

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 27/02/2021.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS”
CÂMPUS DE JABOTICABAL

DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Hepatozoon* spp. EM
ROEDORES NO BRASIL

Lívia Perles

Médica Veterinária

2019

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “FACULDADE DE
CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS” - CÂMPUS DE
JABOTICABAL**

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Hepatozoon* spp. EM
ROEDORES NO BRASIL**

Lívia Perles

Orientador: Prof. Dr. Marcos Rogério André

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Patologia Veterinária)

2019

P451d Perles, Livia
Diversidade genética de Hepatozoon spp. em roedores no Brasil / Livia
Perles. -- Jaboticabal, 2019
65 p. : il., tabs., fotos, mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Marcos Rogério André

1. 18S rRNA. 2. Hepatozoonose. 3. Filogenia. 4. Diversidade haplotípica. 5.
Rodentia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Hepatozoon* spp. EM ROEDORES NO BRASIL

AUTORA: LIVIA PERLES

ORIENTADOR: MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MEDICINA VETERINÁRIA, área: Patologia Animal pela Comissão Examinadora:

Marcos R. André

Prof. Dr. MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ
Departamento de Patologia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Estevam Guilherme Lux Hoppe

Prof. Dr. ESTEVAM GUILHERME LUX HOPPE
Depto de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP / Jaboticabal

Lúcia Helena Odwyer de Oliveira

Profa. Dra. LÚCIA HELENA ODWYER DE OLIVEIRA
Departamento de Parasitologia-Instituto de Biociências/UNESP / Botucatu/SP

Jaboticabal, 27 de fevereiro de 2019

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Lívia Perles – Filha de Benedito Aparecido Perles e Roseli Inês Stuari Perles nasceu em 26 de fevereiro de 1992, na cidade de Catanduva/SP. Em 2010 ingressou na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Câmpus Jaboticabal, onde em 2015 se formou Médica Veterinária. Realizou durante a graduação duas iniciações científicas sob orientação do Prof. Dr. Maurício Barbanti Duarte no NUPECCE (Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos) com projetos na área de Genética da Conservação. No ano de 2015 ingressou no programa de Residência em Área Profissional de Saúde – Medicina Veterinária e Saúde, na subárea Medicina de Animais Selvagens sob orientação da Prof. Dra. Karin Werther. Ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (Patologia Veterinária), em março de 2017, sob orientação do Prof. Dr. Marcos Rogério André, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Câmpus Jaboticabal, com bolsa de estudo da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

EPÍGRAFE

“A capacidade de destruir do homem partiu do arco e flecha, chegou à bomba atômica e irá muito além dela. Mas a natureza lhe cobrará tributos cada vez maiores, e se desejarmos continuar como elementos integrantes dessa mesma Natureza, a quem devemos uma grande parcela de nossa existência, façamos-lhe justiça, conservando-a”

Augusto Ruschi

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Roseli Inês Stuqui Perles e Benedito
Aparecido Perles, por todo apoio durante essa etapa

AGRADECIMENTOS

À Deus por toda sabedoria e força pra continuar meu caminho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Unesp, Universidade de São Paulo, Unesp, Campus Jaboticabal), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - Processo 2015/14896-1) pelo apoio financeiro para realizar esta pesquisa. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Aos meus pais Roseli Inês Stuqui Perles e Benedito Aparecido Perles, por todo amor e dedicação empenhados para que eu alcance meus objetivos. Obrigada por sempre terem sido meus grandes exemplos.

Ao meu orientador Prof. Marcos Rogério André, pela oportunidade e confiança.

Ao Laboratório de Biologia de Tripanosomatídeos, Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios e Laboratório de Hantavíroses e Rickettsioses, Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil, por terem gentilmente cedido as amostras, especialmente ao Dr. André Rodrigues Roque, Dr. Paulo D'Andrea, e Dra. Elba Regina Lemos.

Aos componentes da banca de qualificação de mestrado, Prof. Dr. José Maurício Barbanti Duarte e Prof. Dr. Alessandro de Mello Varani pelas considerações e auxílio no desenvolvimento final do trabalho.

À Professora Adriana Coletto e a pós graduanda Amanda de Faria pela contribuição no trabalho.

Às irmãs que a Unesp me deu: Aline Kawanami, Julia Maria Ribeiro e agora Alissa Ribeiro Monteiro Serrano. Muito obrigada por todo amor e carinho durante todos esses anos.

Ao meu namorado Gustavo Felippelli, por toda ajuda e companheirismo.

À Profa. Karin e aos colegas selvagens Caroline do Couto, Juliana Paula de Oliveira, Guilherme Henrique Fernandes Barranco, Mariele de Santi e Isabela Maciel Soriano, por me permitirem estar perto dos animais que eu tanto amo.

À todos meus colegas do Departamento de Patologia Veterinária: Keyla Carstens de Sousa, Jyan Lucas Benevenuto, Victoria Valente, Natalia Serra, Marcia Mariza Gomes Jusi, Pamela Rodrigues Reina Moreira, Paulo Henrique Leal Bertolo, Gabriela Piován, Andresa Matsui, Isabela Perossi, Paulo Martinelli, Luiz Ricardo Gonçalves, Simone Fernandes, Kayo Castilho Neto, Ana Cláudia Calchi, por todo aprendizado e pelas conversas diárias. Em especial a Priscila Ikeda, Leidiane Duarte e Renan Bressianini do Amaral pela amizade.

Aos colegas David Galindo, Caio Bustamante e Nathan Cruz pelo companheirismo e momentos de alegria.

À todos estagiários e aos alunos de iniciação científica pelo comprometimento ao seu trabalho e por toda ajuda fornecida nesses dois anos.

Aos técnicos e funcionários do Departamento de Patologia Veterinária, Rafaela, Mabel, Edgard, Cristina e Antônio.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Agente etiológico e Ciclo biológico.....	2
2.2 Transmissão.....	4
2.3 Epidemiologia.....	5
2.4 Sinais Clínicos e achados laboratoriais.....	5
2.5 Diagnóstico.....	6
2.6 <i>Hepatozoon</i> spp. em roedores.....	8
2.7 Diagnóstico da infecção por <i>Hepatozoon</i> spp. em roedores.	12
2.7.1 Presença de gametócitos em esfregaços sanguíneos corados.....	12
2.7.2 Presença de merontes em cortes histopatológicos.....	14
2.7.3 <i>Imprint</i> de órgãos.....	15
2.7.4 Detecção molecular e inferências filogenéticas.....	15
3. OBJETIVOS.....	20
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
4.1 Espécies amostradas e área de estudo.....	21
4.2 Extração de DNA das amostras de tecido esplênico de roedores.....	22
4.3 Controle endógeno da PCR.....	22
4.4 Reações de Amplificação para <i>Hepatozoon</i> spp.....	23
4.5 Purificação e quantificação dos amplicómeros.....	24
4.6 Sequenciamento.....	24
4.7 Análise das Sequências e construção de árvores filogenéticas.....	25
4.8 Diversidade genética de <i>Hepatozoon</i> spp.....	25
4.9 Análise de Variância Molecular (AMOVA).....	26
4.10 Genealogias.....	26
5. RESULTADOS.....	26
5.1 Qualidade das amostras de DNA extraídas a partir de tecido esplênico de roedores.....	26

5.2	Detecção molecular de <i>Hepatozoon</i> spp. em amostras de tecido esplênico de roedores.....	28
6.	DISCUSSÃO.....	49
7.	CONCLUSÃO.....	53
8.	REFERÊNCIAS.....	53

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1.	Estudos realizados para pesquisa de <i>Hepatozoon</i> sp. em roedores na Europa, África , América do Norte, Ásia e América do Sul.....	8
Tabela 2.	Número total e espécies de roedores amostrados nos diferentes biomas brasileiros. Amostras de baço de roedores positivas para <i>Hepatozoon</i> sp. seguindo os protocolos de Perkins and Keller (2001) e Ujvari et al., 2004, baseados no gene 18SrRNA, de acordo com as espécies de roedores e respectivos estados de origem.....	28
Tabela 3.	Máxima porcentagem de identidade verificada pelo programa BLAST [®] para sequências de DNA de <i>Hepatozoon</i> spp. obtidas a partir de ensaios de cPCR baseados no gene 18S rRNA pelo protocolo de Perkins and Keller (2001). Todas as sequências apresentaram 100% de <i>query coverage</i>	31
Tabela 4.	Máxima porcentagem de identidade verificada pelo programa BLAST [®] para sequências de DNA de <i>Hepatozoon</i> spp. obtidas a partir de ensaios de cPCR baseados no gene 18S rRNA pelo protocolo de Ujvari et al. (2004). Todas as sequências apresentaram 100% de <i>query coverage</i>	36
Tabela 5.	Polimorfismos e diversidade de sequências 18S rRNA de <i>Hepatozoon</i> spp. (protocolo de Ujvari et al., 2004) obtidas em amostras de baço de roedores amostrados em cinco biomas brasileiros.....	37
Tabela 6.	Alinhamento das sequências de <i>Hepatozoon</i> spp. de roedores obtidas a partir de ensaios de cPCR baseados no gene 18S rRNA pelo protocolo de Ujvari et al. (2004) mostrando os sítios variáveis.....	40
Tabela 7.	Relação, frequência e alocação de haplótipos 18S rRNA de <i>Hepatozoon</i> de roedores no respectivo agrupamento da rede haplotípica (Figura 9) dos indivíduos amostrados nos diferentes estudos brasileiros.....	39
Tabela 8.	Máxima porcentagem de identidade verificada pelo programa BLAST [®] para sequências concatenadas de DNA de <i>Hepatozoon</i> spp. obtidas a partir de ensaios de cPCR baseados no gene 18S rRNA pelos protocolos de Ujvari et al. (2004) e Perkins and Keller (2001).....	44
Tabela 9.	Relação, frequência e alocação de haplótipos 18S rRNA de <i>Hepatozoon</i> de roedores no respectivo agrupamento da rede haplotípica (Figura 15) dos indivíduos amostrados nos diferentes estudos brasileiros. O agrupamento 1 está identificado em	

	azul e o agrupamento 2 está indentificado em rosa...	48
Tabela 10.	Teste AMOVA. Nesse teste, cada um dos agrupamentos (agrupamentos 1 e 2) foi considerado como uma população.....	49

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Ciclo de vida de <i>Hepatozoon</i> spp. em cão.....	3
Figura 2. Distribuição geográfica e ocorrência de <i>Hepatozoon</i> spp. em roedores ao redor do mundo.....	8
Figura 3. Biomas no Brasil onde estudos de ocorrência de <i>Hepatozoon</i> spp. em roedores foram conduzidos.....	13
Figura 4. Distribuição dos roedores capturados (n=472) em cinco biomas brasileiros.....	21
Figura 5. Fotografia de eletroforese em gel de agarose 1,0% corado com brometo de etídeo. Os amplímeros mostrados na foto são relativos à cPCR para o controle endógeno (gene <i>irbp</i>). Primeira canaleta: marcador de peso molecular em escala de 100 pares de bases (Life Technologies®); canaleta C+: controle positivo (DNA de <i>Akodon</i> sp.); canaletas 1-26: amostras de DNA de roedores; canaleta C-: controle negativo (água ultra-pura esterilizada).....	27
Figura 6. Posicionamento filogenético das sequências de <i>Hepatozoon</i> spp. (18S rRNA) detectadas em roedores amostrados em cinco biomas brasileiros com base na análise filogenética Bayesiana de um alinhamento de 800pb (protocolo de Perkins and Keller 2001), utilizando o modelo evolutivo TPM2+F+G4. Os números na árvore indicam valores de probabilidade posterior para os pontos de ramificação. Números de acesso estão em indicados ao lado das sequências. As sequências do presente estudo estão destacadas em vermelho com os respectivos estados.....	33
Figura 7. Posicionamento filogenético das sequências de <i>Hepatozoon</i> sp. (18S rRNA) detectadas em roedores amostrados em cinco biomas brasileiros com base na análise filogenética pelo método de Máxima Verossimilhança de um alinhamento de 800pb (protocolo de Perkins and Keller, 2001), utilizando o modelo evolutivo TPM2+F+G4. Os números na árvore indicam valores de <i>bootstrap</i> para os pontos de ramificação. Números de acesso estão indicados ao lado das sequências. As sequências do presente estudo estão destacadas em vermelho com os respectivos estados.....	34
Figura 8. Análise <i>Network</i> das sequências 18S rRNA de <i>Hepatozoon</i> (protocolo de Perkins e Keller, 2001)	

- obtidas de roedores amostrados no presente estudo, comparativamente a sequências previamente detectadas em répteis, felídeos e canídeos. A análise utilizou o programa *Splitstree* com os parâmetros “Neighbour-Net e “Uncorrected p-distance”..... 35
- Figura 9.** Distribuição **(A)** e rede de haplótipos **(B)** 18S rRNA de *Hepatozoon* detectados em roedores amostrados nos diferentes biomas brasileiros..... 39
- Figura 10.** Posicionamento filogenético das sequências de *Hepatozoon* spp. (18S rRNA) detectadas em roedores amostrados em cinco biomas brasileiros com base na análise filogenética Bayesiana de um alinhamento de 600pb (protocolo de Ujvari et al. 2004) utilizando o modelo evolutivo TIM1+I+G. Os números na árvore indicam valores de suporte de clado para os pontos de ramificação. Números de acesso estão indicados ao lado das sequências. As sequências do presente estudo estão destacadas em vermelho..... 41
- Figura 11.** Posicionamento filogenético das sequências de *Hepatozoon* spp.(18S rRNA) detectadas em roedores amostrados em cinco biomas brasileiros com base na análise filogenética Máxima Verossimilhança de um alinhamento de 600pb (protocolo de Ujvari et al. 2004) utilizando o modelo evolutivo TIM1+I+G. Os números na árvore indicam valores de *bootstrap* para os pontos de ramificação. Números de acesso estão em indicados ao lado das sequências. As sequências do presente estudo estão destacadas em vermelho..... 42
- Figura 12.** Análise *Network* das sequências 18S rRNA de *Hepatozoon* (protocolo de Ujvari et al., 2004) obtidas de roedores amostrados no presente estudo, comparativamente a sequências previamente detectadas em répteis, felídeos e canídeos. A análise utilizou o programa *Splitstree* com os parâmetros “Neighbour-Net e “Uncorrected p-distance”..... 43
- Figura 13.** Posicionamento filogenético das sequências concatenadas de *Hepatozoon* spp. (18S rRNA) detectadas em roedores amostrados em cinco biomas brasileiros com base na análise filogenética Bayesiana de um alinhamento de 1462pb utilizando o modelo evolutivo TIM+G. Os números na árvore indicam valores de probabilidade posterior para os pontos de ramificação. Números de acesso estão em indicados ao lado das sequências. As sequências do presente estudo estão destacadas em vermelho com os respectivos biomas..... 45

- Figura 14.** Posicionamento filogenético das sequências concatenadas de *Hepatozoon* spp.(18S rRNA) detectadas em roedores amostrados em cinco biomas brasileiros com base na análise filogenética Máxima Verossimilhança de um alinhamento de 1462pb utilizando o modelo evolutivo TIM+G. Os números na árvore indicam valores de *bootstrap* para os pontos de ramificação. Números de acesso estão em indicados ao lado das sequências. As sequências do presente estudo estão destacadas em vermelho com os respectivos biomas..... 46
- Figura 15.** A) Distribuição dos agrupamentos de haplótipos 18S rRNA de *Hepatozoon* (1 representado pela cor azul e 2 representado pela cor rosa) detectados em roedores amostrados em diferentes regiões geográficas brasileiras. B) Rede de haplótipos não enraizada para *Hepatozoon* sp. gerada através das sequências do gene ribossomal 18S rDNA com o softawe TCS v.1.21 (Clement et al., 2000). Cada linha da rede representa um simples passo mutacional; os pequenos círculos indicam haplótipos hipotéticos que são intermediários necessários entre os haplótipos amostrados, mas que não foram observados na amostra. O agrupamento 1 está identificado em azul e o agrupamento 2 está indentificado em rosa..... 47

DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Hepatozoon* spp. EM ROEDORES NO BRASIL

Resumo - O gênero *Hepatozoon* spp. engloba protozoários parasitas de uma ampla variedade de vertebrados terrestres. Recentemente, vem se investigando o possível papel de roedores como hospedeiros intermediários e paratênicos nos ciclos de transmissão de espécies de *Hepatozoon* parasitas de carnívoros domésticos e selvagens. O presente estudo teve como objetivo investigar a presença e caracterizar o DNA de *Hepatozoon* spp. em amostras de baço de 31 gêneros de roedores amostrados em cinco biomas brasileiros. Das 462 amostras analisadas 195 amostras foram positivas em um ou ambos os protocolos utilizados. *Hepatozoon* spp. foi detectado em 24 gêneros de roedores, com primeiro relato da infecção pelo referido parasita em *Rattus rattus*, *Mus musculus*, *Proechimys roberti*, *P. cuvieri*, *G. spixii*, *Hylaeamys megacephalus*, *Gracilinanus agilis*, *Cerradomys scotti*, *C. akroai*, *C. marinhui* e *Wiedomys cerradensis*. As análises Bayesianas e de Máxima Verossimilhança das sequências 18S rRNA obtidas mostraram a presença de três clados de *Hepatozoon*, sendo um clado composto por sequências de *Hepatozoon* sp. detectados em roedores e répteis (cobras, jacarés e lagartos), um clado composto por *Hepatozoon americanum* e espécies de *Hepatozoon* detectadas em canídeos e felídeos selvagens, e um clado agrupando *Hepatozoon canis* e *Hepatozoon* spp. detectados em canídeos domésticos e selvagens e *Rhipicephalus sanguineus*. As sequências de *Hepatozoon* do presente estudo foram agrupadas no clado de roedores e répteis. A análise de distância pelo software Splitstree revelou que as sequências do presente estudo foram agrupadas em um grupo com sequências de *Hepatozoon* de outros roedores do Brasil e do mundo, próximas às sequências de *Hepatozoon* detectadas em répteis. As sequências de *Hepatozoon* obtidas de felídeos e canídeos formaram grupos distintos daquelas detectadas em roedores. Para análise de haplótipos 18S rRNA de *Hepatozoon* spp. detectados em roedores em outros estudos realizados no Brasil até o presente momento foram escolhidas 26 sequências e a análise foi realizada com o software TCS. Seis haplótipos foram encontrados, sendo o haplótipo 1 o mais frequente. Os resultados do presente estudo sugerem a existência de estruturação genética das espécies de *Hepatozoon* que ocorrem em roedores no Brasil de acordo com a localidade geográfica.

Palavras-chave: 18S rRNA, hepatozoonose, filogenia, diversidade haplotípica, Rodentia

GENETIC DIVERSITY OF *Hepatozoon* spp. IN RODENTS IN BRAZIL

Abstract- The *Hepatozoon* spp. genus includes protozoan parasites of a wide range of terrestrial vertebrates. Recently, the role of rodents as intermediate and paratenic hosts in the transmission of *Hepatozoon* species parasites of domestic and wild carnivores, has been investigated. The present study aimed to investigate the presence and characterization of *Hepatozoon* spp. in spleen samples of 31 genera of rodents sampled in five Brazilian biomes. Out of 462 samples analyzed, 195 were positive in one or in both protocols. *Hepatozoon* spp. was detected in 24 genera of rodents, with the first report of the infection in *Rattus rattus*, *Mus musculus*, *Proechimys roberti*, *P. cuvieri*, *G. spixii*, *Hylaeamys megacephalus*, *Gracilinanus agilis*, *Cerradomys scotti*, *C. akroai*, *C. marinhui* and *Wiedomys cerradensis*. Bayesian and Maximum Likelihood analyzes of the obtained 18S rRNA sequences demonstrated the presence of three clades of *Hepatozoon*, one clade being composed of *Hepatozoon* sp. detected in rodents and reptiles (snakes, alligators and lizards), a clade composed of *Hepatozoon americanum* and *Hepatozoon* species detected in canids and wild felids, and a clade grouping *Hepatozoon canis* and *Hepatozoon* spp. detected in domestic and wild canids and in *Rhipicephalus sanguineus*. *Hepatozoon* sequences of the present study were grouped in the clade of rodents and reptiles. Distance analysis by Splitstree software revealed that the sequences of the present study were grouped into a group with *Hepatozoon* sequences from other rodents from Brazil and the world, close to the *Hepatozoon* sequences detected in reptiles. For analysis of 18S rRNA haplotypes of *Hepatozoon* spp. detected in rodents from other studies conducted in Brazil up to the moment, 26 sequences were chosen and the analysis was performed with the TCS software. Six haplotypes were found, with haplotype 1 being the most frequent. Results of the present study suggest the existence of genetic structuring of *Hepatozoon* species in rodents in Brazil according to the geographical location.

Key-words- 18S rRNA,hepatozoonose,phylonegy, haplotypic diversity, Rodentia.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Hepatozoon* pertence a um dos seis gêneros de hemoparasitas chamados hemogregarinas, possuindo um ciclo de vida heteroxeno envolvendo um hospedeiro invertebrado definitivo e um hospedeiro vertebrado intermediário. Estudos vêm detectando a presença de espécies *Hepatozoon* em mamíferos domésticos e selvagens, aves, répteis, anfíbios no mundo (Smith 1996).

A epidemiologia da hepatozoonose em animais selvagens e domésticos no Brasil ainda não está totalmente elucidada. Além de cães domésticos, *Hepatozoon* spp. estão amplamente difundido pelo Brasil e já foram detectadas em uma ampla variedade de hospedeiros vertebrados, incluindo felinos domésticos (André et al., 2015), felídeos e canídeos selvagens (André et al., 2010), répteis (O'Dwyer et al., 2013), roedores (Wolf et al., 2016; Demoner et al., 2016; Sousa et al., 2017), marsupiais (Sousa et al., 2017) e quatis (Sousa et al., 2017). Haplótipos de *Hepatozoon* encontrados circulando em roedores selvagens apresentam um maior grau de polimorfismo quando comparados aos encontrados em canídeos domésticos e selvagens e procionídeos no Pantanal sul-matogrossense (Sousa et al., 2017).

Roedores atuam como importantes elos ecológicos nas complexas cadeias epidemiológicas de enfermidades transmitidas por carrapatos. Estes mamíferos, além de atuarem como hospedeiros para diversas espécies de carrapatos, assumem o papel de reservatórios de inúmeros patógenos veiculados por artrópodes (Randolph et al., 1999; Guglielmone e Nava, 2010; Guglielmone et al., 2011).

Espécies de *Hepatozoon* sp. vêm sendo detectadas em roedores em diversas regiões do mundo. No Brasil, os estudos realizados ainda são escassos e pontuais (Criado-Fornélio et al., 2009; Wolf et al., 2016, Demoner et al., 2017; Sousa et al., 2017; Soares et al., 2017; Gomes et al., 2018; Demoner et al., 2018). Dentro deste contexto, o papel dos roedores na epidemiologia das espécies de *Hepatozoon* spp. circulantes no Brasil deve ser investigado. Considerando que os estudos prévios são pontuais e não abrangem todos os biomas brasileiros, o presente trabalho mostra-se valioso uma vez que a investigação de *Hepatozoon* spp. em diferentes regiões com

características climáticas e ambientais diversas pode fornecer informações sobre a distribuição geográfica do protozoário, bem como a diversidade de hospedeiros e estruturação genética desse patógeno, contribuindo para o esclarecimento da epidemiologia da hepatozoonose.

Assim, o atual estudo propõe verificar a ocorrência de *Hepatozoon* sp. em populações de roedores em cinco diferentes biomas no Brasil, traçar inferências filogenéticas das sequências 18S rRNA de *Hepatozoon* spp. de roedores com aquelas detectadas em outros hospedeiros, e avaliar a existência de estruturação genética das espécies de *Hepatozoon* detectadas em roedores no Brasil.

8. CONCLUSÃO

- *Hepatoozon* spp. foi detectado, por meio de métodos moleculares, em 24 gêneros de roedores, com primeiro relato da infecção pelo referido parasita em *Rattus rattus*, *Mus musculus*, *Proechimys roberti*, *P. cuvieri*, *G. spixii*, *Hylaeamys megacephalus*, *Gracilinanus agilis*, *Cerradomys scotti*, *C. akroai*, *C. marinhui* e *Wiedomys cerradensis* em cinco biomas brasileiros diferentes;
- Novos haplótipos de *Hepatoozon* sp. foram encontrados infectando roedores nos diversos biomas brasileiros;
- Existe uma estruturação genética de acordo com a localidade geográfica das populações de *Hepatoozon* parasitas dos roedores amostrados.

9. REFERÊNCIAS

Allen KE, Yabsley MJ, Johnson EM, Reichard MV, Panciera RJ, Ewing SA, Little SE (2011) Novel *Hepatoozon* in Vertebrates from the Southern United States. **Journal of Parasitology** 97:648-653.

Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990) Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology** 215:403-410.

André MR, Adania CH, Teixeira RHF, Vargas GH, Falcade M, Sousa L, Salles AR, Allegretti SM, Felipe PAN, Machado RZ (2010) Molecular detection of *Hepatoozon* spp. in Brazilian and exotic wild carnivores. **Veterinary Parasitology** 173:134–138.

André MR, Herrera HM, Fernandes SJ, Sousa KC, Gonçalves LR, Domingos IH, de Macedo GC, Machado RZ (2015) Tick-borne agents in domesticated and stray cats from the city of Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, midwestern Brazil. **Ticks and Tick Borne Diseases** 6:779-786.

Aydin MF, Sevinc F, Sevinc M (2015) Molecular detection and characterization of *Hepatozoon* spp. in dogs from the central part of Turkey. **Ticks and Tick Borne Diseases** 6:1388–392.

Bajer A, Welc-Faleciak R, Bednarska M, Alsarraf M, Behnke-Borowczyk J, Sinski E, Behnke JM (2014) Long-Term spatiotemporal stability and dynamic changes in the haemoparasite community of bank voles (*Myodes glareolus*) in NE Poland. **Microbial Ecology** 68:196–211.

Barta JR, Ogedengbe JD, Martin DS, Smith TG (2012) Phylogenetic position of the adeleorinid coccidia (Myzozoa, Apicomplexa, Coccidia, Eucoccidiorida, Adeleorina) inferred using 18S rDNA sequences. **Journal of Eukaryotic Microbiology** 59:171–180.

Baneth G e Weigler B (1997) Retrospective case-control study of hepatozoonosis in dogs in Israel. **Journal of Veterinary Internal Medicine** 11:365–370.

Baneth G, Samish M, Alekseev E, Aroch I, Shkap V (2001) Transmission of *Hepatozoon canis* to dogs by naturally fed or percutaneously injected *Rhipicephalus sanguineus* ticks. **Journal of Parasitology** 87:606–611.

Baneth G, Mathew JS, Shkap V, Macintire DK, Barta JR, Ewing SA (2003) Canine hepatozoonosis: two disease syndromes caused by separate *Hepatozoon* spp. **TRENDS in Parasitology** 19:27-31.

Baneth G e Shkap V (2003) Monozoic cysts of *Hepatozoon canis*. **Journal of Parasitology** 89:379-381.

Baneth G. Hepatozoonosis. In: Infectious diseases of the dog and cat. 3rd ed., C. E. Greene (ed.) W. B. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, p.698-705, 2006.

Baneth G, Samish M, Shkap V (2007) Life cycle of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: adeleorina: hepatozoidae) in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and domestic dog (*Canis familiaris*). **Journal of Parasitology** 93:283–299.

Barton CL, Russo EA, Craig TM, Green RW (1985) Canine hepatozoonosis: a retrospective study of 15 naturally occurring cases. **Journal of American Animal Association** 21:125-134.

Benson DA, Mizrachi IK, Lipman DJ, Ostell J, Rapp BA, Wheeler DI (2002) GenBank. **Nucleic Acids Research** 30:17-20.

Birkenheuer AJ, Levy MG, Breitschwerdt EB (2003) Development and Evaluation of a Seminested PCR for Detection and Differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian Genotype) and *B. canis* DNA in Canine Blood Samples. **Journal of Clinical Microbiology** 41:4172-4177

Bonvicino CR, Oliveira JÁ, D'Andrea PS (2008) Guia dos Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Centro Pan - Americano de Febre Aftosa.

Bouer A, André MA, Gonçalves LR, Luzzi MC, Oliveira JP, Rodrigues AC, Varani AM, Miranda VFO, Perles L, Werther K, Machado RZ (2017) *Hepatozoon caimani* in *Caiman crocodilus yacare* (Crocodylia, Alligatoridae) from North Pantanal, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology** 26:352-358.

Breshears AM, Kocan KM, Johnson EM, Panciera RJ (2009) Light and transmission electron microscopic characteristics of a novel *Hepatozoon* spp. in naturally infected cotton rats (*Sigmodon hispidus*). **Parasitology Research** 105:1327–1332.

Cardoso L, Cortes HCE, Eyal O, Reis A, Lopes AP, Vila-Viçosa MJ, Rodrigues PA, Baneth G (2014) Molecular and histopathological detection of *Hepatozoon canis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) from Portugal. **Parasites & Vectors** 7:113.

Clark GM (1958) *Hepatozoon griseisciuri* n. sp.; A New Species of *Hepatozoon* from the Grey Squirrel (*Sciurus carolinensis* Gmelin, 1788), with Studies on the Life Cycle. **The Journal of Parasitology** 44:52-63.

Clement M, Posada D, Crandall KA (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. **Molecular Ecology** 9:1657-1659.

Craig TM (1990) Hepatozoonosis. In: Infectious diseases of the dog and cat. first ed., C. E. Greene (ed.) W. B. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, p.778-785, 1990.

Criado-Fornelio A, Martinez-Marcos A, Buling-Sarana A, Barba-Carretero JC (2003) Molecular studies on *Babesia*, *Theileria* and *Hepatozoon* in southern Europe: part II. Phylogenetic analysis and evolutionary history. **Veterinary Parasitology** 114:173–194.

Criado-Fornelio A, Ruas JL, Casado N, Farias NA, Soares MP, Müller G, Brumt JG, Berne ME, Buling-Saraña A, Barba-Carretero JC (2006) New molecular data on mammalian *Hepatozoon* species (Apicomplexa: Adeleorina) from Brazil and Spain. **Journal of Parasitology** 92:93-99.

Criado-Fornelio A, Buling A, Casado N, Gimenez C, Ruas J, Wendt L, Rosa-Farias N, Pinheiro M, Rey-Valeiron C, Barba-Carretero JC (2009) Molecular characterization of arthropod-borne hematozoans in wild mammals from Brazil, Venezuela and Spain. **Acta Parasitologica** 54:187–193.

Dantas-Torres F, Otranto D, (2015) Further thoughts on the taxonomy and vector role of *Rhipicephalus sanguineus* group ticks. **Veterinary Parasitology**, 208:9–13.

Darriba, D, Taboada GL, Doallo R, Posada D (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. **Nature Methods** 9:772.

Demoner LC, Rubini AS, Paduan KS, Metzger B, Antunes JMAP, Martins TF, Mathias MIC, O'Dwyer LH (2013) Investigation of tick vectors of *Hepatozoon canis* in Brazil. **Ticks and Tick Borne Diseases** 4:542–546.

Demoner LC, Magro NM, da Silva MR, de Paula Antunes JM, Calabuig CI, O'Dwyer LH (2016) *Hepatozoon* spp. infections in wild rodents in area of endemic canine hepatozoonosis in southeastern Brazil. **Ticks and Tick Borne Diseases** 7:859–864.

Demoner LC, Silva MRL, Magro NM, O'Dwyer (2018) *Hepatozoon milleri* sp. nov. (Adeleorina: Hepatozoidae) in *Akodon montensis* (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae) from southeastern Brazil. **Parasitology** 1-8.

de Miranda RL, de Castro JR, Olegário MM, Beletti ME, Mundim AV, O'Dwyer LH, Eyal O, Talmi-Frank D, Cury MC, Baneth G (2011) Oocysts of *Hepatozoon canis* in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* collected from a naturally infected dog. **Veterinary Parasitology** 11:392-396.

de Miranda RL, O'Dwyer LH, de Castro JR, Metzger B, Rubini AS, Mundim A.V., Eyal O, Talmi-Frank D, Cury MC, Baneth G (2014) Prevalence and molecular characterization of *Hepatozoon canis* in dogs from urban and rural areas in Southeast Brazil. **Research in Veterinary Science** 97:325-8.

Droleskey RE, Mercer SH, Deloach JR, Craig TM (1993) Ultrastructure of *Hepatozoon canis* in the dog. **Veterinary Parasitology** 50:83-99.

East ML, Wibbelt G, Lieckfeldt D, Ludwig A, Goller K, Wilhelm K, Schares G, Thierer D, Hofer H (2008) A *Hepatozoon* species genetically distinct from *H. canis* infecting spotted hyenas in the Serengeti ecosystem, Tanzania. **Journal of Wildlife Diseases** 44:45–52.

Eiten G (1972) The cerrado vegetation of Brazil. **Botanical Review** 38: 201-341.

Ewing B, Hillier L, Wendl MC, Green P (1998) Base-calling of automated sequencer traces using Phred. I. Accuracy Assessment. **Genome Research** 8:175-1985.

Ewing B, Green P (1998) Basecalling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. **Genome Research** 8:186-194

Ewing SA, Mathew JS, Panciera RJ (2002) Transmission of *Hepatozoon americanum* (Apicomplexa: Adeleorina) by Ixodids (Acari: Ixodidae). **Journal of**

Medical Entomology 39:631–634.

Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics** 131:479-491.

Excoffier L e Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources** 10:564-567.

Felsenstein J (1985) Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. **Evolution** 39:783–791.

Ferreira EC, Gontijo CM, Cruz I, Melo MN, Silva AM (2010) Alternative PCR protocol using a single primer set for assessing DNA quality in several tissues from a large variety of mammalian species living in areas endemic for leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 105:895-898.

Forlano M, Scofield A, Elisei C, Fernandes KR, Ewing SA, Massard CL (2005) Diagnosis of *Hepatozoon* spp. in *Amblyomma ovale* and its experimental transmission in domestic dogs in Brazil. **Veterinary Parasitology** 134:1–7.

Forlano M, Teixeira KRS, Scofield A, Elisei C, Yotoko KS, Fernandes KR, Linhares GF, Ewing SA, Massard CL (2007) Molecular characterization of *Hepatozoon* sp. from Brazilian dogs and its phylogenetic relationship with other *Hepatozoon* spp. **Veterinary Parasitology** 145:21–30.

Gavazza A, Bizzeti M, Papini R (2003) Observations on dogs found naturally infected with *Hepatozoon canis* in Italy. **Revue de Médecine Veterinaire** 154:565- 571.

Giannelli A, Ramos RA, di Paola G, Mencke, N, Dantas-Torres F, Baneth G, Otranto D (2013) Transtadial transmission of *Hepatozoon canis* from larvae to nymphs of *Rhipicephalus sanguineus*. **Veterinary Parasitology** 19:1–5.

Giannelli A, Lia RP, Annoscia G, Buonavoglia C, Lorusso E, Dantas-Torres F, Baneth G, Otranto D (2016) *Rhipicephalus turanicus*, a new vector of *Hepatozoon canis*. **Parasitology** 21:1-8.

Glez-Peña D, Gomez-Blanco D, Reboiro-Jato M, Fdez-riverola F, Posada D (2010) ALTER: program-oriented conversion of DNA and protein alignments. **Nucleic Acids Research** 38:14-18.

Gomes LA, Moraes PHG, Nascimento LCS, O'Dwyer LH, Nunes MRT, Rossi ARP, Aguiar DCF, Gonçalves EC (2016) Molecular analysis reveals the diversity of *Hepatozoon* species naturally infecting domestic dogs in a northern region of Brazil. **Ticks Tick Borne Disease** 7:1061-1066.

Gomes LA, Moraes LA, Aguiar DCF, Dias HLT, Ribeiro ASS, Rocha HPC, Nunes MRT, Gonçalves EC (2018) Genetic diversity of *Hepatozoon* spp. in

Hydrochoerus hydrochaeris and *Pecari tajacu* from eastern Amazon. **Ticks and Tick born diseases**, 9:314-318.

Gonçalves LR, Filgueira KD, Ahid SM, Pereira JS, Vale AM, Machado RZ, Andre MR (2014) Study on coinfecting vector-borne pathogens in dogs and ticks in Rio Grande do Norte, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 23:407-412.

Gordon D, Abajian C, Green P (1998) Consed: a graphical tool for sequence finishing. **Genome Research** 8:195-202.

Guglielmone AA, Estrada-Pena A, Keirans JE, Robbins RG (2003) Ticks (Acari: Ixodida) of the Neotropical Zoogeographic Region. In: International Consortium on Ticks and Tickborne Diseases (ICTTD-2), Atalanta, Houten, The Netherlands, 173.

Guglielmone AA, Nava S (2010) Rodents of the subfamily Caviinae (Hystricognathi: Caviidae) as hosts for hard ticks (Acari: Ixodidae). **Mastozoologia Neotropical** 17:279–286.

Guglielmone AA, Nava S, Díaz MM (2011) Relationships of South American marsupials (Didelphimorphia, Microbiotheria and Paucituberculata) and hard ticks (Acari: Ixodidae) with distribution of four species of Ixodes. **Zootaxa** 3086:1–30.

Guindon S, Gascuel O (2003) A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. **Systematic Biology** 52:696-704.

Hall TA (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series** 41:95–98.

Hamšíková Z, Silaghi C, Rudolf I, Venclíková K, Mahríková L, Slovák M, Mendel J, Blažejová H, Berthová L, Kocianová E, Hubálek Z, Schnittger L, Kazimírová M (2016) Molecular detection and phylogenetic analysis of *Hepatozoon* spp. in questing *Ixodes ricinus* ticks and rodents from Slovakia and Czech Republic. **Parasitology Research** 115:3897–3904

Harikrishnan T.J., G. Ponnudurai and T. Anna. Some observations on *Hepatozoon muris* in brown rats (*Rattus norvegicus*). *Journal of Veterinary Parasitology*, 25(1) 2011 : 72-75

Harris DJ, Pereira A, Halajian A, Luus-Powell WJ, Kunutu KD (2017) Screening for *Hepatozoon* parasites in gerbils and potential predators in South Africa. **Journal of the South African Veterinary Association** 88:1-4.

Hodžić A, Mrowietz N, Cézanne R, Bruckschwaiger P, Punz S, Habler VE, Tomsik V, Lazar J, Duscher GG, Glawischnig W, Fuehrer HP (2018) Occurrence and diversity of arthropod-transmitted pathogens in

red foxes (*Vulpes vulpes*) in western Austria, and possible vertical (transplacental) transmission of *Hepatozoon canis*. **Parasitology** 145:335-344.

Huson DH, Bryant D (2006) Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies. **Molecular Biology Evolution** 23:254-267.

Inokuma H, Okuda M, Ohno K, Shimoda K, Onishi T (2002) Analysis of the 18S rRNA gene sequence of a *Hepatozoon* detected in two Japanese dogs. **Veterinary Parasitology** 106:265–271.

Ivanov A, Tsachev I. *Hepatozoon canis* and hepatozoonosis in the dog (2008) **Trakia Journal of Sciences** 6:27-35.

Johnson EM, Allen KE, Panciera RJ, Ewing SA, Little SE, Reichard MV (2007) Field survey of rodents for *Hepatozoon* infections in an endemic focus of American canine hepatozoonosis. **Veterinary Parasitology** 150:27–32.

Johnson EM, Allen KE, Breshears MA, Panciera RJ, Little SE, Ewing SA, (2008a) Experimental transmission of *Hepatozoon americanum* to rodents. **Veterinary Parasitology** 151:164–169.

Johnson EM, Allen KE, Panciera RJ, Little SE, Ewing SA (2008b) Infectivity of *Hepatozoon americanum* cystozoites for a dog. **Veterinary Parasitology** 154, 148–150.

Johnson EM, Allen KE, Panciera RJ, Ewing SA, Little SE (2009a) Experimental transmission of *Hepatozoon americanum* to New Zealand White rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) and infectivity of cystozoites for a dog. **Veterinary Parasitology** 164, 162–166.

Johnson EM, Panciera RJ, Allen KE, Sheets ME, Beal JD, Ewing SA, Little SE (2009b) Alternate pathway of infection with *Hepatozoon americanum* and the epidemiologic importance of predation. **Journal of Veterinary Internal Medicine** 23:1315–1318.

Karagenc TI, Pasa S, Kirli G, Hosgor M, Bilgic HB, Ozon YH, Atasoy A, Eren H (2006) A parasitological, molecular and serological survey of *Hepatozoon canis* infection in dogs around the Aegean coast of Turkey. **Veterinary Parasitology** 135:113–119.

Karbowiak G, Rychlik L, Nowakowski W, Wita I (2005) Natural infections of small mammals with blood parasites on the borderland and temperate forest zones. **Acta Theriologica** 50: 31-42.

Katoh K, Rozewicki J, Yamada KD (2017) MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. **Briefings in Bioinformatics** 6:1-7

Kocan AA, Cummings CA, Panciera RJ, Mathew JS, Ewing SA, Barker RW (2000) Naturally occurring and experimentally transmitted *Hepatozoon*

americanum in coyotes from Oklahoma. **Journal of Wildlife Diseases** 36:149-153.

Kubo M, Miyoshi N, Yasuda N (2006) Hepatozoonosis in two species of Japanese wild cats. **Journal of Veterinary Medical Science** 68:833–837.

Laakkonen J, Sukura A, Oksanen A, Henttonen H, Soveri T (2001) Haemogregarines of the genus *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adeleina) in rodents from northern Europe. **Folia Parasitologica** 48:263-267.

Lainson R, Paperna I, Naiff RD (2003) Development of *Hepatozoon caimani* (Carini 1909) Pessôa, de Biasi & de Souza, 1972 in the *Caiman caiman*, *C. crocodilus*, the frog *Rana catesbiana* and the mosquito *Culex fatigans*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 98:103-113.

Leal DD, Dreyer CS, da Silva RJ, Ribolla PE, Paduan S, Bianchi I, O'Dwyer LH (2015) Characterization of *Hepatozoon* spp. in *Leptodactylus chaquensis* and *Leptodactylus podicipinus* from two regions of the Pantanal, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Parasitology Research** 114:1541-9.

Librado P, Rozas J (2009) DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, 25:1451–1452.

Maia JP, Álvares F, Boratýnski Z, Brito JC, Leite JV, Harris DJ (2014) Molecular assessment of *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adeleorina) infections in wild canids and rodents from North Africa, with implications for transmission dynamics across taxonomic groups. **Journal of Wildlife Diseases** 50:837-48.

Macintire DK, Vincent-Johnson N, Dillon AR, Blagburn B, Lindsay D, Whitley EM, Banfield C (1997) Hepatozoonosis in dogs: 22 cases (1989– 1994). **Journal of the American Veterinary Medical Association** 210, 916–922

Melo AL, Witter R, Martins TF, Pacheco TA, Alves AS, Chitarra CS, Dutra V, Nakazato L, Pacheco RC, Labruna MB, Aguiar DM (2016) A survey of tick-borne pathogens in dogs and their ticks in the Pantanal biome, Brazil. **Medical and Veterinary Entomology** 30:112–116.

Metzger B, Paduan KS, Rubini AS, Oliveira TG, Pereira C, O'Dwyer LH (2008) The first report of *Hepatozoon* sp. (Apicomplexa: Hepatozoidae) in neotropical felids from Brazil. **Veterinary Parasitology** 152:28-33.

Miller WW (1908) *Hepatozoon perniciosum* n.g., n. sp., a haemogregarine pathogenic for white rats; with a brief description of the sexual cycle in the intermediate host, a mite (*Laelaps echidninus* Berlese). **Bulletin of the Hygiene Laboratory of Washington** 46: 51 123.

Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees" in Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), New Orleans, LA, p.1 – 8.

Modrý D, Beck R, Hrazdilová K, Baneth G (2017) A review of methods for detection of *Hepatozoon* infection in carnivores and arthropod vectors. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases** 17:66-72.

Moço TC, O'Dwyer LH, Vilela FC, Barrella TH, Silva RJ (2002) Morphologic and Morphometric Analysis of *Hepatozoon* spp. (Apicomplexa, Hepatozoidae) of Snakes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 97:1169-1176.

Moço TC, Silva RJ, Madeira NG, Paduan KS, Rubini AS, Leal DDM, O'Dwyer LH (2002) Morphological, morphometric, and molecular characterization of *Hepatozoon* spp. (Apicomplexa, Hepatozoidae) from naturally infected *Caudisona durissa terrifica* (Serpentes, Viperidae). **Parasitology Research** 110:1393–1401

Moreira JR (2013). Taxonomy, Natural History and Distribution of the Capybara. In: Moreira JR, Ferraz KMPMB, Herrera EA, MacDonald DW. Capybara: Biology, Use and Conservation of an Exceptional Neotropical Species. Nova Iorque: Springer. pp. 3–39.

Mundim AV, Morais IA, Tavares M, Cury MC, Mundim MJ (2008a) 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** 153:3-8.

Mundim ECS, Francisco MMS, Souza JN, Alencar MAG, Ramalho PCD (2008b) Incidência de hemoparasitoses em cães (*Canis familiaris*) de rua capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) da cidade de Anápolis-GO. **Ensaio e Ciência** 12:107-115.

Murata T, Inoue M, Taura Y, Nakama S, Abe H, Fujisaki K (1995) Detection of *Hepatozoon canis* oocyst from ticks collected from the infected dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, v.57, p.111–112, 1995.

Najm NA, Meyer-Kayser E, Hoffmann L, Pfister K, Silaghi c (2014) *Hepatozoon canis* in German red foxes (*Vulpes vulpes*) and their ticks: Molecular characterization and the phylogenetic relationship to other *Hepatozoon* spp. **Parasitology Research** 113:2679–285.

Nava S, Estrada-Peña A, Petney T, Beati L, Labruna MB, Szabó MPJ, Venzal JM, Mastropaolo M, Mangold AJ, Guglielmone AA (2015) The taxonomic status of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). **Veterinary Parasitology** 208: 2–8.

O'Dwyer LH, Moço TC, Silva RJ (2003) Description of the gamonts of a small species of *Hepatozoon* sp. (Apicomplexa, Hepatozoidae) found in *Crotalus durissus terrificus* (Serpentes, Viperidae). **Parasitology Research** 92:110–112

O'DWYER LH. et al. Prevalence, hematology and serum biochemistry in stray dogs naturally infected by *Hepatozoon canis* in São Paulo (2018) **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 58:688-690.

O'DWYER, LH, Saito ME, Hasegawa MY, Kohayagawa A (2011) Brazilian canine hepatozoonosis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 20:181–193.

O'Dwyer LH, Silva RJ, Madeira NG (2011b) Description of gamontogonic and sporogonic stages of *Hepatozoon* spp. (Apicomplexa, Hepatozoidae) from *Caudisoma durissa terrifica* (Serpentes, Viperidae). **Parasitology Research** 108: 845 – 851.

O'Dwyer LH, Moço TC, Paduan KS, Spenassatto C, da Silva RJ, Ribolla PE (2013) Description of three new species of *Hepatozoon* (Apicomplexa, Hepatozoidae) from Rattlesnakes (*Crotalus durissus terrificus*) based on molecular, morphometric and morphologic characters. **Experimental Parasitology** 135:200-207.

Ohbayashi M (1971) *Hepatozoon* sp. in northern voles, *Microtus oeconomus*, on St. Lawrence Island, Alaska. **Journal of Wildlife Diseases** 7:49-51.

Paludo GR, Friedmann H, Dell'Porto A, Macintire DK, Whitley EM, Boudreaux MK, Baneth G, Blagburn BL, Dykstra CC (2005) *Hepatozoon* spp.: pathological and partial 18S rRNA sequence analysis from three Brazilian dogs. **Parasitology Research** 97:167- 170.

Pessoa SB, de Biasi P, Puerto G (1974) Nota sobre a frequência de hemoparasitas em serpentes do Brasil. **Memórias do Instituto Butantan** 38:69–118.

Perkins SL, Keller AK (2001) Phylogeny of nuclear small subunit rRNA genes of hemogregarines amplified with specific primers. **The Journal of Parasitology** 87:870-876.

Posada D, Buckley TR, Thorne J (2004) Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. **Systematic Biology** 53: 793-808.

Ramos R, Ramos C, Araújo F, Oliveira R, Souza I, Pimentel D, Galindo M, Santana M, Rosas E, Faustino M, Alves L (2010) Molecular survey and genetic characterization of tick-borne pathogens in dogs in metropolitan Recife (north-eastern Brazil). **Parasitology Research** 107:1115-1120.

Ramos CA, Babo-Terra VJ, Pedroso TC, Souza Filho AF, de Araújo FR, Cleveland HP (2015) Molecular identification of *Hepatozoon canis* in dogs from Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 24:247-50.

Randolph SE, Miklisová D, Lysy J, Rogers DJ, Labuda M (1999) Incidence from coincidence: patterns of tick infestations on rodents facilitate transmission of tick-borne encephalitis virus. **Parasitology** 118:177–118.

Ronquist F, Huelsenbeck JP (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics** 12:1572–1574.

Rubini AS, Paduan KS, Lopes VVA, O'Dwyer LH (2008) Molecular and parasitological survey of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa Hepatozoidae) in dogs from rural area of São Paulo state, Brazil. **Parasitology Research** 102, 895–899.

Rubini AS, Paduan KS, Martins TF, Labruna MB, O'Dwyer LH (2009) Acquisition and transmission of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Hepatozoidae) by the tick *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology** 164:324–327.

Sanger F, Nicklen S, Coulson AR (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 74:5463-5467.

Salgado FP (2006) **Identificação de hemoparasitos e carrapatos de cães procedentes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, estado do Mato Grosso do Sul, Brasil**. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande.

Shkap V, Baneth G, PIPANO E (1994) Circulating antibodies to *Hepatozoon canis* demonstrated by immunofluorescence. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation** 6:121–123.

Silva MRL, Fornazari F, Martins TF, Hippólito AG, Rolim LS, Bisca JM, Teixeira CR, O'Dwyer LH (2018) A survey of hemoparasites and ectoparasites in *Nasua nasua* Linnaeus, 1766 with a redescription of *Hepatozoon procyonis* Richards, 1961 based on morphological and molecular data. **Parasitology Research** 7:2159-2169.

Simpson VR, Birtles RJ, Bown KJ, Panciera RJ, Butler H, Davison N (2006) *Hepatozoon* species infection in wild red squirrels (*Sciurus vulgaris*) on the Isle of Wight. **Veterinary Record** 159: 202-205.

Smith TG (1996) The genus *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adeleina). **Journal of Parasitology** 82:565–585.

Smith TG, Desser SS (1997) Phylogenetic analysis of the genus *Hepatozoon* Miller 1908 (Apicomplexa: Adeleorina). **Systematic Parasitology** 36:213–221.

Stumpf MP (2004) Haplotype diversity and SNP frequency dependence in the description of genetic variation. **European Journal of Human Genetics** 12:469-477.

Soares HS, Marcili A, Barbieri ARM, Minervino AHH, Moreira TR, Gennari SM, Labruna MB (2017) Novel piroplasmid and *Hepatozoon* organisms infecting the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife** 6:115–121.

Sousa KCM, Fernandes MP, Herrera HM, Benevenuto JL, Santos FM, Rocha FL, Barreto WTG, Macedo GC, Campos JB, Martins TF, Pinto PCEA, Battesti DB, Piranda EM, Cançado PHD, Machado RZ, Andre MR (2017) Molecular detection of *Hepatozoon* spp. in domestic dogs and wild mammals in southern Pantanal, Brazil with implications in the transmission route. **Veterinary Parasitology** 237:37-46.

Spolidorio MG, Labruna MB, Zago AM, Donatele DM, Caliaro KM, Yoshinari NH (2009) *Hepatozoon canis* infecting dogs in the state of Espírito Santo, southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology** 163:357-361.

Stamatakis A, Hoover P, Rougemont J (2008) A rapid bootstrap algorithm for the RAxML Web servers. **Society of Systematic Biologists** 57:758–771.

Stover BC, Muller KF (2010) TreeGraph 2: Combining and visualizing evidence from different phylogenetic analyses. **BMC Bioinformatics** 11:1-9.

Teel PD, Ketchum HR, Mock DE, Wright RE, Strey OF (2010) The gulf coast tick: a review of the life history, ecology, distribution, and emergence as an arthropod of medical and veterinary importance. **Journal of Medical Entomology** 47:707–722.

Thoisy B, Michel JC, Vogel I, Vié C (2000) A survey of hemoparasite infections in free-ranging mammals and reptiles in French Guiana. **Journal of Parasitology**, 86:1035-1040.

Tomé B, Rato C, Perera A, Harris DJ (2016) High Diversity of *Hepatozoon* spp. in Geckos of the Genus *Tarentola*. **Journal of Parasitology** 102:476-480.

Ujvari B, Madsen T, Olsson M (2004) High prevalence of *Hepatozoon* spp. (Apicomplexa, Hepatozoidae) infection in water pythons (*Liasis fuscus*) from tropical Australia. **The Journal of parasitology** 90:670-672.

Vincent-Johnson NA (2003) American canine hepatozoonosis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice** 4:905–920.

Watkins RA, Moshier SE, Pinter AJ (2006) The Flea, *Megabothris abantis*: An Invertebrate Host of *Hepatozoon* sp. and a Likely Definitive Host in *Hepatozoon* Infections of the Montane Vole, *Microtus montanus*. **Journal of Wildlife Diseases** 42:386-390
volume = 42,

Wolf RW, Aragona M, Muñoz-Leal S, Pinto LB, Melo ALT, Braga IA, Costa JDS, Martins TF, Marcili A, Pacheco RDC, Labruna MB, Aguiar DM (2016) Novel *Babesia* and *Hepatozoon* agents infecting non-volant small mammals in the

Brazilian Pantanal, with the first record of the tick *Ornithodoros guaporensis* in Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases** 7:449–456.

Wright S (1931) Evolution in Mendelian Populations. **Genetics** 16:97-159.

Wiger R (1973) Blood parasites of the norwegian lemming. **Journal of Wildlife Diseases** 9:125-128.