

Hallazgos hematológicos y detección de anticuerpos contra *Anaplasma* spp en perros con antecedentes de garrapatas en el distrito de Chiclayo (Lambayeque, Perú)

Haematological findings and detection of antibodies against *Anaplasma* spp in dogs with a history of ticks from the Chiclayo district (Lambayeque, Peru)

Grecia Alvarez M.^{1,3}, Olga Li E.¹, Miguel Cervantes S.¹, Leyla Ramirez V.¹, Deysi Masgo C.¹, Alvaro Vasquez-Ydrogo¹, Luis Barrios A.², Luis Hoyos S.^{1,4}

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la presencia de anaplasmosis canina mediante hallazgos hematológicos (evidencia de corpúsculos de inclusión o mórulas en frotis sanguíneo más trombocitopenia) y presencia de anticuerpos contra *Anaplasma* spp en perros con antecedentes de garrapatas del distrito de Chiclayo (Lambayeque, Perú). Se colectaron 88 muestras sanguíneas de perros aparentemente sanos y con antecedentes de garrapatos. Los hallazgos hematológicos evidenciaron que el 2.3% (2/88) de perros fueron positivos (con corpúsculos de inclusión o mórulas más trombocitopenia) siendo compatibles con *A. platys*. Además, se detectó el 22.7% (20/88) de seropositividad contra *Anaplasma* spp y una seropositividad múltiple de 21.6% (19/88) con *Ehrlichia* spp mediante el test SNAP 4Dx Plus. Los perros positivos y seropositivos evidenciaron trombocitopenia y, en menor grado, anemia, leucocitosis y leucopenia. Los resultados demuestran la presencia de anaplasmosis canina de tipo subclínico en perros con antecedentes de garrapatas en el distrito de Chiclayo.

Palabras clave: *A. phagocytophilum*, *A. platys*, corpúsculos de inclusión, mórula, trombocitopenia, anticuerpos

¹ Laboratorio de Patología Clínica Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

² Laboratorio de Fisiología Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

³ E-mail: grecia.alvarez@unmsm.edu.pe

⁴ E-mail: luis.hoyos@unmsm.edu.pe

Recibido: 20 de febrero de 2020

Aceptado para publicación: 25 de septiembre de 2020

Publicado: 21 de diciembre de 2020

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the presence of canine anaplasmosis by haematological findings (evidence of inclusion bodies or morulae in blood smear plus thrombocytopenia) and the presence of antibodies against *Anaplasma* spp in dogs with a history of ticks from the Chiclayo district (Lambayeque, Peru). Blood samples (n=88) were collected from apparently healthy dogs with a history of ticks. The haematological findings showed that 2.3% (2/88) of dogs were positive (with inclusion bodies or morulae plus thrombocytopenia) being compatible with *A. platys*. In addition, 22.7% (20/88) seropositivity against *Anaplasma* spp and a multiple seropositivity of 21.6% (19/88) with *Ehrlichia* spp were detected by the SNAP 4Dx Plus Test. Positive and seropositive dogs showed thrombocytopenia and, to a lesser extent, anaemia, leucocytosis and leukopenia. The results showed presence of subclinical canine anaplasmosis in dogs with a history of ticks in the Chiclayo district.

Key words: *A. phagocytophilum*, *A. platys*, inclusion corpuscles, morulae, thrombocytopenia, antibodies

INTRODUCCIÓN

Anaplasma phagocytophilum es causante de la Anaplasmosis Granulocítica Canina (AGC) y *A. platys* es causante de la Trombocitopenia Cíclica Infecciosa Canina (TCIC). Estas enfermedades se presentan de manera subclínica (Brown *et al.*, 2006; Day, 2016) evidenciando mayormente hallazgos hematológicos y, en algunos casos, se presentan signos clínicos como anorexia, fiebre, letargo, mucosas pálidas, hemorragia, esplenomegalia y hepatomegalia a la palpación, poliartritis y en raros casos signos neurológicos (Tateishi *et al.*, 2015; Chirek *et al.*, 2018). Estas enfermedades se transmiten por garrapatas del género *Ixodes* y por *Rhipicephalus sanguineus*, respectivamente (Sainz *et al.*, 2015). Estos tipos de garrapatas son las más frecuentes en perros en el norte del Perú (Glenny *et al.*, 2004; Cervantes, 2018).

El diagnóstico se basa en los hallazgos hematológicos y serológicos en conjunto de una buena anamnesis. El pronóstico es bue-

no si es detectado a tiempo (Yancey *et al.*, 2017). En los hallazgos hematológicos se pueden encontrar corpúsculos de inclusión (CI) o mórulas que infectan granulocitos como neutrófilos y eosinófilos (*A. phagocytophilum*) y plaquetas (*A. platys*) acompañadas de alteraciones hematológicas (principalmente trombocitopenia, anemia y leucopenia) (Bouzouraa *et al.*, 2016; Chirek *et al.*, 2018); mientras que las pruebas serológicas, como el Test SNAP 4Dx Plus (Idexx), detectan anticuerpos contra *Anaplasma* spp e incluso de otros patógenos transmitidos por garrapatas.

La información reportada sobre anaplasmosis canina es escasa en el Perú. Existen estudios serológicos con resultados seropositivos frente a *Anaplasma* spp reportados en Lima, Lambayeque y Piura, incluso con detección de anticuerpos frente a *B. burgdorferi* y *Ehrlichia* spp (Rubio *et al.*, 2011; Delgado y Montoya, 2018; Naranjo, 2018), además un estudio hematológico y molecular reportado en Lima Metropolitana donde identificaron *A. platys* (Tateishi *et al.*, 2015).

El incremento del transporte internacional de animales de compañía, el hacinamiento en perreras como albergues, la crianza con otras especies de animales, el estrecho contacto con el hombre y las coinfecciones con otros patógenos hacen que el diagnóstico se vuelva médicamente más compleja y desafiante; más aún si son animales aparentemente sanos (Sainz *et al.*, 2015). El presente estudio pretende mostrar el panorama actual de la anaplasmosis en perros aparentemente sanos con antecedentes de garrapatas del distrito de Chiclayo (Lambayeque, Perú) mediante hallazgos hematológicos y serológicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar del Estudio

El estudio se realizó en el distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque, Perú, en enero de 2019. La zona se encuentra en la costa norte peruana, presenta un clima subtropical, temperatura máxima de 32 °C, 75% de humedad, condicionando un ambiente favorable para la propagación de los vectores e incidencia de enfermedades rickettsiales. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio Clínico Pet Lab, de Lambayeque, y en el Laboratorio de Patología Clínica Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria (FMV) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), Lima.

Canes

El tamaño muestral (n=88) se determinó mediante la fórmula para estimar poblaciones infinitas utilizando una prevalencia referencial de 6%, reportada por Badillo *et al.* (2017). Como criterios de inclusión se consideraron perros aparentemente sanos con presencia de garrapatas o de haber estado infestados con estas dentro de los últimos seis meses. No se hizo distinción por raza, sexo o edad. El estudio cumplió con las normas éticas

para la investigación establecidas por el Comité de Ética y Bienestar Animal de la FMV-UNMSM.

Muestras

Se colectó sangre de la vena cefálica en un tubo con EDTA (3 ml) y en otro tubo sin EDTA (5 ml) que posee un gel separador del suero frente al componente celular sanguíneo. Las muestras fueron conservadas en cajas con geles refrigerantes para su traslado al laboratorio.

Hemograma

El hemograma se realizó dentro de las primeras 12 horas en muestras conservadas a 4 °C para evitar falsos valores y alteraciones de la morfología celular producidos por el tiempo de conservación en EDTA. Se hizo el recuento de glóbulos rojos ($\times 10^6/\mu\text{l}$) y glóbulos blancos ($\times 10^3/\mu\text{l}$) con la cámara de Neubauer, hemoglobina (g/dl) mediante el método de la cianometahemoglobina, hematocrito (%) mediante el método del microhematocrito, y el recuento diferencial (%) y plaquetario ($\times 10^3/\mu\text{l}$) a partir del frotis sanguíneo coloreado con tinción Wright. Los valores hematológicos referenciales para perros fueron establecidos por el Laboratorio de Patología Clínica Veterinaria de la FMV-UNMSM (Li *et al.*, 2018).

Corpúsculos de Inclusión (CI) o Mórulas

Los frotis sanguíneos teñidos con tinción Wright se evaluaron por duplicado bajo un objetivo de 100X. Cada lámina fue revisada en su totalidad, con énfasis en la monocapa, bordes y cola, buscando CI o mórulas compatibles con *A. phagocytophilum* y *A. platys* a nivel intracelular en granulocitos (neutrófilos y eosinófilos) y en plaquetas, respectivamente.

Se consideró como perros positivos aquellos que presentaron trombocitopenias con corpúsculos de inclusión (CI) o mórulas, como sospechosos a aquellos que presenta-

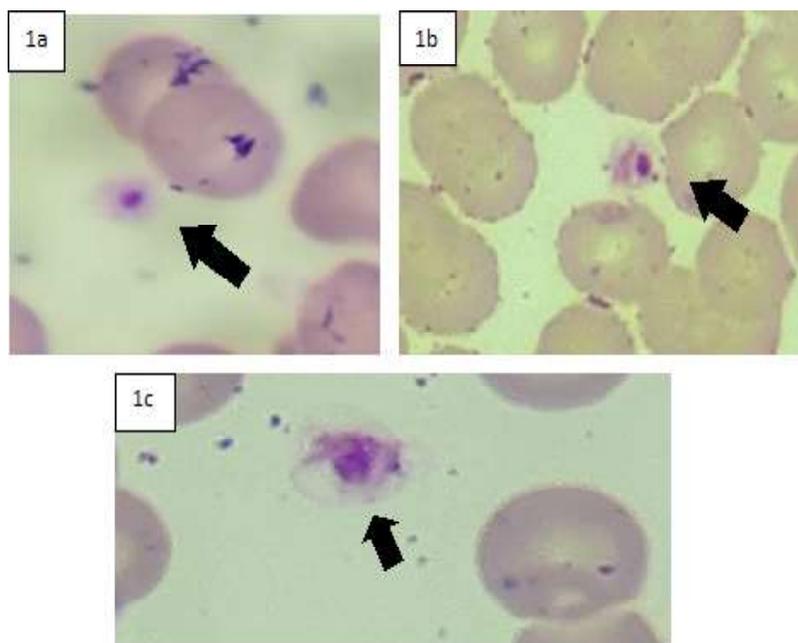


Figura 1. Frotis sanguíneos de perros con antecedentes de garrapatas con mórulas compatibles con *A. platys* al interior de plaquetas circulantes. Tinción Wright, 1000x

ron solamente CI o mórulas sin trombocitopenia, y como negativos a aquellos que no presentaron trombocitopenia ni CI o mórulas.

Análisis Serológico

Los sueros se conservaron en viales a -20°C y fueron procesados en el Laboratorio de Patología Clínica Veterinaria de la FMV-UNMSM. Para el análisis se llevaron a temperatura ambiente ($15-25^{\circ}\text{C}$) y se utilizó el Test SNAP 4Dx Plus (IDEXX Laboratories, 2018). El kit permitió detectar muestras seropositivas (presencia de anticuerpos) y seronegativas (ausencia de anticuerpos detectables) contra *Anaplasma* spp.

Análisis de Datos

Se emplearon cuadros de estadística descriptiva utilizando frecuencias de los datos obtenidos de la hematología y serología.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinó que el 48.9% (43/88) de los perros con antecedentes de garrapatas presentaron trombocitopenia ($<200 \times 10^3/\mu\text{l}$). Si bien es cierto la trombocitopenia es la alteración hematológica más frecuente en casos de anaplasmosis (Bouzouraa *et al.*, 2016; Chirek *et al.*, 2018), también se presenta en otras enfermedades transmitidas por garrapatas como erliquiosis y babesiosis canina (Santos *et al.*, 2009; Day, 2016), enfermedades prevalentes en la zona.

El 4.5% (4/88) de perros con antecedentes de garrapatas evidenciaron mórulas al interior de plaquetas, siendo compatibles con *A. platys* (Figura 1), mas no se observaron en granulocitos. Por otro lado, como hallazgo accidental, el 34.1% (30/88) de los perros evidenciaron CI o mórulas en linfocitos siendo compatibles con *E. canis*, lo cual ex-

Cuadro 1. Resumen general de los hallazgos hematológicos y serológicos de 88 perros con antecedentes de garrapatas del distrito de Chiclayo (Lambayeque - Perú)

Hallazgo hematológico	Serología				Total	
	Seropositivo		Seronegativo		n	%
	n	%	n	%		
Positivo	2	2.3	0	0	2	2.3
Sospechoso	1	1.1	1	1.1	2	2.3
Negativo	17	19.3	67	76.1	84	95.4
Total	20	22.7	68	77.3	88	100.0

plicaría la alta frecuencia de animales trombocitopénicos. Cabe mencionar que los cuatro perros que fueron compatibles con *A. platys* también fueron para *E. canis*.

La baja frecuencia de perros con mórulas compatibles con *A. platys* puede relacionarse con la sensibilidad de la técnica y con los episodios cíclicos que caracteriza la enfermedad. Se sabe que existe mayor sensibilidad de la prueba al inicio o durante la manifestación de los signos clínicos (Greene, 2012; Day, 2016); sin embargo, *A. platys* se ha reportado en perros aparentemente sanos, siendo confirmado por PCR (Inokuma *et al.*, 2002; Brown *et al.*, 2006). En casos crónicos, la sensibilidad disminuye drásticamente por la baja bacteriemia; no obstante, se han reportado inclusiones ocasionales compatibles con *A. platys* hasta 21 meses de la inoculación en infecciones experimentales (Kontos *et al.*, 1991). Es por ello por lo que la ausencia de mórulas o corpúsculos de inclusión no descarta la infección, más aún si se evidencia alteraciones compatibles por *A. platys*.

En infecciones por *A. platys* generalmente se encuentra involucrado el 1% de las plaquetas (Day, 2016); pero en casos agudos se ha reportado hasta 97% de plaquetas in-

fectadas (Arraga-Alvarado *et al.*, 1997) e incluso en células precursoras de plaquetas (Day, 2016).

No se evidenció CI o mórulas compatibles con *A. phagocytophilum* en granulocitos; sin embargo, no se puede descartar la infección. Experimentalmente se han encontrado hasta 14 días pos-infección (Greene, 2012). En este sentido, Rubio *et al.* (2011) y Tateishi *et al.* (2015) sugieren la presencia de este agente en perros con signos compatibles a anaplasmosis. Por otro lado, en la provincia de Chiclayo (Lambayeque), se hallaron CI o mórulas en neutrófilos compatibles con *A. phagocytophilum* en 9% (9/100) de caballos aparentemente sanos (Masgo, 2018) demostrando que es posible observarlas a la evaluación del frotis sanguíneo en animales asintomáticos. Cabe mencionar que las mórulas en neutrófilos no pueden diferenciarse de *E. ewingii* (Day, 2016).

Según Greene (2012), *A. phagocytophilum* tiene mayor afinidad por los neutrófilos de humanos, caballos y perros; siendo esto motivo de alarma en la provincia de Chiclayo, ya que se ha observado que los haras de caballos tienen usualmente perros guardianes y están en convivencia con el hom-

bre. Se ha detectado anticuerpos contra *Anaplasma* spp en personas que han estado en contacto con perros infectados (Arraga-Alvarado *et al.*, 2014; Weinborn *et al.*, 2018).

Los CI o mórulas compatibles con *Anaplasma* spp por sí solas no proporcionan un diagnóstico definitivo; de allí que se requiere complementar el análisis con un hemograma para encontrar alteraciones hematológicas sugerentes de anaplasmosis. Según los resultados obtenidos, se consideró como positivos a dos perros trombocitopénicos con visualización de CI o mórulas compatibles con *Anaplasma* spp y a 2 perros como sospechosos (no trombocitopénicos con CI o mórulas y a 84 como negativos (no trombocitopénicos ni CI o mórulas) (Cuadro 1). Además, se evidencia la ocurrencia de TCIC mediante el hallazgo hematológico en perros aparentemente sanos con antecedentes de garrapatas en la zona del estudio.

La baja frecuencia de perros (2/88) que resultaron ser sospechosos (solo CI o mórulas sin trombocitopenia) podría explicarse por la trombocitopenia de tipo cíclica que caracteriza a la enfermedad, donde persiste durante entre 7 a 14 días, seguida de un corto periodo de recuperación, durante el cual el recuento plaquetario vuelve a la normalidad (Harvey *et al.*, 1978).

Los dos perros que fueron positivos a los hallazgos hematológicos tenían una moderada trombocitopenia (129 y $139.50 \times 10^3/\mu\text{l}$, respectivamente), mas no anemia. En cuanto a la serie leucocítica, uno presentó leucocitosis ($20.05 \times 10^3/\mu\text{l}$), neutrofilia ($14.24 \times 10^3/\mu\text{l}$) y linfocitosis ($5.01 \times 10^3/\mu\text{l}$); mientras que otro manifestó leucopenia ($7.4 \times 10^3/\mu\text{l}$) y neutropenia ($5.18 \times 10^3/\mu\text{l}$). Estos resultados coinciden con los reportados en infecciones causadas por *A. platys* (Bouzouraa *et al.*, 2016). Por otro lado, los otros dos perros que resultaron ser sospechosos solo presentaron una leve anemia, alteración que es la segunda más reportada en casos de anaplasmosis (Bouzouraa *et al.*, 2016; Chirek *et al.*, 2018).

La presencia de trombocitopenia en infecciones por *A. platys* se debe a causas tales como fagocitosis plaquetaria, disminución en la producción de plaquetas al verse alterados los megacariocitos, y destrucción inmunomediada (Gaunt *et al.*, 2010). Las hemorragias son poco frecuentes debido a la corta duración de la trombocitopenia (Harvey *et al.*, 1978; Gaunt *et al.*, 2010). Se ha reportado caninos muy trombocitopénicos ($<20 \times 10^3/\text{ml}$) que se encuentran aparentemente sanos sin evidencia de hemorragias (Ulutas *et al.*, 2007).

El 22.73% (20/88) de seropositividad mediante el Test SNAP 4Dx Plus fue menor al 34.62% reportado por Delgado y Montoya (2018) utilizando el kit Vet Scan Anaplasma Rapid Test en perros con signos clínicos compatibles con la enfermedad del mismo lugar de estudio. No obstante, estos resultados evidencian una mayor exposición de *Anaplasma* spp en los perros de Chiclayo que en otras zonas cercanas como Piura donde se ha reportado 4.2% (3/71) en perros con signos clínicos e historial de garrapatas (Naranjo, 2018), a pesar de que en dicha zona se reporta perros con garrapatas *Ixodes* spp y *R. sanguineus* (Glenny *et al.*, 2004).

Estudios realizados en países vecinos mediante el test SNAP 4Dx reportan seroprevalencias en perros de 43.7% (35/80) en Chile (Álvarez *et al.*, 2015), de 33% (161/498) en Colombia (McCown *et al.*, 2015) y 53.8% (38/80) en perros de barrios rurales en Ecuador (Peñaloza, 2015), siendo en todos los casos mayores a los hallados en el presente estudio. Un resultado serológico para *Anaplasma* spp depende de muchos factores tales como la etapa de la enfermedad, el sistema inmunológico del perro, la distribución de *Anaplasma* spp en el territorio y la exposición a garrapatas *R. sanguineus* e *Ixodes* spp, entre otros.

La duración de anticuerpos detectables en el perro pos-infección puede ser entre unos pocos meses hasta varios años. En estudios experimentales con *A. platys* se detectaron

títulos de anticuerpos, mediante IFA hasta el día 171 de la inoculación (Kontos *et al.*, 1991) y hasta el día 410 mediante el test SNAP 4Dx (Gaunt *et al.*, 2010) que duraron tales investigaciones. En infecciones naturales con *A. phagocytophilum* se detectaron anticuerpos hasta los 36 meses (Eberts *et al.*, 2011).

Un resultado seropositivo puede significar que han sido expuestos con anterioridad a la infección y superaron la enfermedad manteniendo los anticuerpos en sangre o que represente una infección activa. Por otro lado, un resultado seronegativo puede indicar que no presentan anticuerpos contra *Anaplasma* spp ya que nunca estuvieron expuestos al agente, o que los anticuerpos aún no son detectables por la prueba, ya que la infección se encuentra en el periodo de incubación o en una primera etapa de la enfermedad aguda cuando las cargas bacterianas son bajas (en caso de una infección presente) (Sainz *et al.*, 2015; Day, 2016).

La alteración hematológica de mayor frecuencia en los 20 perros seropositivos a *Anaplasma* spp fue la trombocitopenia (60%, 12/20), seguido de anemia (55%, 11/20), leucocitosis (30%, 6/20) y leucopenia (15%, 3/20); resultados similares a los reportados por Naranjo (2018) en caninos seropositivos con signos compatibles a la enfermedad con antecedentes de garrapatas.

La única seropositividad múltiple fue *Anaplasma* spp con *Ehrlichia* spp (21.59%, 19/88) (Figura 2) siendo menor al 30.1% (150/498) hallado en Colombia (McCown *et al.*, 2015). No obstante, seropositividades múltiples menores han sido reportadas por Álvarez *et al.* (2015) en Chile (3.75%) y por Naranjo (2018) en Piura, Perú (4.2%). En el estudio no se detectaron anticuerpos contra *B. burgdorferi*.

Al relacionar los hallazgos hematológicos (positivos, sospechosos y negativos) y serológicos para *Anaplasma* spp en los 88 perros con antecedentes de garrapatas del distrito de Chiclayo se identificaron cinco gru-



Figura 2. Resultado seropositivo a *Anaplasma* spp y *Ehrlichia* spp usando el Test SNAP 4Dx Plus

pos: 1) perros positivos y seropositivos, 2) perro sospechoso y seropositivo, 3) perro sospechoso y seronegativo, 4) perros negativos y seropositivos y 5) perros negativos y seronegativos (Cuadro 1). La forma de interpretar los exámenes hematológicos y serológicos determinará el paso a seguir en cuanto al tratamiento y seguimiento en un animal aparentemente sano, según el criterio del Médico Veterinario tratante. En el presente trabajo, los perros seopositivos y hematológicamente positivos son indicativos de anaplasmosis subclínica y, por tanto, se debería iniciar el tratamiento de inmediato; más aún en los casos en que se encontró coinfección con *E. canis*. En este caso, un tratamiento con doxiciclina a 10 mg/kg durante 28 días sería necesario.

CONCLUSIONES

- El 2.27% de perros con antecedentes de garrapatas fueron positivos a *Anaplasma platys* mediante los hallazgos hematológicos.
- El 22.73% de perros con antecedentes de garrapatas fueron seropositivos a *Anaplasma* spp.
- Las alteraciones hematológicas más frecuentes en perros seropositivos fueron trombocitopenia, anemia y leucocitosis.
- El 21.59% de perros con antecedentes de garrapatas presentó una seropositividad múltiple contra *Anaplasma* spp y *Ehrlichia* spp.

LITERATURA CITADA

1. **Álvarez KA. 2015.** Detección serológica de agentes de la familia Anaplasmataceae en perros de las comunas de Puchuncaví y Quintero, región de Valparaíso, Chile. Tesis de Médico Veterinario. Valdivia: Univ. Austral de Chile. 24 p.
2. **Arraga-Alvarado C, Parra O, Palmar RE, Chango-Alvarado MC. 1997.** *Ehrlichia platys*: Preparación del antígeno y uso de la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) en caninos y humanos. Rev Cient-Fac Cien V 7: 99-109.
3. **Arraga-Alvarado C, Qurollo BA, Parra O, Berrueta MA, Hegarty BC, Breitschwerdt B. 2014.** Case report: molecular evidence of *Anaplasma platys* infection in two women from Venezuela. Am J Trop Med Hyg 91: 1161-1165. doi: 10.4269/ajtmh.14-0372
4. **Badillo VM, Díaz PA, Orozco SC, Lavalle GA. 2017.** Infection by *Ehrlichia canis* and *Anaplasma* sp in dogs attended in veterinary clinics, Barranquilla, Colombia. Rev MVZ Córdoba 22(Supl 1): 6023-6033.
5. **Bouzouraa T, René-Martellet M, Chene J, Charalampos A, Lebert I, Chavelt-Monfray K, Cadoré J, et al. 2016.** Clinical and laboratory features of canine *Anaplasma platys* infection in 32 naturally infected dog in Mediterranean basin. Ticks Tick-borne Dis 7: 1256-1264. doi: 10.1016/j.ttbdis.2016.-07.004
6. **Brown GK, Canfield PJ, Dustand RH, Roberts TK, Martin AR, Brown CS, Irving R. 2006.** Detection of *Anaplasma platys* and *Babesia canis vogeli* and their impact on platelet numbers in free-roaming dogs associated with remote aboriginal communities in Australia. Aust Vet J 84: 321-325. doi: 10.1111/j.1751-0813.2006.00029.x
7. **Cervantes MA. 2018.** Identificación morfológica y molecular de garrapatas colectadas de perros (*Canis familiaris*) con ehrlichiosis en el distrito de Chiclayo, Lambayeque-Perú. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 74 p.
8. **Chirek A, Silaghi C, Pfister K, Kohn B. 2018.** Granulocytic anaplasmosis in 63 dogs: clinical signs, laboratory results, therapy and course of disease. J Small Anim Pract 59: 112-120. doi: 10.1111/jsap.12787
9. **Day MJ. 2016.** Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat. 2nd ed. USA: CRC Press. 209 p.
10. **Delgado NI, Montoya AG. 2018.** Influencia de la edad y el sexo sobre la prevalencia de *Anaplasma* spp en caninos (*Canis familiaris*) atendidos en clínicas veterinarias en los distritos de José Leonardo Ortiz, La Victoria y Chiclayo. Julio -diciembre 2017. Tesis de Médico Veterinario. Lambayeque: Univ. Nacional Pedro Ruiz Gallo. 81 p.
11. **Eberts MD, Vissotto PP, Beall MJ, Stillman BA, Chandrashekar R, Breitschwerdt EB. 2011.** Typical and atypical manifestations of *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs. J Am Anim Hosp Assoc 47: 86-94. doi: 10.5326/JAAHA-MS-5578
12. **Gaunt S, Beall M, Stillman B, Lorentzen L, Diniz P, Chandrashekar R, Breitschwerdt EB. 2010.** Experimental infection and coinfection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: hematologic, serologic and molecular findings. Parasite Vector 3: 33-42. doi: 10.1186/1756-3305-3-33
13. **Glenny A, Mendoza U, Falconí R. 2004.** Detección de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* e identificación de garrapatas ixodidas en Piura y Amazonas. Rev Peru Med Exp Salud Pública 20: 23-27.
14. **Greene CE. 2012.** Infectious diseases of dog and cat. 4th ed. USA: Elsevier. 1354 p.
15. **Harvey JW, Simpson CF, Gaskin JM. 1978.** Cyclic thrombocytopenia induced by a Rickettsia-like agent in dogs. J Infect Dis 137: 182-188. doi: 10.1093/infdis/137.2.182

16. **IDEXX Laboratories. 2018.** España: Recursos y propsecto de la prueba Test SNAP 4Dx Plus. [Internet]. Disponible en: <https://www.idexx.es/files/snap-4dx-test-insert-en.pdf>
17. **Inokuma H, Fujii K, Matsumoto M, Nakagome K, Kosugi R, Hirakawa M, Onishi T. 2002.** Demonstration of *Anaplasma (Ehrlichia) platys* inclusions in peripheral blood platelets of a dog in Japan. *Vet Parasitol* 110: 145-152. doi: 10.1016/s0304-4017(02)00289-3
18. **Kontos VI, Papadopoulos O, French TW. 1991.** Natural and experimental canine infections with a Greek strain of *Ehrlichia platys*. *Vet Clin Path* 20: 101-108. doi: 10.1111/j.1939-165x.1991.tb00867.x
19. **Li OM, Alvarado AA, Hoyos LA. 2018.** Texto - Guía Práctica Patología Clínica veterinaria. UNMSM. 111 p.
20. **Masgo DG. 2018.** Detección hematólogica de *Anaplasma phagocytophilum* en caballos de la provincia de Chiclayo (Departamento Lambayeque – Perú). Tesis de Médico Veterinario. Lima, Perú: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 92 p.
21. **McCown EM, Víctor H, Monterroso HV, Cardona W. 2015.** Monitoreo de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* y *Dirofilaria immitis* en perros de tres ciudades en Colombia. *Rev CES Med Vet Zootec* 10: 224-231.
22. **Naranjo H. 2018.** Frecuencia de erliquiosis y anaplasmosis en canes con historial de garrapatas en una clínica veterinaria particular en la provincia de Piura, Perú durante el periodo primavera-verano 2017/2018. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Peruana Cayetano Heredia. 35 p.
23. **Peñaloza MA. 2015.** Diagnóstico de dirofilariosis y anaplasmosis canina en perros de los barrios rurales del Cantón Catamayo de la provincia de Loja a través del Test SNAP 4Dx canino. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Loja, Ecuador: Univ. Nacional de Loja. 78 p.
24. **Rubio MA, Salas EA, Gómez E. 2011.** Presencia de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* y *Anaplasma* sp en canes de la ciudad de Lima. *Rev Inv Vet Perú* 22: 233-238. doi: 10.15381/rivep.v22i3.263
25. **Sainz A, Roura X, Miró G, Estrada-Peña A, Kohn B, Harrus S, Solano-Gallego L. 2015.** Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasite Vector* 8: 75-94. doi: 10.1186/s13071-015-0649-0
26. **Santos F, Coppede JS, Pereira AL, Oliveira LP, Roberto PG, Benedetti RB, Zucoloto LB, et al. 2009.** Molecular evaluation of the incidence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* and *Babesia* spp in dogs from Ribeirão Preto, Brazil. *Vet J* 179: 145-148. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.08.017
27. **Tateishi TV, Lí EO, Hoyos SL, Rivera GH, Manchego SA, Barrios AL, More BJ. 2015.** Identificación hematológica y molecular de *Anaplasma platys* en caninos domésticos de Lima Metropolitana con signos compatible con Anaplasmosis. *Rev Inv Vet Perú* 26: 111-118. doi: 10.15381/rivep.v26i1.10920
28. **Ulutas B, Bayramli G, Karagenc T. 2007.** First case of *Anaplasma (Ehrlichia) platys* infection in a dog in Turkey. *J Vet Anim Sci* 31: 279-282. doi: 10.1186/1756-3305-5-49
29. **Weinborn R, Zanelli M, López O, Pau N, Valdés F. 2018.** Anticuerpos anti-*Anaplasma* spp. en población de riesgo ocupacional de un hospital veterinario. *Rev Inv Vet Perú* 29: 594-601. doi: 10.15381/rivep.v29i2.14519
30. **Yancey CB, Diniz PP, Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Wiesen C, Qurollo BA. 2017.** Doxycycline treatment efficacy in dogs with naturally occurring *Anaplasma phagocytophilum* infection. *J Small Anim Pract* 59: 286-293. doi: 10.1111/jsap.12799