematológicas, como anemia e trombocitopenia, também possam ser observadas (Penzhorn, 2020; Selim *et al.*, 2022).

Desse modo, este estudo traz contribuições relevantes para a compreensão da ocorrência de agentes infecciosos transmitidos por carrapatos em cães. Embora os gêneros *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Babesia* e *Hepatozoon* sejam frequentes em infecções caninas, ainda são pouco investigados por técnicas moleculares em algumas regiões do país. Nesse sentido, este trabalho representa o primeiro estudo realizado em São Luís a empregar métodos de detecção molecular e a analisar coinfeções entre esses agentes, gerando informações importantes para o entendimento da cadeia epidemiológica e para o acompanhamento clínico, tratamento e controle de agentes patogênicos.

Especificamente na Ilha de São Luís (MA), os achados também se destacam por confirmar, por meio de sequenciamento, a presença de diferentes espécies de hemoparasitos em cães, inclusive em casos de coinfeção. Esses dados apresentam

relevância epidemiológica por evidenciar a circulação local desses patógenos, contribuir para sua caracterização genética na região e auxiliar na vigilância e na detecção de possíveis espécies emergentes.

6 CONCLUSÕES

A investigação molecular realizada evidenciou a elevada circulação de hemoparasitas transmitidos por carrapatos em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual do Maranhão, em São Luís, com predominância de *E. canis*, seguida por *A. platys*, *Babesia* spp. e *Hepatozoon* spp. A ocorrência de coinfeções, principalmente entre *A. platys* e *E. canis*, reforça a complexidade epidemiológica dessas infecções. A confirmação molecular de *E. canis*, *A. platys*, *B. vogeli* e *H. canis* contribui para a atualização do panorama epidemiológico das hemoparasitoses caninas na região, destacando a importância do diagnóstico molecular e do controle de vetores para a prevenção dessas enfermidades.

REFERÊNCIAS

- ADAO, D. E. V., HERRERA, C. M. T., GALARION, L. H., BOLO, N. R., CARLOS, R. S., CARLOS, E. T., RIVERA, W. L. Detection and molecular characterization of *Hepatozoon canis*, *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma platys* in dogs from Metro Manila, Philippines. **Korean Journal of Veterinary Research**, v. 57, n. 2, p. 79-88, 2017.
- AHMAD, A. S., SAEED, M. A., RASHID, I., ASHRAF, K., SHEHZAD, W., TRAUB, R. J., JABBAR, A. Molecular characterization of *Hepatozoon canis* from farm dogs in Pakistan. **Parasitology research**, v. 117, n. 4, p. 1131-1138, 2018.
- AKTAS, M., OZUBEK, S. Molecular evidence for trans-stadial transmission of *Anaplasma platys* by *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato under field conditions. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 32, n. 1, p. 78-83, 2018.
- ANTUNES, S., ROSA, C., COUTO, J., FERROLHO, J., DOMINGOS, A. Deciphering Babesia-vector interactions. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 7, p. 429, 2017.
- ANNOSCIA, G.; LATROFA, M. S.; CANTACESSI, C.; OLIVIERI, E.; MANFREDI, M. T.; DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D. A new PCR assay for the detection and differentiation of *Babesia canis* and *Babesia vogeli*. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 8, n. 6, p. 862-865, 2017.
- ARAÚJO, B. V. S. D., BEZERRA, I. L. P. D., LEITE, G. L., HAISI, A., ARAÚJO, J. P., SOUZA, F. D. A. L., ... BRAGA, J. F. V. Single and co-infections by *Anaplasma platys*, *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis*, and *Hepatozoon canis* in dogs from Rio Grande do Norte, Brazil: frequency and molecular characterization. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 34, n. 4, p. e004825, 2025.
- ARRAGA-ALVARADO, C. M, QUROLLO, B. A, PARRA, O. C, BERRUETA, M. A, HEGARTY, B. C E BREITSCHWERDT, E. B. Evidência molecular de infecção por *Anaplasma platys* em duas mulheres da Venezuela. **Revista americana de medicina tropical e higiene**, v. 91, n. 6, p. 1161, 2014.
- ARROYAVE, E., RODAS-GONZÁLEZ, J. D., ZHANG, X., LABRUNA, M. B., GONZÁLEZ, M. S., FERNÁNDEZ-SILVA, J. A., MCBRIDE, J. W. *Ehrlichia canis* TRP36 diversity in naturally infected-dogs from an urban area of Colombia. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 11, n. 3, p. 101367, 2020.
- ASSIS, M. M. Q.; FERNANDES, R. R.; DA SILVA, T. A.; DA SILVA, M. C.; BORGES, T. B.; MAIA, L. V. T.; COLTRO, M.; QUESSADA, A. M. Positive dogs for ehrlichiosis in the immunochromatographic test and negatives in the polymerase chain reaction: report of six cases with therapeutic success. **Brazilian Journal of Development**. v. 8, n. 9, p. 62982–62989, 2022.
- ATIF, F. A. Alpha proteobacteria of genus *Anaplasma* (Rickettsiales: Anaplasmataceae): Epidemiology and characteristics of *Anaplasma* species related to veterinary and public health importance. **Parasitology**, v. 143, n. 6, p. 659-685, 2016.

- AZIZ, M. U., HUSSAIN, S., SONG, B., GHOURI, H. N., ZEB, J., SPARAGANO, O. A. Ehrlichiosis in dogs: A comprehensive review about the pathogen and its vectors with emphasis on south and east Asian countries. **Veterinary sciences**, v. 10, n. 1, p. 21, 2022.
- BADAWI, N. M., YOUSIF, A. A. *Babesia canis* spp. in dogs in Baghdad Province, Iraq: First molecular identification and clinical and epidemiological study. **Veterinary World**, v. 13, n. 3, p. 579, 2020.
- BALMORI DE LA PUENTE, A., RODRÍGUEZ-ESCOLAR, I., COLLADO-CUADRADO, M., INFANTE GONZÁLEZ-MOHINO, E., VIEIRA LISTA, M. C., HERNÁNDEZ-LAMBRAÑO, R. E., MORCHÓN, R. Transmission risk of vector-borne bacterial diseases (*Anaplasma* spp. and *Ehrlichia canis*) in Spain and Portugal. **BMC Veterinary Research**, v. 20, n. 1, p. 526, 2024.
- BANETH, G., MATHEW, J. S., SHKAP, V., MACINTIRE, D. K., BARTA, J. R., EWING, S. A. Canine hepatozoonosis: two disease syndromes caused by separate *Hepatozoon* spp. **TRENDS in Parasitology**, v. 19, n. 1, p. 27-31, 2003.
- BANETH, G. Perspectives on canine and feline hepatozoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 181, n. 1, p. 3-11, 2011.
- BANETH, G.; ALLEN, K. Hepatozoonosis of dogs and cats. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 52, n. 6, p. 1341-1358, 2022.
- BANETH, G., SAMISH, M., SHKAP, V. Life cycle of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Adeleorina: Hepatozoidae) in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and domestic dog (*Canis familiaris*). **Journal of Parasitology**, v. 93, n. 2, p. 283-299, 2007.
- BARBOSA, C. O. S., GARCIA, J. R., DE MELO NASSER FAVA, N., PEREIRA, D. A., DA CUNHA, M. J. R., NACHUM-BIALA, Y., BANETH, G. Babesiosis caused by *Babesia vogeli* in dogs from Uberlândia State of Minas Gerais, Brazil. **Parasitology Research**, v. 119, n. 3, p. 1173-1176, 2020.
- BARTA, J. R. Phylogenetic analysis of the class Sporozoea (phylum Apicomplexa Levine, 1970): evidence for the independent evolution of heteroxenous life cycles. **The Journal of parasitology**, p. 195-206, 1989.
- BARUTZKI, D., DE NICOLA, A., ZEZIOLA, M., REULE, M. Seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs in Germany. **Berliner und Munchener Tierärztliche Wochenschrift**, v. 119, n. 7-8, p. 342-347, 2006.
- BHAGWAN, J., SINGH, Y., JHAMBH, R., CHAUDHARI, M., KUMAR, P. Molecular and microscopic detection of haemoprotozoan diseases in dogs from Haryana, India. **Parasitology Research**, v. 123, n. 10, p. 354, 2024.
- BILWAL, A. K., MANDALI, G. C., TANDEL, F. B. Clinicopathological alterations in naturally occurring *Babesia gibsoni* infection in dogs of Middle-South Gujarat, India. **Veterinary world**, v. 10, n. 10, p. 1227, 2017.

BONILLA-ALDANA, D. K., GUTIÉRREZ-GRAJALES, E. J., OSORIO-NAVIA, D., CHACÓN-PENNA, M., TREJOS-MENDOZA, A. E., PÉREZ-VARGAS, S., RODRÍGUEZ-MORALES, A. J. Haematological alterations associated with selected vector-borne infections and exposure in dogs from pereira, risaralda, Colombia. **Animals**, v. 12, n. 24, p. 3460, 2022.

BONILLA-ALDANA, D. K., POMARES-CANTILLO, L. H., BELTRÁN-SÁNCHEZ, C. A., BETTIN-MARTÍNEZ, A. C., CAMPO-URBINA, M. L., RODRIGUEZ-MORALES, A. J., PÉREZ-DORIA, A. Molecular detection of *Anaplasma* spp. in domestics dogs from urban areas of Soledad, Atlantico, Colombia. **Le Infezioni in Medicina**, v. 28, p. 373-383, 2020.

BONNET, S., JOUGLIN, M., MALANDRIN, L., BECKER, C., AGOULON, A., L'HOSTIS, M., CHAUVIN, A. Transstadial and transovarial persistence of *Babesia divergens* DNA in *Ixodes ricinus* ticks fed on infected blood in a new skin-feeding technique. **Parasitology**, v. 134, n. 2, p. 197-207, 2007.

BOONHOH, W., SONTIGUN, N., FUNGWITHAYA, P., WONGTAWAN, T. Hematological analysis of naturally infecting blood parasites in dogs. **Veterinary world**, v. 16, n. 4, p. 681, 2023.

BOUZOURAA, T., RENÉ-MARTELLET, M., CHÊNE, J., ATTIPA, C., LEBERT, I., CHALVET-MONFRAY, K., CHABANNE, L. Clinical and laboratory features of canine *Anaplasma platys* infection in 32 naturally infected dogs in the Mediterranean basin. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 7, n. 6, p. 1256-1264, 2016.

BRAGA, M. D. S. C. O., COSTA, F. B., CALCHI, A. C., DE MELLO, V. V. C., MONGRUEL, A. C. B., DIAS, C. M., ANDRE, M. R. Molecular detection and characterization of vector-borne agents in common opossums (*Didelphis marsupialis*) from northeastern Brazil. **Acta Tropica**, v. 244, p. 106955, 2023.

BRANDÃO, V. M. D., BARROZO, P. H. M., SOUSA, L. O., SANTOS, R. C. D., SCHWANKE, K., SAMPAIO, F. D., CAVALCANTE, G. G. Molecular detection of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in dogs from municipality of Belém, State of Pará, Brazil. **Ciência Rural**, v. 49, n. 12, p. e20190414, 2019.

BREITSCHWERDT, E. B., HEGARTY, B. C., QUROLLO, B. A., SAITO, T. B., MAGGI, R. G., BLANTON, L. S., BOUYER, D. H. Intravascular persistence of *Anaplasma platys*, *Ehrlichia chaffeensis*, and *Ehrlichia ewingii* DNA in the blood of a dog and two family members. **Parasites & vectors**, v. 7, n. 1, p. 298, 2014.

CACCIÒ, S. M., ANTUNOVIC, B., MORETTI, A., MANGILI, V., MARINCULIC, A., BARIC, R. R., ... & PIENIAZEK, N. J. Molecular characterisation of *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* from naturally infected European dogs. **Veterinary parasitology**, v. 106, n. 4, p. 285-292, 2002.

CAMILO, T. A., MENDONÇA, L. P., DOS SANTOS, D. M., RAMIREZ, L. H., SENNE, N. A., PAULINO, P. G., SANTOS, H. Á. Distribuição espacial e epidemiologia molecular de *Babesia vogeli* em cães domésticos de municípios com

diferentes gradientes de altitude no estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Carrapatos e Doenças Transmitidas por Carrapatos**, v. 12, n. 5, p. 101785, 2021.

CARBONARA, M., IATTA, R., SGROI, G., PAPADOPOULOS, E., LIMA, C., BOUHSIRA, E., OTRANTO, D. *Hepatozoon* species infecting domestic cats from countries of the Mediterranean basin. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 14, n. 5, p. 102192, 2023.

CARDOSO, L., OLIVEIRA, A. C., GRANADA, S., NACHUM-BIALA, Y., GILAD, M., LOPES, A. P., BANETH, G. Molecular investigation of tick-borne pathogens in dogs from Luanda, Angola. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, p. 252, 2016.
CARDOZO, G. P., OLIVEIRA, L. P., ZISSOU, V. G., DONINI, I. A. N., ROBERTO, P. G., MARINS, M. Analysis of the 16S rRNA gene of *Anaplasma platys* detected in dogs from Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 478-479, 2007.

CARVALHO, J. P. D. S., CALAZANS, A. P. F., OLIVEIRA, G. M. S. D., ALVES, L. F., SANTOS, L. D. M., SILVA, F. B., MUNHOZ, A. D. Epidemiology of *Ehrlichia canis*: hematological and biochemical aspects, associated factors, and molecular features in healthy dogs in Porto Seguro, Bahia, Brazil. **Semina ciênc. agrar**, p. 659-676, 2024.

CHAMSAI, T., SAECHIN, A., MONGKOLPHAN, C., SARIYA, L., TANGSUDJAI, S. Tick-borne pathogens *Ehrlichia*, *Hepatozoon*, and *Babesia* co-infection in owned dogs in Central Thailand. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 11, p. 1341254, 2024.

CHAN, K., BĘCZKOWSKI, P. M., ALMENDROS, A. Clinical and Clinicopathological Features of 108 Dogs Infected with *Babesia gibsoni* in Hong Kong. **Animals**, v. 15, n. 5, p. 645, 2025.

CHAO, L. L., KO, P. Y., SHIH, C. M. Molecular screening and genetic identification of *Anaplasma platys* in brown dog tick (*Rhipicephalus sanguineus* sl) infested on stray dogs in Taiwan. **Microorganisms**, v. 12, n. 9, p. 1779, 2024.

CHAUVIN, A., MOREAU, E., BONNET, S., PLANTARD, O., MALANDRIN, L. *Babesia* and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. **Veterinary research**, v. 40, n. 2, p. 37, 2009.

CHIREK, A., SILAGHI, C., PFISTER, K., KOHN, B. Granulocytic anaplasmosis in 63 dogs: clinical signs, laboratory results, therapy and course of disease. **Journal of small animal practice**, v. 59, n. 2, p. 112-120, 2018.

CHECA, R., PETEIRO, L., PÉREZ-HERNANDO, B., DE LA MORENA, M., CANO, L., LÓPEZ-SUÁREZ, P., MIRÓ, G. High serological and molecular prevalence of *Ehrlichia canis* and other vector-borne pathogens in dogs from Boa Vista Island, Cape Verde. **Parasites & Vectors**, v. 17, n. 1, p. 374, 2024.

CICUTTIN, G. L., DE SALVO, M. N., DOHMEN, F. E. G. Molecular characterization of *Ehrlichia canis* infecting dogs, Buenos Aires. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 7, n. 5, p. 954-957, 2016.

CLEMENTE, G. R., GUTIERREZ-LIBERATO, G. A., ANJOS, C. C., SIMÕES, P. I., MUDREK, J. R., FECCHIO, A., KIRCHGATTER, K. Occurrence of *Hepatozoon* in some reptiles from Brazilian biomes with molecular and morphological characterization of *Hepatozoon caimani*. **Diversity**, v. 15, n. 12, p. 1192, 2023.

COSTA, A. P. D., COSTA, F. B., LABRUNA, M. B., SILVEIRA, I., MORAES-FILHO, J., SOARES, J. F., GUERRA, R. D. M. S. N. D. C. A serological and molecular survey of *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis* and *Rickettsia* spp. among dogs in the state of Maranhão, northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 1, p. 28-35, 2015.

COSTA, F. B., MELO, S. A., ARAÚJO, F. R., RAMOS, C. A. D. N., CARVALHO-NETA, A. V., GUERRA, C. Serological, parasitological and molecular assessment of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in cattle from state of Maranhão. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 2, p. 217-224, 2015.

DA SILVA, C. B., SANTOS, H. A., NAVARRETE, M. G., RIBEIRO, C. C. D. U., GONZALEZ, B. C., ZALDIVAR, M. F., MASSARD, C. L. Molecular detection and characterization of *Anaplasma platys* in dogs and ticks in Cuba. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, n. 5, p. 938-944, jul. 2016.

DAHMANI, M., LOUDAH, A., MEDIANNIKOV, O., FENOLLAR, F., RAOULT, D., DAVOUST, B. Detecção molecular de *Anaplasma platys* e *Ehrlichia canis* em cães de Kabylie, Argélia. **Carrapatos e doenças transmitidas por carrapatos**, v. 6, n. 2, p. 198-203, 2015.

DAHMANI, M., MARIÉ, J. L., MEDIANNIKOV, O., RAOULT, D., DAVOUST, B. First identification of *Anaplasma platys* in the blood of dogs from French Guiana. **Vector-borne and Zoonotic Diseases**, v. 15, n. 2, p. 170-172, 2015.

DANTAS-TORRES, F., ALEXANDRE, J., MIRANDA, D. E. D. O., FIGUEREDO, L. A., SALES, K. G. D. S., DE SOUSA-PAULA, L. C., Altreuther, G. Molecular epidemiology and prevalence of babesial infections in dogs in two hyperendemic foci in Brazil. **Parasitology Research**, v. 120, n. 7, p. 2681-2687, 2021.

DANTAS-TORRES, F., CHOMEL, B. B., OTRANTO, D. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 10, p. 437-446, 2012.

DANTAS-TORRES, F., OTRANTO, D. Best practices for preventing vector-borne diseases in dogs and humans. **Trends in parasitology**, v. 32, n. 1, p. 43-55, 2016.

DAVITKOV, D., VUCICEVIC, M., STEVANOVIC, J., KRSTIC, V., TOMANOVIC, S., GLAVINIC, U., STANIMIROVIC, Z. Clinical babesiosis and molecular identification of *Babesia canis* and *Babesia gibsoni* infections in dogs from Serbia. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 63, n. 2, p. 199-208, 2015.

DE AZEVEDO GOMES, L., MORAES, P. H. G., DO NASCIMENTO, L. D. C. S., O'DWYER, L. H., NUNES, M. R. T., ROSSI, A. D. R. P., GONCALVES, E. C. Molecular analysis reveals the diversity of *Hepatozoon* species naturally infecting

domestic dogs in a northern region of Brazil. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 7, n. 6, p. 1061-1066, 2016.

DE BORTOLI, C. P., ANDRÉ, M. R., BRAGA, M. D. S. C., MACHADO, R. Z. Molecular characterization of *Hepatozoon* sp. in cats from São Luís Island, Maranhão, northeastern Brazil. **Parasitology Research**, v. 109, n. 4, p. 1189-1192, 2011.

DEHNOALIYAN, F., AKBARABADI, S., MOHSENI, P., MOHAMMADI, E., NOUROLLAHIFARD, S., POURFATAHI, M., JAJARMI, M. Snapshot Study of the Family Anaplasmatidae, *Anaplasma* spp., and *Ehrlichia* spp. Prevalence in Ticks of Sheep and Cattle in Jiroft City, Iran. **Journal of Arthropod-Borne Diseases**, v. 18, n. 3, p. 189, 2024.

DE LA FUENTE, J., TORINA, A., NARANJO, V., NICOSIA, S., ALONGI, A., LA MANTIA, F., KOCAN, K. M. Molecular characterization of *Anaplasma platys* strains from dogs in Sicily, Italy. **BMC veterinary research**, v. 2, n. 1, p. 24, 2006.

DE SOUSA, K. C. M., FERNANDES, M. P., HERRERA, H. M., BENEVENUTE, J. L., SANTOS, F. M., ROCHA, F. L., ANDRÉ, M. R. Molecular detection of *Hepatozoon* spp. in domestic dogs and wild mammals in southern Pantanal, Brazil with implications in the transmission route. **Veterinary Parasitology**, v. 237, p. 37-46, 2017.

DE SOUSA, K. C. M., FERNANDES, M. P., HERRERA, H. M., FRESCHI, C. R., MACHADO, R. Z., ANDRÉ, M. R. Diversity of piroplasmids among wild and domestic mammals and ectoparasites in Pantanal wetland, Brazil. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 9, n. 2, p. 245-253, 2018.

DI CATALDO, S., CEVIDANES, A., ULLOA-CONTRERAS, C., HIDALGO-HERMOSO, E., GARGANO, V., SACRISTÁN, I., MILLÁN, J. Mapping the distribution and risk factors of Anaplasmatidae in wild and domestic canines in Chile and their association with *Rhipicephalus sanguineus* species complex lineages. **Ticks and Tick-borne diseases**, v. 12, n. 5, p. 101752, 2021.

DÍAZ-SÁNCHEZ, A. A., HOFMANN-LEHMANN, R., MELI, M. L., ROBLEJO-ARIAS, L., FONSECA-RODRÍGUEZ, O., CASTILLO, A. P., CORONA-GONZÁLEZ, B. Molecular detection and characterization of *Hepatozoon canis* in stray dogs from Cuba. **Parasitology international**, v. 80, p. 102200, 2021.

DORDIO, A. M., BECK, R., NUNES, T., PEREIRA DA FONSECA, I., GOMES, J. Molecular survey of vector-borne diseases in two groups of domestic dogs from Lisbon, Portugal. **Parasites & Vectors**, v. 14, n. 1, p. 163, 2021.

EBANI, V. V. Serological survey of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs from central Italy: An update (2013–2017). **Pathogens**, v. 8, n. 1, p. 3, 2019.

EIRAS, D. F., CRAVIOTTO, M. B., VEZZANI, D., EYAL, O., BANETH, G. First description of natural *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* infections in dogs from Argentina. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 36, n. 2, p. 169-173, 2013.

EL HAMIANI KHATAT, S., DAMINET, S., DUCHATEAU, L., ELHACHIMI, L., KACHANI, M., SAHIBI, H. Epidemiological and clinicopathological features of *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs: A systematic review. **Frontiers in veterinary science**, v. 8, p. 686644, 2021.

ELITOK, B.; UNGUR, B. Prevalence of *Ehrlichia canis* infection in Uşak and investigation of clinical, hematological and biochemical signs in infected dogs. **International Biological and Biomedical Journal**, v. 2, n. 4, p. 134-139, 2016.

ESPINO-SOLÍS, G. P., FLORES-LIRA, E. A., BARRERAS-SERRANO, A., GARCÍA-REYNOSO, I. C., DE LA MORA COVARRUBIAS, A., VEGA, F. J., ESCÁRCEGA-ÁVILA, A. Clinical and pathological factors associated with *Ehrlichia canis* in companion dogs. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 17, n. 11, p. 1598-1605, 2023.

EVARISTO, A. M. C., SANTOS, P. T. T., SÉ, F. S., COLLERE, F. C. M., SILVA, B. B., CARDOSO, E. R., HORTA, M. C. Co-infection by tick-borne pathogens and *Leishmania* spp. in dogs with clinical signs suggestive of leishmaniasis from an endemic area in northeastern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 44, p. e07437, 2024.

FACILE, V., SABETTI, M. C., BALBONI, A., URBANI, L., TIROLO, A., MAGLIOCCA, M., BATTILANI, M. Detection of *Anaplasma* spp. and *Ehrlichia* spp. in dogs from a veterinary teaching hospital in Italy: a retrospective study 2012–2020. **Veterinary Research Communications**, v. 48, n. 3, p. 1727-1740, 2024.

FARIA, J. L. M., DAGNONE, A. S., MUNHOZ, T. D., JOÃO, C. F., PEREIRA, W. A. B., MACHADO, R. Z., TINUCCI-COSTA, M. *Ehrlichia canis* morulae and DNA detection in whole blood and spleen aspiration samples. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, p. 98-102, 2010.

FERROLHO, J., ANTUNES, S., VILHENA, H., ANASTÁCIO, S., RAMALHO DE SOUSA, S., FROUCO, G. DOMINGOS, A. The Complexities of Canine Monocytic Ehrlichiosis: Insights into *Ehrlichia canis* and Its Vector *Rhipicephalus sanguineus*. **Microbiology Research**, v. 16, n. 4, p. 85, 2025.

FONSÊCA, A. D. V., OLIVEIRA, L. M. B. D., JORGE, F. R., CAVALCANTE, R. O., BEVILAQUA, C. M. L., PINTO, F. J. M., LABRUNA, M. B. Occurrence of tick-borne pathogens in dogs in a coastal region of the state of Ceará, northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 31, n. 1, p. e021321, 2022.

FONSECA, S. S., PEREIRA, P. D., SILVA, L. L., SILVA, L. F., ALMEIDA, T. M., VAZ, A. F. Hematological approaches of canines naturally infected by *Babesia* spp. and *Hepatozoon* spp. **Comparative Clinical Pathology**, v. 31, n. 2, p. 249-254, 2022.

FORLANO, M. D., TEIXEIRA, K. R. S., SCOFIELD, A., ELISEI, C., YOTOKO, K. S. C., FERNANDES, K. R., MASSARD, C. L. Molecular characterization of *Hepatozoon* sp. from Brazilian dogs and its phylogenetic relationship with other *Hepatozoon* spp. **Veterinary Parasitology**, v. 145, n. 1-2, p. 21-30, 2007.

- FOURIE, J. J., STANNECK, D., LUUS, H. G., BEUGNET, F., WIJNVELD, M., JONGEJAN, F. Transmission of *Ehrlichia canis* by *Rhipicephalus sanguineus* ticks feeding on dogs and on artificial membranes. **Veterinary parasitology**, v. 197, n. 3-4, p. 595-603, 2013.
- FRANÇA, D. A. D., KMETIUK, L. B., SILVA, F. P. D., PANAZZOLO, G. K., BIONDO, L. M., DOMINGUES, O. J., BIONDO, A. W. Serosurvey of *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*, and *Ehrlichia chaffeensis* in Quilombola Communities of Southern Brazil. **Pathogens**, v. 14, n. 4, p. 318, 2025.
- FRIEDHOFF, K. T. Transmission of babesia. In: **Babesiosis of domestic animals and man**. CRC Press. p. 23-52. 2018
- GALENO, L. S., MORENO, B. F. S., ALVES, A. M., FONSECA, W. C., DURÃES, C. C., ABREU, D. M., CHAVES, D. P. Molecular detection of *Babesia canis vogeli* in dogs in the city of São Luís-MA, Brazil. **PUBVET**, v. 12, n. 6, a108, p. 1-4, 2018.
- GALLUZZI, L., CECCARELLI, M., DIOTALLEVI, A., MENOTTA, M., MAGNANI, M. Real-time PCR applications for diagnosis of leishmaniasis. **Parasites & vectors**, v. 11, p. 1-13, 2018.
- GETTINGS, J. R., SELF, S. C., MCMAHAN, C. S., BROWN, D. A., NORDONE, S. K., YABSLEY, M. J. Local and regional temporal trends (2013–2019) of canine *Ehrlichia* spp. seroprevalence in the USA. **Parasites & vectors**, v. 13, n. 1, p. 153, 2020.
- GIANNELLI, A., LATROFA, M. S., NACHUM-BIALA, Y., HODŽIĆ, A., GRECO, G., ATTANASI, A., BANETH, G. Three different *Hepatozoon* species in domestic cats from southern Italy. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 8, n. 5, p. 721-724, 2017.
- GRAY, J. S., ESTRADA-PEÑA, A., ZINTL, A. Vectors of babesiosis. **Annual review of entomology**, v. 64, n. 1, p. 149-165, 2019.
- GREENE, C. E. Infectious diseases of the dog and cat. **Australian Veterinary Journal**, v. 77, n. 3, p. 194, 2008.
- GREENE, C. E. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. 4. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2015.
- GUEDES, P. E. B., OLIVEIRA, T. N. D. A., CARVALHO, F. S., CARLOS, R. S. A., ALBUQUERQUE, G. R., MUNHOZ, A. D., SILVA, F. L. Canine ehrlichiosis: prevalence and epidemiology in northeast Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, p. 115-121, 2015.
- GUIMARÃES, M. D. C. N., AGUIAR, P. T. S., MONTEIRO, T. R. M., SANTOS, C. D. C. D., COSTA, J. C., VALENTE, K. F. Occurrence of tick-borne diseases in domestic dogs in Belém, Pará, Brazil. **Acta Vet Brasilica**, v. 15, n. 4, p. 323-329, 2021.
- HAMEL, D., SILAGHI, C., KNAUS, M., VISSER, M., KUSI, I., RAPTI, D., PFISTER, K. Detection of *Babesia canis* subspecies and other arthropod-borne diseases

in dogs from Tirana, Albania. **Wiener Klinische Wochenschrift**, v. 121, n. Suppl 3, p. 42-45, 2009.

HARRUS, S., ALLEMAN, A. R., BARK, H., MAHAN, S. M., WANER, T. Comparison of three enzyme-linked immunosorbant assays with the indirect immunofluorescent antibody test for the diagnosis of canine infection with *Ehrlichia canis*. **Veterinary microbiology**, v. 86, n. 4, p. 361-368, 2002.

HARRUS, S., WANER, T. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): an overview. **The Veterinary Journal**, v. 187, n. 3, p. 292-296, 2011.

HESS, P. R., ENGLISH, R. V., HEGARTY, B. C., BROWN, G. D., BREITSCHWERDT, E. B. Experimental *Ehrlichia canis* infection in the dog does not cause immunosuppression. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 109, n. 1-2, p. 117-125, 2006.

HODŽIĆ, A., ALIĆ, A., PRAŠOVIĆ, S., OTRANTO, D., BANETH, G., DUSCHER, G. G. *Hepatozoon silvestris* sp. nov.: morphological and molecular characterization of a new species of *Hepatozoon* (Adeleorina: Hepatozoidae) from the European wild cat (*Felis silvestris silvestris*). **Parasitology**, v. 144, n. 5, p. 650-661, 2017.

HODŽIĆ, A.; ALIĆ. *Hepatozoon silvestris*: an emerging feline vector-borne pathogen in Europe?. **Trends in parasitology**, v. 39, n. 3, p. 163-166, 2023.

HUANG, X.; MADAN, A. CAP3: a DNA sequence assembly program. **Genome Research**, v. 9, n. 9, p. 868-877, 1999.

IPEK, N. D. S., ÖZÜBEK, S., AKTAS, M. Molecular evidence for transstadial transmission of *Ehrlichia canis* by *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato under field conditions. **Journal of medical entomology**, v. 55, n. 2, p. 440-444, 2018.

JALOVECKA, M., SOJKA, D., ASCENCIO, M., SCHNITTGER, L. *Babesia* life cycle—when phylogeny meets biology. **Trends in parasitology**, v. 35, n. 5, p. 356-368, 2019.

JEFFERIES, R., RYAN, U. M., JARDINE, J., BROUGHTON, D. K., ROBERTSON, I. D., IRWIN, P. J. Blood, bull terriers and babesiosis: further evidence for direct transmission of *Babesia gibsoni* in dogs. **Australian veterinary journal**, v. 85, n. 11, p. 459-463, 2007.

JEFFERIES, R.; RYAN, U. M.; IRWIN, P. J. PCR–RFLP for the detection and differentiation of the canine piroplasm species and its use with filter paper-based technologies. **Veterinary parasitology**, v. 144, n. 1-2, p. 20-27, 2007.

JOHNSON, E. M., PANCIERA, R. J., ALLEN, K. E., SHEETS, M. E., BEAL, J. D., EWING, S. A., LITTLE, S. E. Alternate pathway of infection with *Hepatozoon americanum* and the epidemiologic importance of predation. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 6, p. 1315-1318, 2009.

- JOJIMA, F. S., GARCIA, J. L., VIDOTTO, M. C., BALARIN, M. R. S., FABRETTI, A. K., GASPARINI, M. R., VIDOTTO, O. Ocorrência e caracterização molecular de espécies de *Babesia* em cães de uma população hospitalar da região de londrina, pr. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 1, p. 277-283, 2008.
- JUDY, L., DAVID, K., PETER, K., DHAVAL, S. Canine ehrlichiosis seropositivity and associated factors in Kenya and Tanzania: a retrospective study. **BMC Veterinary Research**, v. 19, n. 1, p. 175, 2023.
- JUNSIRI, W., Taweethavonsawat, P. Comparative analysis of diagnostic methods and genetic analysis for canine vector-borne diseases in Thailand. **Scientific Reports**, v. 15, n. 1, p. 40194, 2025.
- KAewMONGKOL, S., Suwan, E., Sirinarumitr, T., Jittapalapong, S., Fenwick, S. G., & KAewMONGKOL, G. Detection of specific IgM and IgG antibodies in acute canine monocytic ehrlichiosis that recognize recombinant gp36 antigens. **Heliyon**, v. 6, n. 7, 2020.
- KEGLER, K., NUFER, U., ALIC, A., POSTHAUS, H., OLIAS, P., BASSO, W. Fatal infection with emerging apicomplexan parasite *Hepatozoon silvestris* in a domestic cat. **Parasites & vectors**, v. 11, n. 1, p. 428, 2018.
- KELLY, P. J., XU, C., LUCAS, H., LOFTIS, A., ABETE, J., ZEOLI, F., WANG, C. Ehrlichiosis, babesiosis, anaplasmosis and hepatozoonosis in dogs from St. Kitts, West Indies. **PLoS One**, v. 8, n. 1, p. e53450, 2013.
- KIOUANI, A., AZZAG, N., TENNAH, S., GHALMI, F. *Infection with Babesia canis in dogs in the Algiers region: Parasitological and serological study*. **Veterinary World**, v. 13, n. 7, p. 1351–1357, 2020.
- KIRTZ, G., CZETTEL, B., THUM, D., LEIDINGER, E. *Anaplasma phagocytophilum* in einer österreichischen Hundepopulation: eine Prävalenz-Studie (2001–2006). **Kleintierpraxis**, v. 7, n. 9, p. 562-568, 2007.
- KOHN, B., GALKE, D., BEELITZ, P., PFISTER, K. Clinical features of canine granulocytic anaplasmosis in 18 naturally infected dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 22, n. 6, p. 1289-1295, 2008.
- KOLO, A. *Anaplasma* species in Africa—a century of discovery: a review on molecular epidemiology, genetic diversity, and control. **Pathogens**, v. 12, n. 5, p. 702, 2023.
- KOTTADAMANE, M. R., DHALIWAL, P. S., SINGLA, L. D., BANSAL, B. K., UPPAL, S. K. Clinical and hematobiochemical response in canine monocytic ehrlichiosis seropositive dogs of Punjab. **Veterinary world**, v. 10, n. 2, p. 255, 2017.
- KELLY, P. J., XU, C., LUCAS, H., LOFTIS, A., ABETE, J., ZEOLI, F., WANG, C. Ehrlichiosis, babesiosis, anaplasmosis and hepatozoonosis in dogs from St. Kitts, West Indies. **PLoS One**, v. 8, n. 1, p. e53450, 2013.

LASTA, C. S., SANTOS, A. P. D., MESSICK, J. B., OLIVEIRA, S. T., BIONDO, A. W., VIEIRA, R. F. D. C. GONZÁLEZ, F. H. D. Molecular detection of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in dogs in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 3, p. 360-366, 2013.

LEISEWITZ, A. L., GODDARD, A., CLIFT, S., THOMPSON, P. N., DE GIER, J., VAN ENGELSHOVEN, J. M., SCHOEMAN, J. P. A clinical and pathological description of 320 cases of naturally acquired *Babesia rossi* infection in dogs. **Veterinary parasitology**, v. 271, p. 22-30, 2019.

LAUZI, S.; MAIA, J. P.; EPIS, S.; MARCOS, R.; PEREIRA, C.; LUZZAGO, C. Molecular detection of *Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis* and *Rickettsia monacensis* in dogs from Maio Island of Cape Verde archipelago. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, n. 5, p. 964-969, 2016.

LEISEWITZ, A. L., MRLJAK, V., DEAR, J. D., BIRKENHEUER, A. The diverse pathogenicity of various *Babesia* parasite species that infect dogs. **Pathogens**, v. 12, n. 12, p. 1437, 2023.

LV, K., ZHANG, Y., YANG, Y., LIU, Z., DENG, L. Development of nested PCR and duplex real-time fluorescence quantitative PCR assay for the simultaneous detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi*. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, p. 873190, 2022.

LEVENHAGEN, M., ALVES, R., LEVENHAGEN, M., RIECK, S., LABRUNA, M., BELETTI, M. The spreading process of *Ehrlichia canis* in macrophages is dependent on actin cytoskeleton and iron and calcium influx. **Ars Veterinaria**, V. 29, N. 4, P. 29-29, 2013.

LEVINE, N. D. Progress in taxonomy of the Apicomplexan protozoa. **The Journal of protozoology**, v. 35, n. 4, p. 518-520, 1988.

LI, X. W., ZHANG, X. L., HUANG, H. L., LI, W. J., WANG, S. J., HUANG, S. J., SHAO, J. W. Prevalence and molecular characterization of *Babesia* in pet dogs in Shenzhen, China. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 70, p. 101452, 2020.

LI, Y., WANG, C., ALLEN, K. E., LITTLE, S. E., AHLUWALIA, S. K., GAO, D., Kaltenboeck, B. Diagnosis of canine *Hepatozoon* spp. infection by quantitative PCR. **Veterinary parasitology**, v. 157, n. 1-2, p. 50-58, 2008.

LIN, Y., ZHOU, S., UPADHYAY, A., ZHAO, J., LIAO, C., GUAN, Q., HAN, Q. Molecular Detection and Phylogenetic Characterization of *Anaplasma* spp. in Dogs from Hainan Province/Island, China. **Veterinary Sciences**, v. 10, n. 5, p. 339, 2023.

MACHADO, G. P., DAGNONE, A. S., SILVA, B. F. Anaplasmosse trombocítica canina-uma breve revisão. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 8, n. 15, p. 1-12, 2010.

MAIA, M. O., DE FREITAS, A. L. S., SANTOS, J. G., DOS ANJOS PACHECO, T., DE SOUZA RAMOS, D. G., DA SILVA, G. C. P., PACHECO, R. C. Molecular survey of *Babesia vogeli* and *Hepatozoon* species in dogs from urban area of Midwestern Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 3, p. 1357-1364, 2019.

MARTINESCU, G.; NĂSTASE, A.; TUDOREL, E.; MIRON, L. Strategies for the diagnosis of granulocytic anaplasmosis in two naturally infected dogs. **Animals**, v. 14, n. 1, p. 49, 2024.

MAURYA, P., KUMAR, R., SAHU, S., PAL, A., YADAV, D., CHAND, G., JAISWAL, V. Haemoretic and haemoprotozoan parasites of canine in and around meerut district of western uttar pradesh, india. **International journal**, v. 9, n. 3s, p. 401-405, 2025

MATEI, I. A., D'AMICO, G., YAO, P. K., IONICĂ, A. M., KANYARI, P. W., DASKALAKI, A. A., MIHALCA, A. D. Molecular detection of *Anaplasma platys* infection in free-roaming dogs and ticks from Kenya and Ivory Coast. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, p. 157, 2016.

MEHROTRA, S., TIWARI, R., KUMAR, R., SUNDAR, S. Advances and Challenges in the Diagnosis of Leishmaniasis. **Molecular Diagnosis & Therapy**, p. 1-18, 2025.

MELO, A. L. T., WITTER, R., MARTINS, T. F., PACHECO, T. A., ALVES, A. S., CHITARRA, C. S., AGUIAR, D. M. D. A survey of tick-borne pathogens in dogs and their ticks in the Pantanal biome, Brazil. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 30, n. 1, p. 112-116, 2016.

MENESES, ÍRIS DANIELA SANTOS DE; SOUZA, BÁRBARA MARIA PARANÁ DA SILVA; TEIXEIRA, CARLA MARIA MOREIRA; GUIMARÃES, JOSÉ EUGÊNIO. Perfil clínico-laboratorial da erliquiose monocítica canina em cães de Salvador e região metropolitana, Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 9, n. 4, p. 777-786, 2008.

MINERVINO, A. H. H., MARCILI, A., MORAES-FILHO, J., LIMA, J. T., SOARES, H. S., MALHEIROS, A. F., LABRUNA, M. B. Molecular Detection of Tick-Borne Pathogens in Dogs from Indigenous Communities, Amazon, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 23, n. 9, p. 458–464, 11 ago. 2023.

MIRÓ, G., WRIGHT, I., MICHAEL, H., BURTON, W., HEGARTY, E., RODÓN, J., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. Seropositivity of main vector-borne pathogens in dogs across Europe. **Parasites & vectors**, v. 15, n. 1, p. 189, 2022.

MIRZAYEE, A. R., FASEHI, Z., SAPI, R. M., HIMMAT, A. M., Mechanism of Life Cycle and Transmission of Babesia. **British Journal of Biology Studies**, v. 4, n. 2, p. 19-28, 2024.

MODRÝ, D., BECK, R., HRAZDILOVÁ, K., BANETH, G. A review of methods for detection of *Hepatozoon* infection in carnivores and arthropod vectors. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 17, n. 1, p. 66-72, 2017.

MONTEIRO, S. G. Parasitologia na medicina veterinária. **Rio de Janeiro: Roca**, v. 2, 2017.

MOONARMART, W., SUNGPRADIT, S., RAWANGCHUE, T., SUPHAPHIPHAT, K., SUKSUSIENG, S., JIRAPATTHARASATE, C. Clinical history and hematological findings among canines with monocytic ehrlichiosis. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 45, n. 1, p. 157, 2014.

MORELLI, S., DIAKOU, A., TRAVERSA, D., DI GENNARO, E., SIMONATO, G., COLOMBO, M., DI CESARE, A. First record of *Hepatozoon* spp. in domestic cats in Greece. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 12, n. 1, p. 101580, 2021.

MOVILLA, R., GARCÍA, C., SIEBERT, S., ROURA, X. Countrywide serological evaluation of canine prevalence for *Anaplasma* spp., *Borrelia burgdorferi* (sensu lato), *Dirofilaria immitis* and *Ehrlichia canis* in Mexico. **Parasites & vectors**, v. 9, n. 1, p. 421, 2016.

MUNDIM, A. V., DE MORAIS, I. A., TAVARES, M., CURY, M. C., MUNDIM, M. J. S. Clinical and hematological signs associated with dogs naturally infected by *Hepatozoon* sp. and with other hematozoa: a retrospective study in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 153, n. 1-2, p. 3-8, 2008.

MYLONAKIS, M. E., KOUTINAS, A. F., BILLINIS, C., LEONTIDES, L. S., KONTOS, V., PAPADOPOULOS, O., FYTIANOU, A. Evaluation of cytology in the diagnosis of acute canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a comparison between five methods. **Veterinary microbiology**, v. 91, n. 2-3, p. 197-204, 2003.

MYLONAKIS, M. E.; THEODOROU, K. N. Canine monocytic ehrlichiosis: an update on diagnosis and treatment. **Acta Veterinaria-Beograd**, v. 67, n. 3, p. 299-317, 2017.

NAIR, A. D., CHENG, C., GANTA, C. K., SANDERSON, M. W., ALLEMAN, A. R., MUNDERLOH, U. G., GANTA, R. R. Comparative experimental infection study in dogs with *Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis*, *Anaplasma platys* and *A. phagocytophilum*. **PloS one**, v. 11, n. 2, p. e0148239, 2016.

NELSON, R., COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. Elsevier Brasil, 2015.

NGOKA, I. T., MBOGO, K., KYALLO, M., ODUORI, D. O., PELLE, R. Genetic detection and phylogenetic relationship of *Babesia* species infecting domestic dogs from select regions in Kenya. **Scientific African**, v. 14, p. e01010, 2021.

NOGUEIRA, L. L., BRAGA, J. F., SOUSA, R. L., ARAÚJO, B. V., GUIMARÃES, A. L., CARMO, L. D., AMORA, S. S. Occurrence of pathogens transmitted by *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato ticks in dogs in the semiarid region of Rio Grande do Norte state, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 44, p. e07366, 2024.

NOGUEIRA, R. D. M. S., SILVA, A. B., SATO, T. P., SÁ, J. C. D., SANTOS, A. C. G. D., AMORIM FILHO, E. F., GAZÊTA, G. S. Molecular and serological detection of

Theileria equi, *Babesia caballi* and *Anaplasma phagocytophilum* in horses and ticks in Maranhão, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 12, p. 1416-1422, 2017.

O'DWYER, L. H. Brazilian canine hepatozoonosis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 3, p. 181-193, 2011.

O'DWYER, L. H., MOÇO, T. C., DOS SANTOS PADUAN, K., SPENASSATTO, C., DA SILVA, R. J., & RIBOLLA, P. E. M. Description of three new species of *Hepatozoon* (Apicomplexa, Hepatozoidae) from Rattlesnakes (*Crotalus durissus terrificus*) based on molecular, morphometric and morphologic characters. **Experimental Parasitology**, v. 135, n. 2, p. 200-207, 2013.

OLIVEIRA, B. C. M., FERRARI, E. D., VIOL, M. A., ANDRÉ, M. R., MACHADO, R. Z., COSTA DE AQUINO, M. C., BRESCIANI, K. D. S. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Ehrlichieae) DNA in tissues from *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) ticks in areas endemic for canine monocytic ehrlichiosis in Brazil. **Journal of medical entomology**, v. 56, n. 3, p. 828-831, 2019.

OLIVEIRA, L. V. S., DE OLIVEIRA, R. R. A., DE ALCÂNTARA, É. T., ÁLVARES, F. B. V., FEITOSA, T. F., DE LIMA BRASIL, A. W., VILELA, V. L. R. Hematological, clinical and epidemiological aspects of *Hepatozoon canis* infection by parasitological detection in dogs from the rural area of Sousa, Paraíba, Brazil. **Ciência Rural**, v. 51, n. 3, 2021.

ÖNDER, Z., PEKMEZCI, D., YILDIRIM, A., PEKMEZCI, G. Z., DÜZLÜ, Ö., KOT, Z. N., İNCİ, A. Microscopy and molecular survey of *Hepatozoon* spp. in domestic cats and their ticks: first report of *H. silvestris* from Türkiye. **Parasitology International**, v. 104, p. 102979, 2025.

OSATHANON, R., SAECHIN, A., MONGKOLPHAN, C., BHUSRI, B., TANGSUDJAI, S. *Ehrlichia*, *Hepatozoon*, and *Babesia* coinfection patterns among owned dogs in central Thailand. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 39, n. 4, p. e70154, 2025.

PANTI-MAY, J. A., RODRÍGUEZ-VIVAS, R. I. Canine babesiosis: A literature review of prevalence, distribution, and diagnosis in Latin America and the Caribbean. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 21, p. 100417, 2020.

PASCHOAL, A. T. P., SILVA, A. C. D. S., BERNARDES, J. C., CALDART, E. T., FERREIRA, F. P., SOARES, J. F., MITSUKA-BREGANÓ, R. Molecular detection of *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in a hospital population of dogs clinically diagnosed with hemoparasitosis. **Semina: ciências agrárias**. Londrina, PR. Vol. 41, n. 5, Supl. 1 (2020), p. 2143-2152, 2020.

PENZHORN, B. L. Don't let sleeping dogs lie: unravelling the identity and taxonomy of *Babesia canis*, *Babesia rossi* and *Babesia vogeli*. **Parasites & vectors**, v. 13, n. 1, p. 184, 2020.

PEREIRA, M. E., CANEI, D. H., CARVALHO, M. R., DIAS, Á. F. D. L. R., NAKAZATO, L., SOUSA, V. R. F. Molecular prevalence and factors associated with

Ehrlichia canis infection in dogs from the North Pantanal wetland, Brazil. **Veterinary World**, v. 16, n. 6, p. 1209, 2023.

PÉREZ-MACCHI S, PEDROZO R., BITTENCOURT P., MÜLLER A. Prevalence, molecular characterization and risk factor analysis of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in domestic dogs from Paraguay. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 62, p. 31-39, 2019.

PERVEEN, N., MUHAMMAD, K., MUZAFFAR, S. B., ZAHEER, T., MUNAWAR, N., GAJIC, B., WILLINGHAM, A. L. Host-pathogen interaction in arthropod vectors: Lessons from viral infections. **Frontiers in immunology**, v. 14, p. 1061899, 2023.

PIRATAE, S., SENAWONG, P., CHALERMCHAT, P., HARNARSA, W., SAE-CHUE, B. Molecular evidence of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* and the association of infections with hematological responses in naturally infected dogs in Kalasin, Thailand. **Veterinary World**, v. 12, n. 1, p. 131, 2019.

QUEIROZ, S., AGUIAR, D., JUNIOR, E. S., REGGIANI, D., CARVALHO, T., AGOPIAN, R., MORAES FILHO, J. Detection and laboratory findings due to *Ehrlichia canis* in dogs from the south area of São Paulo–SP, Brazil. **Brazilian Journal of Global Health**, v. 2, n. 7, p. 1-5, 2022.

QUROLLO, B. A., STILLMAN, B. A., BEALL, M. J., FOSTER, P., HEGARTY, B. C., BREITSCHWERDT, E. B., CHANDRASHEKAR, R. Comparison of *Anaplasma* and *Ehrlichia* species-specific peptide ELISAs with whole organism-based immunofluorescent assays for serologic diagnosis of anaplasmosis and ehrlichiosis in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 82, n. 1, p. 71-80, 2021.

RAR, V., TKACHEV, S., TIKUNOVA, N. Genetic diversity of *Anaplasma* bacteria: Twenty years later. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 91, p. 104833, 2021.

RAVINDRAN, R., HEMBRAM, P. K., KUMAR, G. S., KUMAR, K. G. A., DEEPA, C. K., VARGHESE, A. Transovarial transmission of pathogenic protozoa and rickettsial organisms in ticks. **Parasitology research**, v. 122, n. 3, p. 691-704, 2023.

RAWANGCHUE, T., SUNGPRADIT, S. Clinicopathological and molecular profiles of *Babesia vogeli* infection and *Ehrlichia canis* coinfection. **Veterinary World**, v. 13, n. 7, p. 1294, 2020.

REITHINGER, R.; DUJARDIN, J.-C. Molecular diagnosis of leishmaniasis: current status and future applications. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 1, p. 21–25, 2007.

RIBEIRO, C. M., MATOS, A. C., AZZOLINI, T., BONES, E. R., WASNIESKI, E. A., RICHINI-PEREIRA, V. B., VIDOTTO, O. Molecular epidemiology of *Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis* and *Babesia vogeli* in stray dogs in Paraná, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 02, p. 129-136, 2017.

RISTIC, M.; WOLDEHIWET, Z. **Rickettsial and Chlamydial Diseases of Domestic Animals**. Pergamon, 1993.

- RODRIGUEZ-VIVAS, R. I.; ALBORNOZ, R. E. F.; BOLIO, G. M. E. *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatan, Mexico: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. **Veterinary Parasitology**, v. 127, n. 1, p. 75-79, 2005.
- ROTONDANO, T. E. D. F., ALMEIDA, H. K. A., KRAWCZAK, F. D. S., SANTANA, V. L., VIDAL, I. F., LABRUNA, M. B., MELO, M. A. D. Survey of *Ehrlichia canis*, *Babesia* spp. and *Hepatozoon* spp. in dogs from a semiarid region of Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, p. 52-58, 2015.
- RUBINI, A. S., PADUAN, K. D. S., CAVALCANTE, G. G., RIBOLLA, P. E. M., O'DWYER, L. H. Molecular identification and characterization of canine *Hepatozoon* species from Brazil. **Parasitology Research**, v. 97, n. 2, p. 91-93, 2005.
- RUCKSAKEN, R., MANEERUTTANARUNGROJ, C., MASWANNA, T., SUSSADEE, M. E KANBUTRA, P. Comparison of conventional polymerase chain reaction and routine blood smear for the detection of *Babesia canis*, *Hepatozoon canis*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma platys* in Buriram Province, Thailand. **Veterinary world**, v. 12, n. 5, pág. 700, 2019.
- SÁDLOVÁ, J., YEO, M., MATEUS, D. S., PHELAN, J., HAI, L. A., BHATTACHARYYA, T., MILES, M. A. Comparative genomics of *Leishmania donovani* progeny from genetic crosses in two sand fly species and impact on the diversity of diagnostic and vaccine candidates. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 18, n. 1, p. e0011920, 2024.
- SAID, M. B., BELKAHIA, H. MESSADI, L. *Anaplasma* spp. in North Africa: a review on molecular epidemiology, associated risk factors and genetic characteristics. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 9, n. 3, p. 543-555, 2018.
- SAINZ, Á., ROURA, X., MIRÓ, G., ESTRADA-PEÑA, A., KOHN, B., HARRUS, S., & SOLANO-GALLEGO, L. Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. **Parasites & vectors**, v. 8, n. 1, p. 75, 2015.
- SALEM, N. Y., FARAG, H. S. Clinical, hematologic, and molecular findings in naturally occurring *Babesia canis vogeli* in Egyptian dogs. **Veterinary Medicine International**, v. 2014, n. 1, p. 270345, 2014.
- SANGER, F., NICKLEN, S., COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the national academy of sciences**, v. 74, n. 12, p. 5463-5467, 1977.
- SANTAMARIA, A., CALZADA, J. E., SALDAÑA, A., YABSLEY, M. J., GOTTDENKER, N. L. Molecular diagnosis and species identification of *Ehrlichia* and *Anaplasma* infections in dogs from Panama, Central America. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 14, n. 5, p. 368-370, 2014.
- SANTOS, F., COPPEDE, J. S., PEREIRA, A. L., OLIVEIRA, L. P., ROBERTO, P. G., BENEDETTI, R. B., MARINS, M. Molecular evaluation of the incidence of *Ehrlichia*

canis, *Anaplasma platys* and *Babesia* spp. in dogs from Ribeirão Preto, Brazil. **The Veterinary Journal**, v. 179, n. 1, p. 145-148, 2009.

SANTOS, F., COPPEDE, J. S., PEREIRA, A. L., OLIVEIRA, L. P., ROBERTO, P. G., BENEDETTI, R. B., MARINS, M. Molecular evaluation of the incidence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* and *Babesia* spp. in dogs from Ribeirão Preto, Brazil. **The Veterinary Journal**, v. 179, n. 1, p. 145-148, 2009.

SANTOS, H. A., PIRES, M. S., VILELA, J. A., SANTOS, T. M., FACCINI, J. L., BALDANI, C. D., MASSARD, C. L. Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in Brazilian dogs by real-time polymerase chain reaction. **Journal of veterinary diagnostic investigation**, v. 23, n. 4, p. 770-774, 2011.

SAVIĆ, S., VIDIĆ, B., GRGIĆ, Z., POTKONJAK, A., SPASOJEVIC, L. Emerging vector-borne diseases—incidence through vectors. **Frontiers in public health**, v. 2, p. 267, 2014.

SELIM, A., ALMOHAMMED, H., ABDELHADY, A., ALOUFFI, A., ALSHAMMARI, F. A. Molecular detection and risk factors for *Anaplasma platys* infection in dogs from Egypt. **Parasites & vectors**, v. 14, n. 1, p. 429, 2021.

SELIM, A., MEGAHED, A., BEN SAID, M., ALANAZI, A. D., SAYED-AHMED, M. Z. Molecular survey and phylogenetic analysis of *Babesia vogeli* in dogs. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 6988, 2022.

SHI, K., LI, J., YAN, Y., CHEN, Q., WANG, K., ZHOU, Y., NING, C. Dogs as new hosts for the emerging zoonotic pathogen *Anaplasma capra* in China. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, p. 394, 2019.

SHIPOV, A., KLEMENT, E., REUVENI-TAGER, L., WANER, T., HARRUS, S. Prognostic indicators for canine monocytic ehrlichiosis. **Veterinary parasitology**, v. 153, n. 1-2, p. 131-138, 2008.

SILVA, A. B., COSTA, A. P., DE SÁ, J. C., COSTA, F. B., DOS SANTOS, A. C. G. Detecção molecular de *Babesia canis vogeli* em cães e em *Rhipicephalus sanguineus* na mesorregião do oeste maranhense, nordeste brasileiro. **Ciência Animal Brasileira/Brazilian Animal Science**, v. 13, n. 3, p. 388-395, 2012.

SILVA, G. C. F. D., BENITEZ, A. D. N., GIROTTO, A., TARODA, A., VIDOTTO, M. C., GARCIA, J. L., VIDOTTO, O. Occurrence of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in household dogs from northern Parana. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 21, n. 4, p. 379–385, 1 dez. 2012.

SILVA, V. L. D. B., ALMEIDA, S. L. H. D., MAIA, M. O., SANTOS, T. Á., PAVELEGINI, L. A. D., ZAFFALON, G. B., PACHECO, R. D. C. Post mortem protozoan hemoparasites detection in wild mammals from Mato Grosso state, Midwestern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 30, p. e013021, 2021.

SÁNCHEZ PÉREZ, M., FERIA ARROYO, T. P., VENEGAS BARRERA, C. S., SOSA-GUTIÉRREZ, C., TORRES, J., BROWN, K. A., GORDILLO PÉREZ, G. Predicting the impact of climate change on the distribution of *Rhipicephalus sanguineus* in the Americas. **Sustainability**, v. 15, n. 5, p. 4557, 2023.

SINGH, M. D., SINGH, H., SINGH, N. K., SINGH, N. K., KASHYAP, N., SOOD, N. K., RATH, S. S. Development of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for detection of *Hepatozoon canis* infection in dogs. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 10, n. 2, p. 371-376, 2019.

SKRABALO, Z.; DEANOVIC, Z. Piroplasmosis in Man. Report on a Case. 1957. SMITH, R. D., SELLS, D. M., STEPHENSON, E. H., RISTIC, M., HUXSOLL, D. L. Development of *Ehrlichia canis*, causative agent of canine ehrlichiosis, in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and its differentiation from a symbiotic rickettsia. **American Journal of Veterinary Research**, v. 37, n. 2, p. 119-126, 1976.

SMITH, T. G. The genus *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adeleina). **Journal of Parasitology**, 82,565–585, 1996.

SNELLGROVE, A. N., KRAPIUNAYA, I., FORD, S. L., STANLEY, H. M., WICKSON, A. G., HARTZER, K. L., LEVIN, M. L. Vector competence of *Rhipicephalus sanguineus* sensu stricto for *Anaplasma platys*. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 11, n. 6, p. 101517, 2020.

SOARES, R., RAMOS, C. A., PEDROSO, T., BABO-TERRA, V., CLEVELAND, H., ARAÚJO, F. D. Molecular survey of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs from Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 1, p. 301-306, 2017.

SOUSA, E. J. N., FERREIRA, N. L., DE SOUSA, M. C. F., DA SILVA, P. O., JUNIOR, J. R. P., DA SILVA COSTA, M., MAGALHÃES, P. C. Coinfecção de anaplasmo e erliquiose: Relato de caso. **Pubvet**, v. 15, p. 188, 2020.

SPARAGANO, O. A., DE VOS, A. P., PAOLETTI, B., CAMMÀ, C., DE SANTIS, P., OTRANTO, D., GIANGASPERO, A. Molecular detection of *Anaplasma platys* in dogs using polymerase chain reaction and reverse line blot hybridization. **Journal of veterinary diagnostic investigation**, v. 15, n. 6, p. 527-534, 2003.

STUEN, S., GRANQUIST, E. G., SILAGHI, C. *Anaplasma phagocytophilum*—a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 3, p. 31, 2013.

TAQUES, I. I. G. G., CAMPOS, A. N. S., KAVASAKI, M. L., DE ALMEIDA, S. L. H., DE AGUIAR, D. M. Geographic distribution of *Ehrlichia canis* TRP genotypes in Brazil. **Veterinary Sciences**, v. 7, n. 4, p. 165, 2020.

TEODOROWSKI, O., WINIARCZYK, S., DEBIAK, P., SKRZYPCZAK, M., MAZUREK, Ł., ADASZEK, L. Clinical course of granulocytic anaplasmosis in hunting dogs. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 24, n. 2, 2021.

THOMAS, R., SANTODOMINGO, A., SABOYA-ACOSTA, L., QUINTERO-GALVIS, J. F., MORENO, L., URIBE, J. E., MUÑOZ-LEAL, S. *Hepatozoon* (Eucoccidiorida: Hepatozoidae) in wild mammals of the Americas: a systematic review. **Parasites & vectors**, v. 17, n. 1, p. 108, 2024.

THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

TILA, H., KHAN, M., ALMUTAIRI, M. M., ALOUFFI, A., AHMED, H., TANAKA, T., ALI, A. First report on detection of *Hepatozoon ayorgbor* in *Rhipicephalus haemaphysaloides* and *Hepatozoon colubri* in *Haemaphysalis sulcata* and *Hyalomma anatolicum*: risks of spillover of *Hepatozoon* spp. from wildlife to domestic animals. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 10, p. 1255482, 2023.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia** 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

UETI, M. W., KNOWLES, D. P., DAVITT, C. M., SCOLES, G. A., BASZLER, T. V., PALMER, G. H. Quantitative differences in salivary pathogen load during tick transmission underlie strain-specific variation in transmission efficiency of *Anaplasma marginale*. **Infection and immunity**, v. 77, n. 1, p. 70-75, 2009.

UPADHYAY, A., WALEED, R. M., WANG, J., ZHAO, J., GUAN, Q., LIAO, C., HAN, Q. An innovative and user-friendly smartphone-assisted molecular diagnostic approach for rapid detection of canine vector-borne diseases. **Parasitology Research**, v. 120, n. 5, p. 1799-1809, 2021.

VÁSQUEZ-AGUILAR, A. A., BARBACHANO-GUERRERO, A., ANGULO, D. F., JARQUÍN-DÍAZ, V. H. Phylogeography and population differentiation in *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Hepatozoidae) reveal expansion and gene flow in world populations. **Parasites & Vectors**, v. 14, n. 1, p. 467, 2021.

VENUGOPAL, G., TRESAMOL, P. V., VINODKUMAR, K., SHYMA, V. H., PRIYA, P. M., AJITH, Y. Occurrence, Clinical and haemato-biochemical profiling of *Anaplasma platys* infection in naturally infected dogs. **Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 56, n. 3, p. 529-534, 2025.

VERMA, S., SRIVASTAVA, M. K., TIWARI, J., KUMAR, A., BHATT, S., SACHAN, R., SINGH, S. Investigation of *Hepatozoon canis* Related Alterations in the Haemato Biochemical Profile of Dogs. **Journal of Advances in Biology & Biotechnology**, v. 27, n. 9, p. 603-611, 2024.

VILLIERS, L., SCHOEMAN, J. P., PENZHORN, B. L., MOLINI, U., DE VILLIERS, M., MAKGABO, S. M., OOSTHUIZEN, M. C. Prevalence, diagnostic evaluation, and disease associations of vector-borne pathogens in domestic dogs across Namibia: a multi-modal approach. **Parasites & Vectors**, v. 18, n. 1, p. 275, 2025.

WANER, T., HARRUS, S., JONGEJAN, F., BARK, H., KEYSARY, A., CORNELISSEN, A. W. Significance of serological testing for ehrlichial diseases in

dogs with special emphasis on the diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*. **Veterinary parasitology**, v. 95, n. 1, p. 1-15, 2001.

WANER, T.; HARRUS, S. Canine monocytic ehrlichiosis-from pathology to clinical manifestations. **Israel Journal of Veterinary Medicine**, v. 68, n. 1, 2013.

WANG, J., ZHANG, J., KELLY, P., ZHENG, X., LI, M., YOU, J., WANG, C. First description of the pathogenicity of *Babesia vogeli* in experimentally infected dogs. **Veterinary parasitology**, v. 253, p. 1-7, 2018.

WECK, B. C., SERPA, M. C. A., RAMOS, V. N., LUZ, H. R., COSTA, F. B., RAMIREZ, D. G., LABRUNA, M. B. Novel genotypes of *Hepatozoon* spp. in small mammals, Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 15, n. 1, p. 87, 2022.

XIA, Z., YU, D., MAO, J., ZHANG, Z., YU, J. The occurrence of *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis* and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in China. **Journal of Helminthology**, v. 86, n. 2, p. 185-189, 2012.

YOUNG, K. M., CORRIN, T., WILHELM, B., UHLAND, C., GREIG, J., MASCARENHAS, M., WADDELL, L. A. Zoonotic Babesia: A scoping review of the global evidence. **PloS one**, v. 14, n. 12, p. e0226781, 2019.

ZEMTSOVA, G. E., APANASKEVICH, D. A., REEVES, W. K., HAHN, M., SNELGROVE, A., LEVIN, M. L. Phylogeography of *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* and its relationships with climatic factors. **Experimental and Applied Acarology**, v. 69, n. 2, p. 191-203, 2016.

ZOBBA, R., MURGIA, C., DAHMANI, M., MEDIANNIKOV, O., DAVOUST, B., PIREDDA, R., ALBERTI, A. Emergence of *Anaplasma* Species Related to *A. phagocytophilum* and *A. platys* in Senegal. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 1, p. 35, 2022.

ZOBBA, R.; ANFOSSI, A. G.; PARPAGLIA, M. L. P.; DORE, G. M.; CHESSA, B.; SPEZZIGU, A.; ROCCA, S.; VISCO, S.; PITTAU, M.; ALBERTI, A. Molecular investigation and phylogeny of *Anaplasma* spp. in Mediterranean ruminants reveal the presence of neutrophil-tropic strains closely related to *A. platys*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 1, p. 271-280, 2014.

ZYGNER, W., GOJSKA-ZYGNER, O., BARTOSIK, J., GÓRSKI, P., KARABOWICZ, J., KOTOMSKI, G., NORBURY, L. J. Canine babesiosis caused by large *Babesia* species: global prevalence and risk factors—a review. **Animals**, v. 13, n. 16, p. 2612, 2023.

ANEXO A. Parecer de aprovação da Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEAA) da UEMA.




Centro de Ciências Agrárias
Curso de Medicina Veterinária
Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEAA)
CIAEP 02.0398.2025

descritos e são compatíveis com o GI informado?		☐ SIM ☐ NÃO ☒ NÃO SE APLICA	
Condições de alojamento e alimentação dos animais são adequadas?		☐ AS CONDIÇÕES DE ALOJAMENTO E ALIMENTAÇÃO NÃO FORAM DESCRITAS.	
Realizará EUTANÁSIA?	☐ SIM ☒ NÃO	Se SIM, a metodologia é adequada?	☒ SIM ☐ NÃO
O destino final dos animais, assim como o descarte de material biológico estão descritos e são adequados?		☐ SIM ☐ NÃO ☒ NÃO SE APLICA ☐ NÃO INFORMADO	
CONSIDERAÇÕES DO PARECERISTA (opcional)			
O projeto atende aos critérios estabelecidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). A metodologia proposta é adequada para os objetivos do estudo. A invasividade é mínima e não há previsão de danos aos animais, garantindo o cumprimento das normas éticas e de bem-estar animal.			

3. PARECER DO PROJETO

PARECER:	☒ APROVADO ☐ PENDÊNCIAS ☐ NÃO APROVADO
Em caso de PARECER SOB PENDÊNCIAS (recomendações para posterior reavaliação)	
Clique ou toque aqui para inserir o texto.	
Em caso de PARECER NÃO APROVADO (justifique)	
Clique ou toque aqui para inserir o texto.	

Documento assinado digitalmente



TIAGO BARBALHO LIMA
 Data: 18/03/2026 08:50:11-0300
 Verifique em <https://validar.itf.gov.br>

ASSINATURA

Tiago Barbalho Lima

NOME COMPLETO PARECERISTA