

Aspetti clinico-patologici in otto cani con infezione da *Angiostrongylus vasorum* nel sud Italia

RIASSUNTO

Recentemente in Italia centrale e meridionale sono state riportate infezioni da *Angiostrongylus vasorum*. I segni clinici ad esse associate sono diversi, ma la sintomatologia respiratoria e la diatesi emorragica sono i quadri predominanti. Lo scopo del presente studio è quello di riportare otto casi di angiostrongilosi diversi per presentazione clinica, aspetti di laboratorio e diagnostica per immagini. La diagnosi è stata fatta grazie all'identificazione morfologica delle larve da campioni fecali con test Baermann o con l'osservazione microscopica diretta. Differenti protocolli terapeutici sono stati utilizzati, e gli animali sono stati sottoposti a monitoraggio parassitologico settimanale. La descrizione di questi casi associa differenti presentazioni cliniche alla presenza di *A. vasorum* suggerendo di considerare il parassita nell'eziologia di diverse condizioni cliniche. Sebbene *A. vasorum* possa essere fatale, una diagnosi tempestiva e un trattamento adeguato possono portare ad una completa risoluzione clinica, come è stato documentato nel presente lavoro.

INTRODUZIONE

L'angiostrongilosi canina è una malattia parassitaria causata da *Angiostrongylus vasorum*¹, nematode che da adulto si localizza nel cuore destro e nell'arteria polmonare. I gasteropodi terrestri albergano le larve infestanti (L3) e rappresentano gli ospiti intermedi e la principale fonte d'infestazione del cane². Sebbene in Italia non ci siano molti dati sulla prevalenza dell'angiostrongilosi³, recenti casi^{4,5,6,7,8} suggeriscono una diffusione dell'infestazione, rimarcando la definizione di malattia emergente⁹. La parassitosi è responsabile di quadri clinici molto diversi tra loro, tanto da meritare l'appellativo di "grande imitatrice"¹⁰, ma generalmente l'angiostrongilosi è associata a disturbi respiratori, emocoagulativi e neurologici⁹. La gravità dei sintomi è molto variabile, potendo ritrovare soggetti del tutto asintomatici¹¹ e soggetti che vanno incontro a morte improvvisa^{12,13,14}. Le alterazioni di laboratorio^{15,16} radiografiche¹⁷, ecocardiografiche^{18,19} e tomografiche²⁰, quando presenti, mostrano quadri aspecifici. La ricerca di marker specifici di malattia proposti al fine di agevolare la diagnosi, quali la valutazione della concentrazione sierica delle fruttosammine²¹, ha finora dato risultati poco incoraggianti. Per la diagnosi sono state proposte metodiche quali PCR convenzionale e real-time PCR^{22,23,24}, Western blot²⁵, ELISA^{26,27}, FLO-TAC^{28,29,30}, ma attualmente il gold standard prevede ancora la ricerca delle larve di primo stadio (L1) mediante la tecnica di Baermann in campioni di feci prelevati preferibilmente in tre giorni consecutivi³¹. Fra i farmaci utilizzati per la terapia dell'angiostrongilosi, buoni risultati sono stati ottenuti con il fenbendazolo e la moxidectina (presente in commercio in combinazione con l'imidacloprid in formulazione spot-on) (I m/Mox)^{32,33}. Scopo del lavoro è documentare otto casi di angiostrongilosi canina sottolineando nel contempo la variabilità della presentazione e i diversi riscontri clinici, radiografici, laboratoristici e le diverse scelte terapeutiche adottate.

MATERIALI E METODI

I casi descritti nella presente indagine sono stati valutati presso la Sezione di Clinica Medica Veterinaria dell'Università di Bari (Tab. I). Sette animali provenivano dalle province pugliesi e uno dalla Basilicata. La diagnosi è stata effettuata grazie al ritrovamento di L1 di *A. vasorum* in campioni di feci; in un cane le L1 sono state ritrovate anche nel versamento pleurico. A tutti gli animali è stato prelevato un campione di sangue per gli esami ematochimici, l'elettroforesi delle proteine sieriche, e in cinque di essi, è stato eseguito il profilo emocoagulativo. In tutti i soggetti sono stati eseguiti l'esame radiografico del torace e l'esame ecocardiografico. La terapia specifica è stata effettuata mediante fenbendazolo (Panacur[®], Intervet) e/o Im/Mox (Advocate[®] spot-on, Bayer)

**Antonio Capogna, Donato De Caprariis,
Riccardo Paolo Lia, Mariateresa Sasanelli,
Paola Paradies**

Dipartimento di Sanità Pubblica e Zootecnia,
Facoltà di Medicina Veterinaria, Bari

"Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 30/07/2011 ed accettato per la pubblicazione dopo revisione il 09/11/2011".

TABELLA 1

Schema riassuntivo degli otto casi di angiostrongiliosi canina riportati nello studio: segnalamento, anamnesi, rilievi clinico-patologici, diagnosi e terapia

Caso	1	2	3	4	5	6	7	8
Età (anni)	1	1	3	1	2	3	4	12
Sesso	Maschio Castrato	Femmina	Femmina Sterilizzata	Maschio	Femmina	Maschio	Femmina Sterilizzata	Femmina Sterilizzata
Razza	Meticcio	Épagneul breton	Meticcio	Meticcio	Meticcio	Spinone	Meticcio	Meticcio
Provenienza	Martina Franca (TA)	Monopoli (Ba)	Melfi (Pz)	Barletta (Bt)	Barletta (Bt)	Bari	Gravina (Ba)	Bari
Anamnesi e durata dei segni clinici	Tosse, Febbre, Disoressia e Depressione da 1 mese + Crisi disnoiche da 2gg	Intolleranza all'esercizio + tosse da 2 mesi	Tosse da 3 mesi + Distensione addome da 2 mesi	Tosse e appetito capriccioso da 2-3 mesi	Tosse da 2 mesi	Riduzione della vista da 1 anno + tosse sporadica	Tosse sporadica da 3-4 mesi	Tosse sporadica da 3-4 mesi
Rilievi clinici	Dispnea + Febbre	Dispnea espiratoria	Addome disteso	Febbre + Polipnea + Emottisi+ Enatoma giugulare dopo prelievo	Tosse provocabile	Tosse provocabile	Nella norma	Nella norma
Ascultazione	Toni cardiaci attenuati + Murrure aspro e rinforzato	Rantoli a medie e grosse bolle con sibili	Rari rantoli a fine ispirazione	Toni cardiaci attenuati nell'area cardiaca sx	Nella norma	Rantoli su stimolazione della tosse + murrure aspro	Nella norma	Nella norma
Diagnosi	LI nel versamento pleurico e nelle feci	LI con Baermann	LI su striscio fecale diretto	LI su striscio fecale diretto	LI su striscio fecale diretto	LI con Baermann	LI con Baermann	LI con Baermann
Aspetti radiografici	Versamento pleurico bilaterale + Pattern interstiziale diffuso e alveolare apicale	Pattern misto diffuso bronchiale - interstiziale + cuore destro	Pattern misto diffuso bronchiale-interstiziale + troncatore arterie polmonari	Pattern alveolare lobo diaframmatico sx + cuore destro	Pattern interstiziale diffuso	Pattern interstiziale diffuso	Pattern interstiziale diffuso	Area di radiopacità circolare+Lesione nodulare singola di ~5 cm emitorace sx
Ipertensione polmonare	No	No	Sì	Non valutato	Non valutata	No	No	No
Emocromo	↓RBC - ↓Hgb - ↓Hct - ↑WBC - ↑NEU - ↑EOS - ↑BAS - ↓PLT	↑WBC - ↑EOS	↓Hgb - ↓Hct - ↑WBC - ↑NEU	↑EOS - ↓PLT	↓RBC - ↓Hct - ↑EOS - ↑BAS	↓Hct - ↑BAS	↑EOS	↓WBC - ↓NEU
Biochimico	↑AST - ↓ALP - ↑GGT - ↑CPK - ↑LDH - ↑αAmilasi - ↑P - ↑Pt - ↑Glob - ↓A/G	↑AST - ↑CPK - ↓Glu - ↓HCO ³⁻	↑CPK - ↑GGT - ↑Urea - ↑αAmilasi	↑Pt - ↓Alb - ↑Glob - ↓A/G - ↑Pt-C	↓ALT - ↑HCO ³⁻	↑Pt - ↑Glob - ↓A/G - ↑Urea - ↑Crea - ↑LDH - ↑αAmilasi	↑Mg - ↑Crea	↑CPK - ↑LDH - ↑αAmilasi
Elettroforesi	↑β ₂	↑β ₁ + β ₂	↑β ₂	↑β ₁ + β ₂	↑β ₁	↑β ₁	↑β ₁ + β ₂	↑α ₂ - ↑β ₁ + β ₂
Coagulativo	↑PT - ↓AT - ↑FDPs - ↓Fibrinogeno	Non valutato	Non valutato	↓AT - ↑FDPs - ↑D-dimeri - Fibrinogeno	Nella norma	Non valutato	↓aPTT - ↓D-dimeri	↓AT - ↑Fibrinogeno
Terapia	Fenbendazolo 25mg/Kg PO bidx21gg	Fenbendazolo 25 mg/Kg PO bid x 21gg	Fenbendazolo 25 mg/Kg PO bid x 21 gg	Fenbendazolo 25mg/Kg PO die x30gg+ Im/Mox ogni 15ggx3volte	Fenbendazolo 25mg/Kg PO die x30gg+ Im/Mox ogni 15ggx3volte	Fenbendazolo 25 mg/Kg PO bid x 21gg	Im/Mox ogni 15ggx3volte POI associa Fenbendazolo 25mg/Kg PO die x15gg	Im/Mox ogni 15ggx3volte
I° negativo	Dopo 15 giorni	Dopo 7 giorni	Dopo 21giorni	Non valutato	Non valutato	Dopo 7 giorni	Dopo 24 settimane	Dopo 7giorni
Rientro dei segni clinici	1 settimana	1 settimana	2 settimane	1 settimana	Non valutato	2 settimane	Non valutato	Persiste tosse sporadica

in base alla gravità della sintomatologia. Il fenbendazolo è stato utilizzato in monoterapia a dose piena (25 mg/kg bid PO)³² usando come marker di sospensione la negativizzazione parassitologica e comunque per non meno di 21 giorni nei soggetti per i quali era riconosciuta dal clinico una sintomatologia grave (i.e. dispnea, ascite). L'Im/Mox spot-on è stata utilizzata in monoterapia³³ nei soggetti con sintomatologia lieve (i.e. tosse sporadica) o in associazione con fenbendazolo a mezza dose (25 mg/kg sid PO × 30 giorni) con tre applicazioni distanziate di 15 giorni. Nel monitoraggio terapeutico le feci di tre giorni consecutivi sono state esaminate una volta alla settimana, e gli animali sono stati sottoposti a controllo clinico-laboratoristico ogni 2 settimane e radiografico dopo 1-3 mesi dall'inizio del trattamento.

RISULTATI

Tutti i cani affetti da angiostrongilosi descritti in questo lavoro hanno un'età compresa tra uno e quattro anni fatta eccezione per il cane del caso 8, di circa 12 anni. All'anamnesi i proprietari riferivano presenza di tosse di diversa entità (da sporadica a insistente, continua o ad accessi) in tutti i cani. I motivi di presentazione erano eterogenei: febbre, disoressia e depressione da un mese con una crisi dispnoica (caso 1), dispnea espiratoria e intolleranza all'esercizio da circa due mesi (caso 2), graduale distensione dell'addome da circa due mesi (caso 3), polipnea ed emottisi (caso 4) e tosse continua (caso 5). Due casi (casi 7, 8) erano presentati per controlli di routine, un caso (caso 6)

era riferito per visita oculistica specialistica a causa di un calo del visus.

L'ascultazione del torace risultava nella norma in tre casi (casi 5, 7, 8), negli altri si apprezzavano attenuazione dei toni cardiaci (casi 1, 4), presenza di rantoli (casi 2, 3, 6) e sibili (caso 2), murmure bronco-vescicolare aspro e rinforzato (casi 1, 6). Gli esami di laboratorio evidenziavano anemia da lieve a moderata in quattro casi (casi 1, 3, 5, 6). La leucocitosi è stata riscontrata in tre casi (casi 1, 2, 3); eosinofilia assoluta è stata evidenziata in cinque animali (casi 1, 2, 4, 5, 7). L'esame biochimico ha mostrato alterazioni aspecifiche e non uniformi; in quattro casi è stato rilevato un aumento della CPK (casi 1, 2, 3, 8). Disordini dell'emostasi primaria caratterizzati da piastrinopenia si sono resi evidenti in due casi (casi 1, 4), associati o meno ad alterazioni della cascata coagulativa e del profilo emostatico (casi 1, 4, 8). Tutti i tracciati elettroforetici hanno mostrato, seppure con diversa entità, un incremento della frazione β delle globuline sieriche. All'esame radiografico del torace è stato evidenziato un pattern polmonare interstiziale diffuso in 5 casi (casi 1, 2, 3, 5, 6), associato ad un pattern bronchiale diffuso in due di essi (casi 2, 3), uno di questi molto grave (Fig. 1). Nel caso 1 il riscontro radiografico prevalente era un versamento pleurico bilaterale. Un pattern alveolare è stato riscontrato a carico del lobo diaframmatico sinistro nel caso 4. Aree di radiopacità circolari (Fig. 2) sono state osservate in due casi (casi 7, 8) associate alla presenza di una lesione nodulare sin-



FIGURA 1 - Proiezione VD caso 2. Si apprezza il grave pattern misto interstiziale-bronchiale.



FIGURA 2 - Proiezione VD "a uomo" del caso 7. A livello dell'emitorace destro si possono apprezzare 2 aree di radiopacità di aspetto circolare/serpiginoso (cerchi bianchi) causate probabilmente da migrazioni di LI dal letto capillare al lume alveolare.

gola ovalare di circa 5 cm di diametro nell'emo- torace di sinistra in uno di essi (caso 8). Dilatazione radiografica del cuore destro è stata evidenziata in due casi (casi 2, 4) e troncature dei rami dell'arteria polmonare in un caso (caso 3). Sempre in quest'ultimo animale si sono resi evidenti gravi segni d'ipertensione polmonare all'esame ecocardiografico. In tutti i cani sintomatici il quadro clinico è notevolmente migliorato già dopo 1-2 settimane dall'inizio della terapia, mentre le alterazioni radiografiche sono ritornate nell'ambito della norma più lentamente ed alcuni animali (casi 2, 7, 8) sono tuttora in fase di monitoraggio.

L'assenza di LI nelle feci è stata riscontrata in tempi diversi, da 7 a 45 giorni dall'inizio del trattamento.

Il fenbendazolo è stato utilizzato in monoterapia in quattro casi (casi 1, 2, 3, 6) alla dose di 25 mg/kg bid PO per 21 giorni. L'Im/Mox è stata utilizzata in monoterapia in due casi (casi 7, 8) e in associazione con fenbendazolo (25 mg/kg sid PO × 30 giorni) in altri due casi (casi 4, 5).

In un caso (caso 7), trattato con Im/Mox in monoterapia, a causa della persistenza della positività alla presenza di larve si aggiungeva fenbendazolo (25 mg/kg sid PO × 15 giorni) ottenendo la prima negativizzazione a 24 settimane.

DISCUSSIONE

L'angiostrongilosi canina è una malattia emergente la cui espansione è probabilmente dovuta a fattori climatici ambientali e alla presenza di volpi nell'ambiente periurbano che hanno facilitato la diffusione del parassita o, più semplicemente, a migliori mezzi diagnostici⁹. Il ritrovamento occasionale di LI nelle feci di tre cani condotti a visita di controllo, di cui uno per visita oculistica, sottolinea come l'esame delle feci (diretto o Baermann) possa svelare soggetti asintomatici¹⁰ permettendo di interrompere il ciclo del parassita grazie ad un'adeguata terapia.

La presenza di LI in un cane di 12 anni (caso 8) denota la recettività a contrarre l'infezione anche in età avanzata sebbene sia riconosciuto un maggior rischio nei soggetti di giovane età^{32,34,35} a causa della loro spiccata attività predatoria e di gioco che facilita l'assunzione dell'ospite intermedio. Nel suddetto caso era riportato, in anamnesi, un episodio d'invasione di limacce nell'ambiente di vita dell'animale occorso un anno prima della diagnosi. Ipotizzando questo episodio come il momento dell'infestazione si pone l'attenzione sul lungo periodo di patenza e sul ruolo epidemiologico del cane come eliminatore di LI anche per tutta la vita se non trattato^{2,36}. Inoltre la bassa probabilità che un cane anziano possa aver ingerito volontariamente limacce avvalorano quanto già riportato in letteratura sulla possibile infestazione tramite l'in-

gestione di materiale vegetale o acqua di bevanda contaminati da gasteropodi³⁷.

L'angiostrongilosi è caratterizzata da un quadro clinico variabile e dall'assenza di riscontri caratteristici all'esame fisico. I rilievi di tosse e disturbi respiratori sono associati alla pneumopatia indotta dalla migrazione delle LI e dalla presenza di uova nel letto polmonare⁵. L'emotorace del caso 1, l'emottisi e la formazione di un grosso ematoma dopo prelievo ematico dalla giugulare nel caso 4 potrebbero essere in parte motivati dalle alterazioni dell'emostasi primaria e secondaria rilevate dagli esami di laboratorio e già descritte in letteratura^{12,38,39,40}. Secondo alcuni autori le alterazioni dell'emostasi sottintendono una alta carica parassitaria e una prognosi riservata⁴¹. Le cause della coagulopatia associata ad angiostrongilosi non sono state completamente definite, ma la trombocitopenia da consumo e la stimolazione antigenica con conseguente DIC cronica sono state proposte come possibili meccanismi^{12,38,42}. Altri autori hanno proposto la trombocitopenia immunomediata come probabile meccanismo^{43,44}. Queste informazioni suggeriscono la necessità di includere l'angiostrongilosi nel diagnostico differenziale quando si palesano alterazioni dell'emostasi. Tra gli otto casi descritti non ci sono soggetti con sintomatologia nervosa, è tuttavia da considerare che la coagulopatia è stata proposta come uno dei meccanismi patogenetici responsabili di potenziali emorragie intracraniche e spinali e quindi di sintomi nervosi^{14,45}.

Il versamento addominale del caso 3 è il risultato dell'ipertensione polmonare causata probabilmente dalla presenza di vermi adulti responsabili di trombosi dei vasi polmonari^{18,46}. La riduzione del visus nel caso 6 potrebbe far ipotizzare un coinvolgimento oculare da parte di larve in migrazione, come già riportato⁴⁷.

Anche le alterazioni di laboratorio in corso di angiostrongilosi non sono patognomoniche, quelle riscontrate più frequentemente sono l'iperglobulinemia (beta e gamma), l'eosinofilia e l'anemia³². L'aumento della frazione β riscontrata in tutti i casi potrebbe essere correlata alla fase acuta della parassitosi¹⁵. L'eosinofilia, riscontrata in 5 casi, suggerisce che tale riscontro deve aumentare il sospetto della malattia, ma un valore di eosinofili nel range di riferimento, come rilevato negli altri tre casi, non esclude la diagnosi. Precedenti lavori riportano l'eosinofilia come alterazione che coinvolge circa un quarto¹⁶ o la metà³² dei soggetti affetti da angiostrongilosi. Secondo alcuni autori il valore normale degli eosinofili può essere correlato ad uno stadio cronico della parassitosi³⁴. A livello biochimico l'aumento della CPK riscontrato in 4 casi è riportato come alterazione dell'isoenzima cardiaco (CPK-MB)¹⁵.

Quadri radiografici variabili sono descritti in corso di angiostrongilosi con la possibilità di ritrova-

re alterazioni anche in soggetti asintomatici¹⁷. Il rilievo in due soggetti di particolari radiopacità ad aspetto circolare/serpiginoso (Fig. 2) non descritte in letteratura potrebbe essere attribuito a tra-gitti fistolosi creati durante la migrazione larvale dai capillari polmonari agli alveoli.

La diagnosi di angiostrongilosi è stata fatta, in tutti i soggetti, grazie al ritrovamento nelle feci di larve L1. Sebbene siano stati necessari i rilievi morfometrici per la corretta identificazione delle larve³¹, la visualizzazione microscopica di una “spina dorsale” a livello dell’estremità caudale del nematode, è stata fortemente indicativa di *A. vasorum* (Fig. 3). Nel cane in cui le L1 sono state ritrovate anche nel versamento pleurico si è ipotizzato che le L1 fossero passate dal sistema alveolare alla cavità toracica in seguito a rottura polmonare verificatasi in concomitanza con la crisi respiratoria osservata dai proprietari⁴.

La scelta dello schema terapeutico è stata effettuata sulla base della valutazione delle condizioni cliniche dei singoli soggetti. Considerata la sua comprovata efficacia^{32,34}, il trattamento con fenbendazolo a dose piena è stato utilizzato nei soggetti con segni clinici più gravi; mentre Im/Mox, testato più recentemente³³ è stato utilizzato per i soggetti che presentavano quadri clinici meno gravi. In due soggetti (casi 4, 5) che presentavano quadri clinici moderati (tosse associata a malessere sistemico) è stata effettuata la terapia combinata che permetterebbe una riduzione della dose di fenbendazolo riducendo il rischio di fenomeni tromboembolici dovuti alla morte rapida dei parassiti. Tutti i cani hanno mostrato negativizzazione parassitologica entro i 21 giorni di terapia già proposti in letteratura³². In un caso, trattato con Im/Mox in monoterapia, è stato necessario aggiungere il fenbendazolo per 2 settimane per ottenere la negativizzazione dopo 24 settimane. Il proprietario di questo animale riferiva della presenza costante di limacce nell’ambiente facendo ipotizzare continue reinfestazioni che potrebbero giustificare la lenta azione dei farmaci somministrati.

Considerando la varietà e la gravità dei sintomi di presentazione è evidente che *A. vasorum* deve essere considerato un possibile agente eziologico di numerose condizioni cliniche. Sebbene l’angiostrongilosi possa risultare fatale, una diagnosi precoce e un trattamento appropriato possono indurre completa remissione clinica. Per tale ragione questa parassitosi deve essere annoverata tra le sfide diagnostiche del prossimo futuro.

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano i dottori Guido Filomarino, Marcella Rosato e Giuseppe Rubino, per la collaborazione nello studio.



FIGURA 3 - Larva L1 di *A. vasorum*: notare la presenza di una spina dorsale a livello dell’estremità caudale del nematode.

Parole chiave

Angiostrongilosi, cane, segni clinici, sud Italia.

■ Clinical-pathological aspects in eight dogs infected by *Angiostrongylus vasorum* in southern Italy

Summary

Angiostrongylus vasorum has been recently reported in central and southern Italy. Although a wide range of clinical signs have been described in association with *A. vasorum*, respiratory disease and haemorrhagic diatheses predominate. The aim of the present study is to report the different clinical presentations, laboratory and imaging findings of eight cases of angiostrongylosis. Diagnosis was made by means of larval morphological identification; faecal samples were analysed by the Baermann test and direct microscopic observation. Different treatment protocols were used, and animals were weekly monitored by larval detection in faecal samples. The reported cases showed different clinical presentations associated with the presence of *A. vasorum* in dogs, and suggest that angiostrongylosis should be considered as a possible etiological cause of several clinical conditions. Although *A. vasorum* can be fatal, an early diagnosis and appropriate treatment may lead to a complete clinical resolution, as it was in the cases described herein.

Key words

Angiostrongylosis, dog, clinical signs, southern Italy.

BIBLIOGRAFIA

1. Baillet C: Nouveau Dictionnaire Pratique de Médecine, de Chirurgie et d'Hygiène Vétérinaires, tome huitième. In: Strongle des vaisseaux et du cœur du chien. 1866, pp 587-588.
2. Guilhon J et Cens B: *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866): Etude biologique et morphologique. *Annales de Parasitologie Humain et Comparée*, 48:567-596, 1973.
3. Di Cesare A, Castagna G, Meloni S, et al: Canine and feline infection by cardiopulmonary nematodes in central and southern Italy. *Parasitology Research* 109 Suppl 1:87-96, 2011.
4. Sasanelli M, Paradies P, Otranto D, et al: Haemothorax associated with *Angiostrongylus vasorum* infection in a dog. *Journal of Small Animal Practice* 49 (8):417-420, 2008.
5. Traversa D, Torbidone A, Malatesta D, et al: Occurrence of fatal canine *Angiostrongylus vasorum* infection in Italy. *Veterinary Parasitology* 152:162-166, 2008.
6. Lepri E, Veronesi F, Traversa D, et al: Disseminated angiostrongylosis with massive cardiac and cerebral involvement in a dog from Italy. *Parasitology Research*, 109 (2):505-508, 2011.
7. Tieri E, Pomilio F, Di Francesco G, et al: *Angiostrongylus vasorum* in 20 cani della provincia di Chieti, Italia. *Veterinaria Italiana* 47 (1):65-76, 2011.
8. Lepri E, Veronesi F, Traversa D, et al: Disseminated angiostrongylosis with massive cardiac and cerebral involvement in a dog from Italy. *Parasitology Research* 109 (2):505-508, 2011.
9. Helm JR, Morgan ER, Jackson MW, et al: Canine angiostrongylosis: an emerging disease in Europe. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 20 (1):98-109, 2010.
10. Koch J, and Willesen JL: Canine pulmonary angiostrongylosis: an update. *Veterinary Journal* 179:348-359, 2009.
11. Koch J, Willesen JL, Jessen IR, et al: *Angiostrongylus vasorum* (French heartworm) in dogs – epidemiological and clinical aspects. In: Proceedings of the International Conference on Emerging Snail Borne Helminth Diseases, Copenhagen, 2005, p. 10-12.
12. Bolt G, Monrad J, Koch J, et al: Canine angiostrongylosis – a review. *Veterinary Record* 135:447-452, 1994.
13. Ramsey IK, Littlewood JD, Dunn JK, et al: Role of chronic disseminated intravascular coagulation in a case of canine angiostrongylosis. *Veterinary Record* 138:360-363, 1996.
14. Yamakawa Y, McGarry JW, Denk D, et al: Emerging canine angiostrongylosis in northern England: five fatal cases. *Veterinary Record* 164 (5):149-152, 2009.
15. Cury MC, Guimaraes MP, Lima WS, et al: Biochemical serum profiles in dogs experimentally infected with *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866). *Veterinary Parasitology* 128:121-127, 2005.
16. Willesen JL, Jensen AL, Kristensen AT, et al: Haematological and biochemical changes in dogs naturally infected with *Angiostrongylus vasorum* before and after treatment. *Veterinary Journal* 180:106-111, 2009.
17. Boag AK, Lamb CR, Chapman PS, et al: Radiographic findings in 16 dogs infected with *Angiostrongylus vasorum*. *Veterinary Record* 154:426-430, 2004.
18. Esteves I, Tessier D, Dandrieux J, et al: Reversible pulmonary hypertension presenting simultaneously with an atrial septal defect and angiostrongylosis in a dog. *Journal of Small Animal Practice* 45 (4):206-209, 2006.
19. Nicolle AP, Chetboul V, Tessier-Vetzel D, et al: Severe pulmonary arterial hypertension due to *Angiostrongylus vasorum* in a dog. *The Canadian Veterinary Journal* 47:792-795, 2006.
20. Dennler M, Makara M, Kranjc A, et al: Thoracic computed tomography findings in dogs experimentally infected with *Angiostrongylus vasorum*. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 52 (3):289-294, 2011.
21. Willesen JL, Jensen AL, Kristensen AT, et al: Serum fructosamine concentrations in 59 dogs naturally infected with *Angiostrongylus vasorum*. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 53:266-269, 2006.
22. Helm JR, Gilleard JS, Jackson M, et al: A case of canine *Angiostrongylus vasorum* in Scotland confirmed by PCR and sequence analysis. *Journal of Small Animal Practice* 50 (5):255-259, 2009.
23. Jefferies R, Morgan ER, Shaw SE: A SYR green real-time PCR assay for the detection of the nematode *Angiostrongylus vasorum* in definitive and intermediate hosts. *Veterinary Parasitology* 166:112-118, 2009.
24. Al-Sabi MNS, Deplazes P, Webster P, et al: PCR detection of *Angiostrongylus vasorum* in faecal samples of dogs and foxes. *Parasitology Research* 107:135-140, 2010.
25. Cury MC, Guimaraes MP, Lima WS, et al: Western blot analysis of the humoral response of dogs experimentally infected with *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866). *Veterinary Parasitology* 106:83-87, 2002.
26. Verzbberger-Epshtein I, Markham RJF, Sheppard JA, et al: Serologic detection of *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs. *Veterinary Parasitology* 151:53-60, 2008.
27. Schnyder M, Tanner I, Webster P, et al: An ELISA for sensitive and specific detection of circulating antigen of *Angiostrongylus vasorum* in serum samples of naturally and experimentally infected dogs. *Veterinary Parasitology* 179 (1-3):152-158, 2011.
28. Cringoli G: FLOTAC, a novel apparatus for a multivalent faecal egg count technique. *Parassitologia* 48:381-384, 2006.
29. Cringoli G, Rinaldi L, Maurelli MP, et al: FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. *Nature Protocols* 5 (3):503-515, 2010.
30. Rinaldi L, Maurelli MP, Musella V, et al: FLOTAC: an improved method for diagnosis of lungworm infections in sheep. *Veterinary Parasitology* 169:395-398, 2010.
31. Traversa D, Di Cesare A, Conboy G: Canine and feline cardiopulmonary parasitic nematodes in Europe: emerging and underestimated. *Parasites and Vectors* 3:3-22, 2010.
32. Chapman PS, Boag AK, Guitian J, et al: *Angiostrongylus vasorum* infection in 23 dogs (1999-2002). *Journal of Small Animal Practice* 45:435-440, 2004.
33. Willesen JL, Kristensen AT, Jensen AL, et al: Efficacy and safety of imidacloprid/moxidectin spot-on solution and fenbendazole in the treatment of dogs naturally infected with *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866). *Veterinary Parasitology* 147:258-264, 2007.
34. Martin MWS, Ashton G, Simpson VR, et al: *Angiostrongylosis* in Cornwall - clinical presentations of 8 cases. *Journal of Small Animal Practice* 34:20-25, 1993.
35. Barutzki D and Schaper R: Natural Infections of *Angiostrongylus vasorum* and *Crenosoma vulpis* in Dogs in Germany (2007-2009). *Parasitology Research* 105:39-48, 2009.
36. Rosen L, Ash L, Wallace GD: Life-history of the canine lungworm *Angiostrongylus vasorum* (Baillet). *American Journal of Veterinary Research* 31 (1):131-143, 1970.
37. Barcante TA, Barcante JM, Costa Dias SR, et al: *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) Kamensky, 1905: emergence of third-stage larvae from infected *Biomphalaria glabrata* snails. *Parasitology Research* 91:471-475, 2003.
38. Schelling CG, Greene CE, Prestwood AK, et al: Coagulation abnormalities associated with acute *Angiostrongylus vasorum* in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 31:131-143, 1986.
39. Cury MC, Lima WS, Guimaraes MP, et al: Hematological and coagulation profiles in dogs experimentally infected with *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866). *Veterinary Parasitology* 104:139-149, 2002.
40. Whitley NT, Corzo-Menendez N, Carmichael NG, et al: Cerebral and conjunctival haemorrhages associated with von Willebrand factor deficiency and canine angiostrongylosis. *Journal of Small Animal Practice* 46:75-78, 2005.
41. Gredal H, Willesen JL, Jensen HE, et al: Acute neurological signs as the predominant clinical manifestation in four dogs with *Angiostrongylus vasorum* infections in Denmark. *Acta Veterinaria Scandinavica* 53:43, 2011.
42. Cury MC, Lima WS, Guimaraes MP, et al: Hematological and coagulation profiles in dogs experimentally infected with *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866). *Veterinary Parasitology* 104:139-149, 2002.
43. Gould SM, and McInnes EL: Immune-mediated thrombocytopenia associated with *Angiostrongylus vasorum* infection in a dog. *Journal of Small Animal Practice* 40:227-232, 1999.
44. O'Neill E, Acke E, Tobin E, et al: Immuno-mediate thrombocytopenia associated with *Angiostrongylus vasorum* infection in Jack Russell terrier. *Irish Veterinary Journal* 63 (6):434-440, 2010.
45. Garsosi LS, Platt SR, McConnell JF, et al: Intracranial haemorrhage associated with *Angiostrongylus vasorum* infection in three dogs. *Journal of Small Animal Practice* 46 (2):93-99, 2005.
46. Prestwood AK, Greene CE, Mahaffey EA, et al: Experimental canine angiostrongylosis: I. Pathologic manifestations. *Journal of the American Hospital Association* 17:491-497, 1981.
47. Manning PS: Ocular examination in the diagnosis of angiostrongylosis in dogs. *Veterinary Record* 160:625-627, 2007.