

EEN UPDATE VAN ANGIOSTRONGYLUS VASORUM BIJ DE HOND IN EUROPA

Aantal woorden: 12256

Quincy Vandemeulebroucke
Studentennummer: 01507877

Promotor: Prof. dr. Edwin Claerebout

Promotor: dr. Veronique Liekens

Onderdeel van de Masterproef voorgelegd voor het behalen van de graad master in de diergeneeskunde

Academiejaar: 2020 – 2021

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten bieden geen enkele garantie met betrekking tot de juistheid of volledigheid van de gegevens vervat in deze masterproef, noch dat de inhoud van deze masterproef geen inbreuk uitmaakt op of aanleiding kan geven tot inbreuken op de rechten van derden.

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten aanvaarden geen aansprakelijkheid of verantwoordelijkheid voor enig gebruik dat door iemand anders wordt gemaakt van de inhoud van de masterproef, noch voor enig vertrouwen dat wordt gesteld in een advies of informatie vervat in de masterproef.

Voorwoord

In de eerste plaats wil ik graag mijn promotor, Prof. Dr. Edwin Claerebout, bedanken. Hij heeft mij de kans gegeven om alsnog een eigen onderwerp te bespreken dat volledig aansluit bij mijn interesses. Bovendien ben ik zeer dankbaar voor alle hulp. Hij heeft mij goed begeleid en gaf mij genoeg ruimte voor een persoonlijke invulling van het onderwerp.

Daarnaast ben ik ook mijn co-promotor, Veronique Liekens, zeer dankbaar voor deze kans. Zonder haar zou ik dit onderwerp nooit besproken kunnen hebben.

Ik zou ook graag mijn ouders, broer en vriend bedanken voor hun interesse. Zij bieden mij een goede feedback in verband met de leesbaarheid van mijn werk. Tenslotte wil ik mijn medestudenten en vrienden bedanken, om mij te motiveren dit werk tot een goed einde te brengen.

Inhoudstafel

Samenvatting	5
1. Eigenschappen van <i>Angiostrongylus vasorum</i>	6
1.1. Taxonomie	6
1.2. Morfologie	8
1.3. Levenscyclus.....	8
1.4. Pathogenese en klinische symptomen	9
1.5. Diagnostiek	10
1.5.1. Medische beeldvorming	10
1.5.2. Bloedonderzoek	12
1.5.3. Detectie van L1-larven	12
1.5.4. PCR-test	14
1.5.5. Serologie: ELISA.....	15
1.6. Behandeling en preventie.....	16
2. Epidemiologie.....	17
2.1. Inleiding.....	17
2.2. Historiek	17
2.3. Risicofactoren	18
2.3.1. De eindgastheren.....	18
2.3.2. De slak	20
2.3.3. Het klimaat	21
2.4. Prevalentie binnen Europa	22
2.4.1. Onderzoeksmethode	22
2.4.2. Resultaten.....	25
2.4.3. Discussie.....	32
2.4.4. Conclusie	34
3. Literatuurlijst.....	35

Samenvatting

Angiostrongylus vasorum, of beter bekend als 'de Franse hartworm', is een nematode die tot de superfamilie Metastrongyloidea behoort. Serres beschreef de parasiet in 1853 voor het eerst in Toulouse, Zuidwest-Frankrijk. Deze parasiet heeft een indirecte levenscyclus waarbij de naaktslak (*Arion spp.*) als tussengastheer en de kikker en de kip als paratenische gastheer dienen. De Canidae zoals de vos, hond, wolf, coyote... fungeren als eindgastheer.

A. vasorum veroorzaakt bij de Canidae een parasitaire infectie waarvan de symptomen van individu tot individu kunnen variëren. De hond kan acuut sterven, chronisch ziek zijn of symptomeloos de infectie doorstaan. Klinisch worden voornamelijk cardiorespiratoire symptomen (hoesten, dyspnee, tachypnee, inspanningsintolerantie, pulmonaire hypertensie, congestief hartfalen...) en coagulatiestoornissen (hematomen, inwendige bloedingen, petechiën, hematomen...) waargenomen.

Een diagnose kan via verschillende methodes gesteld worden: medische beeldvorming (radiografie en echografie), bloedonderzoek, fecesonderzoek (Baermann methode, Telemann sedimentatie flotatie methode en sedimentatie-flotatiemethode), bronchoscopie, broncho-alveolaire lavage, PCR en serologie (ELISA).

De behandeling ervan bestaat uit anthelminthische en ondersteunende therapie. Topicaal moxidectine en oraal milbemycine zijn beide in Europa geregistreerde producten. Fenbendazole kan *off-label* gebruikt worden. Een eventueel ondersteunende therapie hangt af van de voorkomende symptomen. Zo wordt hokrust steeds aangeraden en wordt, wanneer nodig, extra zuurstof of een bloedtransfusie toegediend. Preventief kan maandelijks oraal milbemycine oxime, oraal moxidectine of topicaal moxidectine toegediend worden. Een al dan niet gunstige prognose wordt beïnvloed door de duur van de infectie en de wormbelasting.

De nematode wordt gekarakteriseerd door een opvallend onregelmatig geografische distributie, die bestaat uit focale enzoötische hotspots met een hoge prevalentie bij de vos en de slak en een hoge incidentie bij de hond. Recente onderzoeken hebben aangetoond dat de parasitaire infectie steeds meer voorkomt en zich in Europa verspreidt. Het voorkomen van de parasiet wordt beïnvloed door een combinatie van omgevingsfactoren en factoren gerelateerd aan de tussen- en eindgastheren. Risicofactoren worden bij zowel de hond (leeftijd, functie die de hond vervult, woonplaats, samenwonen met andere honden) als de vos (toenemende vossenpopulatie, urbanisatie, aangeboren of adaptieve immuunreacties) en de slak (slakspecies, omliggende fauna, flora en hoogte) beschreven. Een nat gematigd klimaat is ideaal voor de overleving van de parasiet en de slakken.

Deze literatuurstudie bevat een review over de voorbije 20 jaar. Hiervoor werd gebruik gemaakt van de bestaande literatuur op Google Scholar, Pubmed en de online bibliotheek van de Universiteit Gent. Overzichtstabellen werden gemaakt, waarbij het land, het gebied, de prevalentie, de gebruikte methode, het aantal stalen en de bron teruggevonden kunnen worden. De prevalentiepercentages werden visueel in beeld gebracht (volledige landen en hotspots) en vergeleken met een bestaande Europese kaart van Morgan et al. (2009). Morgan et al. (2009) voorspelden bovendien de verspreiding van de parasiet bij een temperatuurstijging van 2°C in de omgeving. Aangezien de voorspelde distributie (Morgan et al., 2009) min of meer overeenstemt met de situatie, kan geconcludeerd worden dat het klimaat een belangrijke rol speelt in de verspreiding van *A. vasorum*.

Om een verdere verspreiding tegen te gaan, moet er zeker aandacht besteed worden aan het bewustzijn van hondeneigenaars en dierenartsen in verband met het voorkomen en de preventie (ontworming, hygiëne). Om de prevalentie eenduidig in beeld te brengen is het standaardiseren van de gebruikte methode en de lokalisatie noodzakelijk.

1. Eigenschappen van *Angiostrongylus vasorum*

1.1. Taxonomie

Angiostrongylus vasorum is afgeleid van de Griekse woorden “angion”, “strongylos” en “vasorum” welke respectievelijk fles, rond en bloedvaten betekenen (Elsheikha et al., 2014). Het pseudoniem “de Franse hartworm”, waaronder *A. vasorum* algemeen beter bekend is, werd gegeven op basis van de plaats waar de parasiet voor het eerst herkend werd (Koch en Willesen, 2009; Ferdushy en Hasan, 2010; Elsheikha et al., 2014). Serres beschreef de parasiet in 1853 voor het eerst in Toulouse (Schnyder et al., 2017).

De Franse hartworm is een nematode die behoort tot de superfamilie van de Metastrongyloidea of longwormen (Fig. 1) (Bolt et al, 1994), die uit 7 families bestaat, namelijk Angiostrongylidae, Crenosomatidae, Filaroididae, Metastrongylidae, Protostrongylidae, Pseudaliidae en Skrjabinogylidae. In de ‘National Center for Biotechnology Information taxonomy’ (NCBI) wordt de laatste familie niet erkend en wordt Skrjabinogylus als lid van de Metastrongylidae beschouwd (Eamsobhana et al., 2014).

Tabel 1: de taxonomie van de long- en hartwormen (naar NCBI).¹

	<i>Angiostrongylus vasorum</i>	<i>Oslerus osleri</i>	<i>Filaroides hirthei</i>	<i>Crenosoma vulpis</i>	<i>Eucoleus aerophilus</i>	<i>Dirofilaria immitis</i>
Fylum	Nematode	Nematode	Nematode	Nematode	Nematode	Nematode
Klasse	Chromadorea	Chromadorea	Chromadorea	Chromadorea	Enoplea	Chromadorea
Orde	Strongylida	Strongylida	Strongylida	Strongylida	Trichinellidae	Rhabditidea
Superfamilie	Metastrongyloidea	Metastrongyloidea	Metastrongyloidea	Metastrongyloidea		Filarioidea
Familie	Angiostrongylidae	Filaroididae	Filaroididae	Crenosomatidae	Capillariidae	Onchocercidae
Genus	<i>Angiostrongylus</i>	<i>Oslerus</i>	<i>Filaroides</i>	<i>Crenosoma</i>	<i>Eucoleus</i>	<i>Dirofilaria</i>
Species	<i>vasorum</i>	<i>osleri</i>	<i>hirthei</i>	<i>vulpis</i>	<i>aerophilus</i>	<i>immitis</i>

Tabel 1 geeft een samenvatting van de fylogenetische takken van de verschillende long- en hartwormen weer. Er kan geconcludeerd worden dat de verschillende nematoden allen behoren tot de klasse Chromadorea, behalve *Eucoleus aerophilus*. Deze nematode splitst ter hoogte van de klasse en behoort tot de Enoplea. Deze worm is bijgevolg het minst nauw verwant met de andere nematoden in de tabel. Waar de overige wormen allen behoren tot de orde Strongylida en superfamilie Metastrongyloidea, past de echte hartworm niet in het rijtje. *Dirofilaria immitis* heeft enkel zijn klasse Chromadorea gemeenschappelijk met de andere wormen en behoort met de Rhabditidea tot een andere orde. *Oslerus osleri* en *Filaroides hirthei* behoren tot dezelfde familie van de Filaroididae, maar verschillen in genus en geslacht. De overige longwormen maken deel uit van een verschillende familie. *A. vasorum*, *Crenosoma vulpis* en *Eucoleus aerophilus* behoren respectievelijk tot de Angiostrongylidae, de Crenosomatidae en de Capillariidae (NCBI¹).

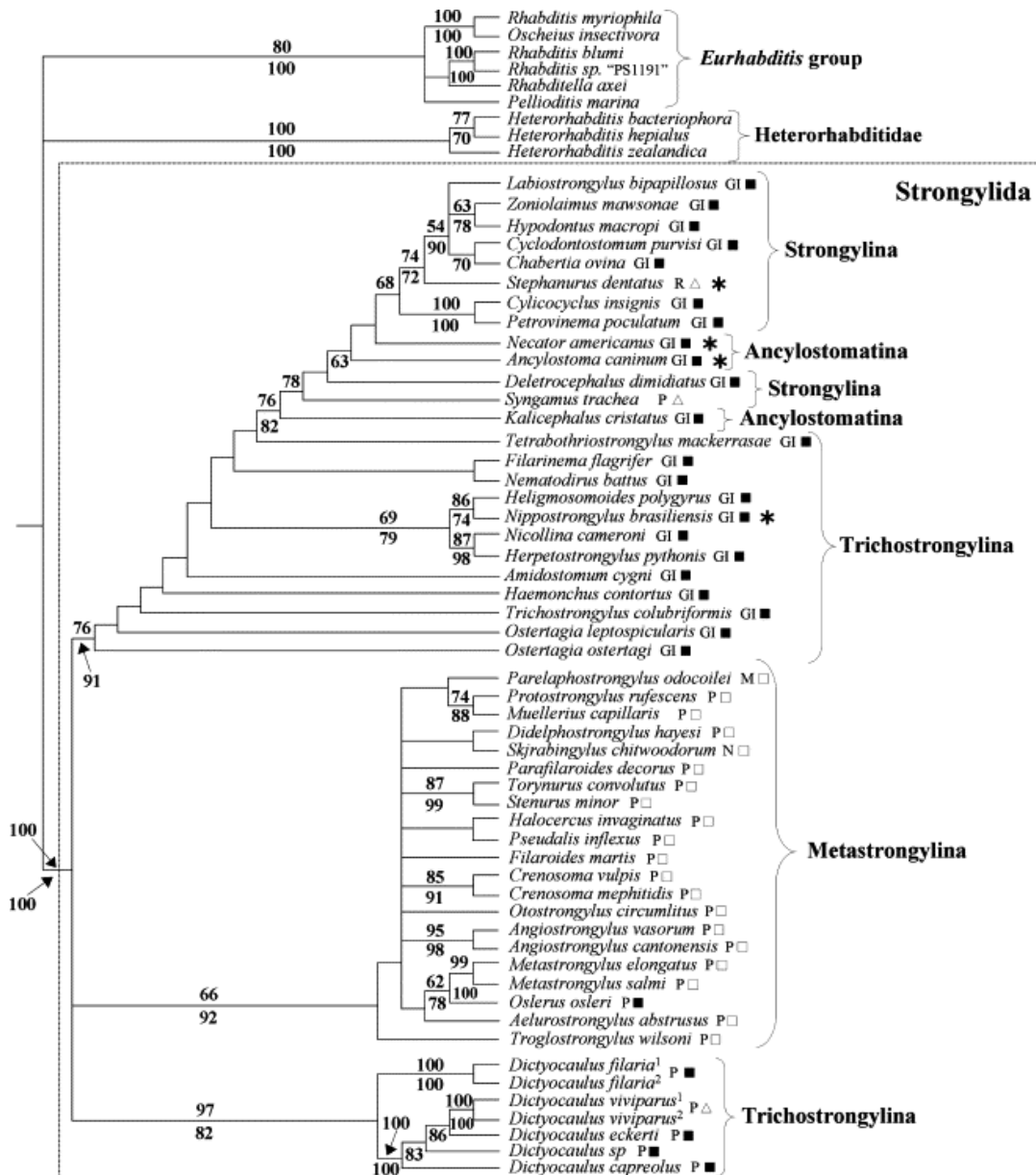
De Metastrongylidae (Metastrongylina) staan bekend om hun indirecte levenscyclus, waarbij vooral slakken en regenwormen als tussengastheer dienen. *Oslerus osleri* heeft in tegenstelling tot de overige Metastrongylidae wel een directe levenscyclus, die oorspronkelijk uit een indirecte levenscyclus zou afgeleid zijn (Chilton et al., 2016).

D. immitis en *A. vasorum* zijn hartwormen die onder andere bij de hond en de vos voorkomen. Waar *A. vasorum* predilectieplaatsen voor het rechterventrikel en de *arteria pulmonaris* heeft, zijn de predilectieplaatsen voor *D. immitis* het rechterventrikel, rechteratrium, *arteria pulmonaris* en *vena cava caudalis*. Niettegenstaande het feit dat *A. vasorum* vaak bij de cardiovasculaire parasieten wordt bestudeerd, wordt deze worm soms ook onder de longwormen besproken (Hoch en Strickland, 2008; Taubert et al., 2009).

De echte longwormen zoals *Crenosoma vulpis* (vossenlongworm) en *Filaroides osleri* (*Oslerus osleri*) kunnen teruggevonden worden op figuur 1, die de fylogenetische verwantschap van verschillende

¹ NCBI. Opgehaald van National Center for Biotechnology information:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi> Laatst bezocht op 19/03/2021.

species van de Strongylida op basis van de 18S RNA-gen sequentie weergeeft. *Capillaria aerophila* (synoniem *Eucoleus aerophila*) en *Filaroides hirthei* (hondenlongworm) kunnen niet op figuur 1 teruggevonden worden (Chilton et al., 2006; Eamsobhana et al., 2014).



Figuur 1: De fylogenetische boom van de orde Strongylida, die van het 18S rDNA-gen sequenties is afgeleid. Symbolen: Levenscyclus: ■, direct; □, indirect; △, direct, maar de worm heeft wel de mogelijkheid om een paratenische gastheer te gebruiken en *, L3 larven die de mogelijkheid hebben om de huid of gastheer te penetreren. Predilectieplaats: P, pulmonair systeem; GI, gastro-intestinaal kanaal; N, nasale sinussen; R, perirenaal weefsel en M, spieren. (Naar: Chilton et al., 2006)

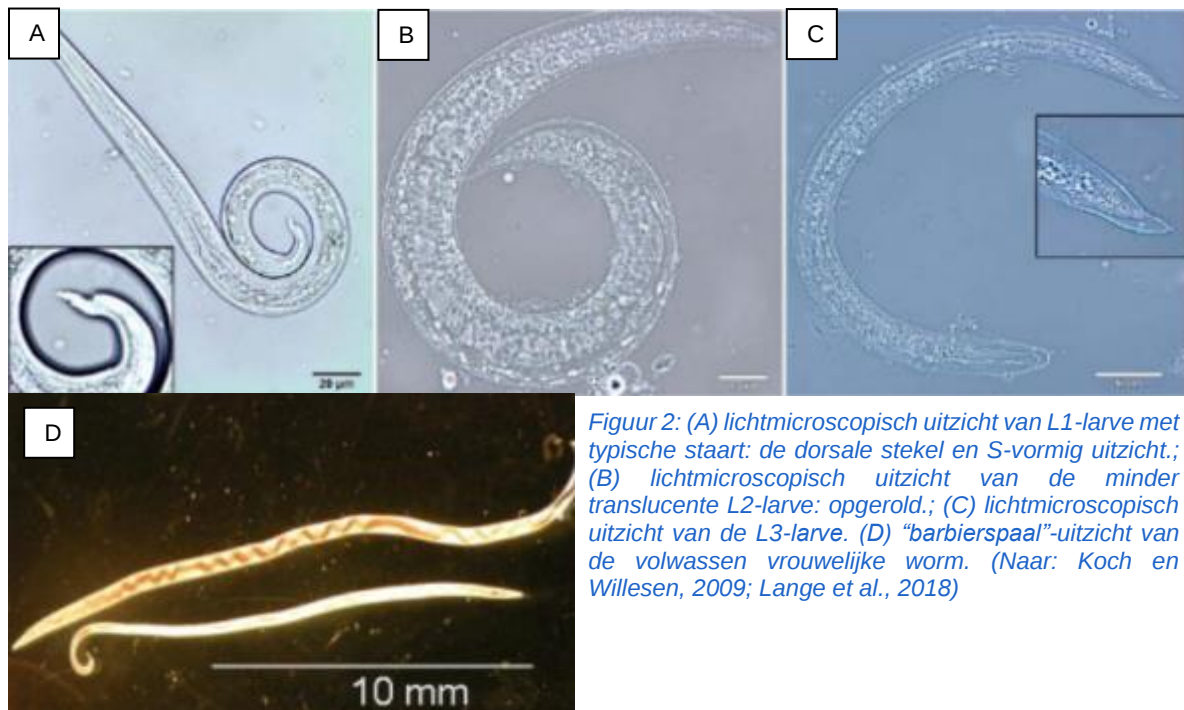
1.2. Morfologie

De L1-larven zijn translucent waarbij de lengte en doormeter respectievelijk variëren tussen 310-399 μm en 14-16 μm . Ze zijn opgekruld en herkenbaar aan de morfologie van de staart, die een dorsale stekel bevat en uitloopt in een korte sinusgolf (Fig. 2A) (Ferdushy en Hasan, 2010; Moeremans et al., 2011).

De L2-larven zijn 420-450 μm lang en 40-42 μm breed en zijn omgeven door de cuticula van de L1-larve. Ze zijn minder translucent en C-vormig opgerold (Fig. 2B) (Ferdushy en Hasan, 2010).

De translucente L3-larven zijn 508-610 μm lang en 27-34 μm breed (Rosen et al. 1970). De staartpunt is spits en heeft een karakteristieke digitiforme structuur. Ze vertonen in de cuticula duidelijk herkenbare fijne dwarsstrepen (Fig. 2C) (Rosen et al. 1970; Ferdushy en Hasan, 2010).

De vrouwelijke en mannelijke volwassen wormen zijn macroscopisch makkelijk waarneembaar en zijn respectievelijk 15-21 mm en 14-16 mm lang. Bij de vrouwelijke exemplaren is het witte voortplantingsstelsel verstrengeld met het rode spijsverteringskanaal. Dit geeft de wormen een karakteristiek “barbierspaal”-uitzicht (Fig. 2D) (Lange et al., 2018).



Figuur 2: (A) lichtmicroscopisch uitzicht van L1-larve met typische staart: de dorsale stekel en S-vormig uitzicht.; (B) lichtmicroscopisch uitzicht van de minder translucente L2-larve: opgerold.; (C) lichtmicroscopisch uitzicht van de L3-larve. (D) “barbierspaal”-uitzicht van de volwassen vrouwelijke worm. (Naar: Koch en Willesen, 2009; Lange et al., 2018)

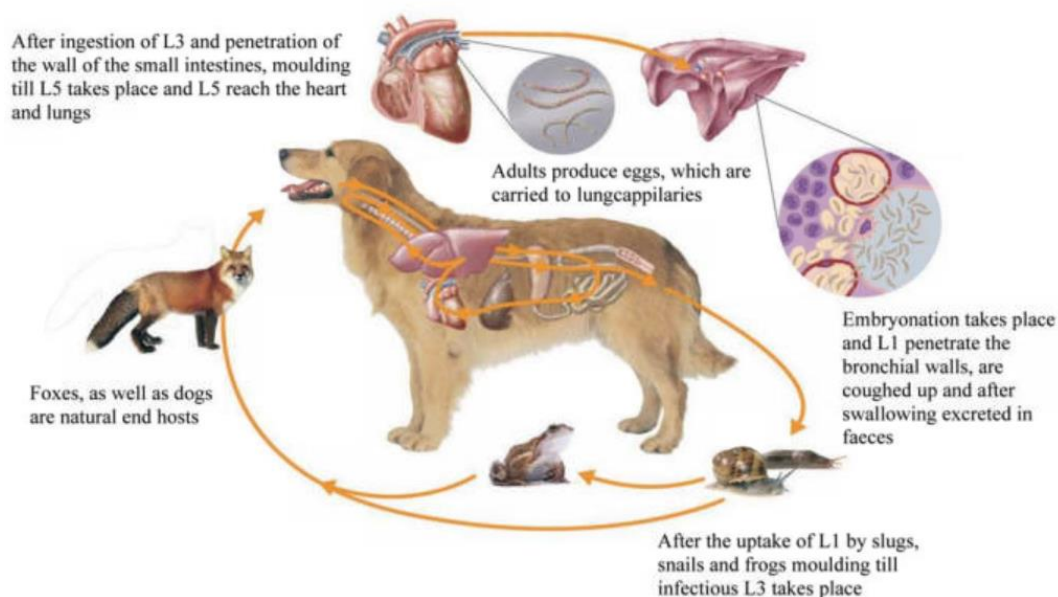
1.3. Levenscyclus

De Franse hartworm heeft een indirecte levenscyclus, waarbij voornamelijk naaktslakken (*Arion spp.*) als tussengastheer en de kikker en kip als paratenische gastheer (enkel experimenteel aangetoond) dienen (Bolt et al., 1993; Mozzer en Lima, 2015). Een paratenische gastheer is niet noodzakelijk voor de parasiet, maar kan wel als infectiebron en transportgastheer functioneren (Moeremans et al., 2011). De vos wordt beschouwd als de belangrijkste eindgastheer (Koch en Willesen, 2009; Barutzki en Schaper, 2009), maar ook andere Canidae zoals de wolf, coyote en gedomesticeerde honden kunnen als eindgastheer fungeren (Rosen et al., 1970; Bolt et al., 1994; Bourque et al., 2005; Lempereur et al., 2016).

De eindgastheer infecteert zich door het eten van de tussen- en/of paratenische gastheren. Een infectie kan ook optreden door het drinken van plaswater of door het eten van feces of plantmateriaal, die besmet zijn met vrijlevende L3-larven (Rosen et al., 1970; Barçante et al., 2003; Bourque et al., 2008). Volgens Barçante et al. (2003) zouden deze L3-larven tot 15 dagen in zoetwater of nat gras kunnen

overleven. Dit is echter nog niet onderzocht *in vivo*. De L3-larven penetreren de darmwand, migreren naar de intestinale lymfeknopen en vervellen daar tot L4- en L5-larven. De mature larven migreren via de bloedvaten naar de *arteria pulmonalis* en het rechterhart, waar ze volwassen worden (Ferdushy en Hasan, 2010; Conboy, 2011). De volwassen wormen van beide geslachten worden aangetroffen in de pulmonale arterie en het rechterhart van de eindgastheer. De geproduceerde eieren komen via de bloedstroom in de longcapillairen en embryoneren daar tot L1-larven. Deze L1-larven penetreren de bronchen en alveolen. Ze worden opgehoest, ingeslikt en komen uiteindelijk in de feces terecht (Rosen et al. 1970; Ferdushy en Hasan, 2010). De cyclus van de parasiet heeft een variabele prepatente periode (28-108d).

De infectie van de tussengastheren gebeurt door het binnendringen van L1-larven in het tegument of door coprofagie (Barçante et al., 2003; Morgan en Shaw, 2010). Hier matureren en vervellen de L1-larven in ongeveer 16 dagen tot het infectieus stadium L3 (Morgan et al., 2005).



Figuur 3: Levenscyclus van *Angiostrongylus vasorum*. (Naar: Moeremans et al., 2011)

1.4. Pathogenese en klinische symptomen

De symptomen van de parasitaire infectie kunnen variëren van individu tot individu. Een geïnfecteerde hond kan acuut sterven, chronisch ziek zijn of symptomeloos de infectie doorstaan (Gallagher et al., 2012). Meestal is de hond enkele maanden tot jaren klinisch normaal vooraleer er symptomen worden waargenomen (Rosen et al., 1970). Klinisch worden er voornamelijk cardiorespiratoire symptomen en coagulatiestoornissen waargenomen. Minder frequent worden neurologische, oftalmologische en gastro-intestinale symptomen vastgesteld.

Respiratoire symptomen zoals hoesten, haemoptysis, kokhalzen, inspanningsintolerantie, tachypnee en dyspneu (met of zonder cyanose) worden zeer frequent waargenomen. Deze symptomen zijn het gevolg van migrerende L1-larven die een inflammatie in de longen veroorzaken. Zo ontstaat uiteindelijk een interstitiële pneumonie. De L1-larven veroorzaken tromboses in de longarteriën, die congestief hartfalen en pulmonaire hypertensie kunnen teweegbrengen (Tebb et al, 2007; Morgan en Shaw, 2010; Sarre et al., 2015). Volgens Schnyder et al. (2009) zou de longaantasting al tijdens de prepatente periode ontstaan.

Coagulopathie wordt bij ongeveer 35% van alle besmette honden teruggevonden. De antigenen van de parasiet hebben waarschijnlijk een invloed op het stollingsstelsel, waardoor er een lichte vorm van DIC (*disseminated intravascular coagulation*) ontstaat. Elke vorm van bloedstollingsstoornissen kan waargenomen worden, zoals bijvoorbeeld petechiën, ecchymosen, hematomen en bloedingen in de

thorax en abdomen (Nicolle et al., 2006; Tebb et al., 2007; Moeremans et al., 2011; Schnyder et al., 2017). De lokalisatie, ernst en gevolgen zijn bijgevolg sterk variabel.

Door de migrerende L1-larven en de veroorzaakte bloedingen in de hersenen of het ruggenmerg kunnen ook neurologische symptomen (ataxie, epileptische aanvallen, parese, hypermetrie...) ontstaan. Het ziekteverloop kan verder gepaard gaan met gastro-intestinale klachten (braken en diarree), oftalmologische klachten (uveitis, glaucoom...), gewichtsverlies, lethargie en anorexie (Morgan et al., 2010; Sarre et al., 2015; Ciuca et al., 2019).

1.5. Diagnostiek

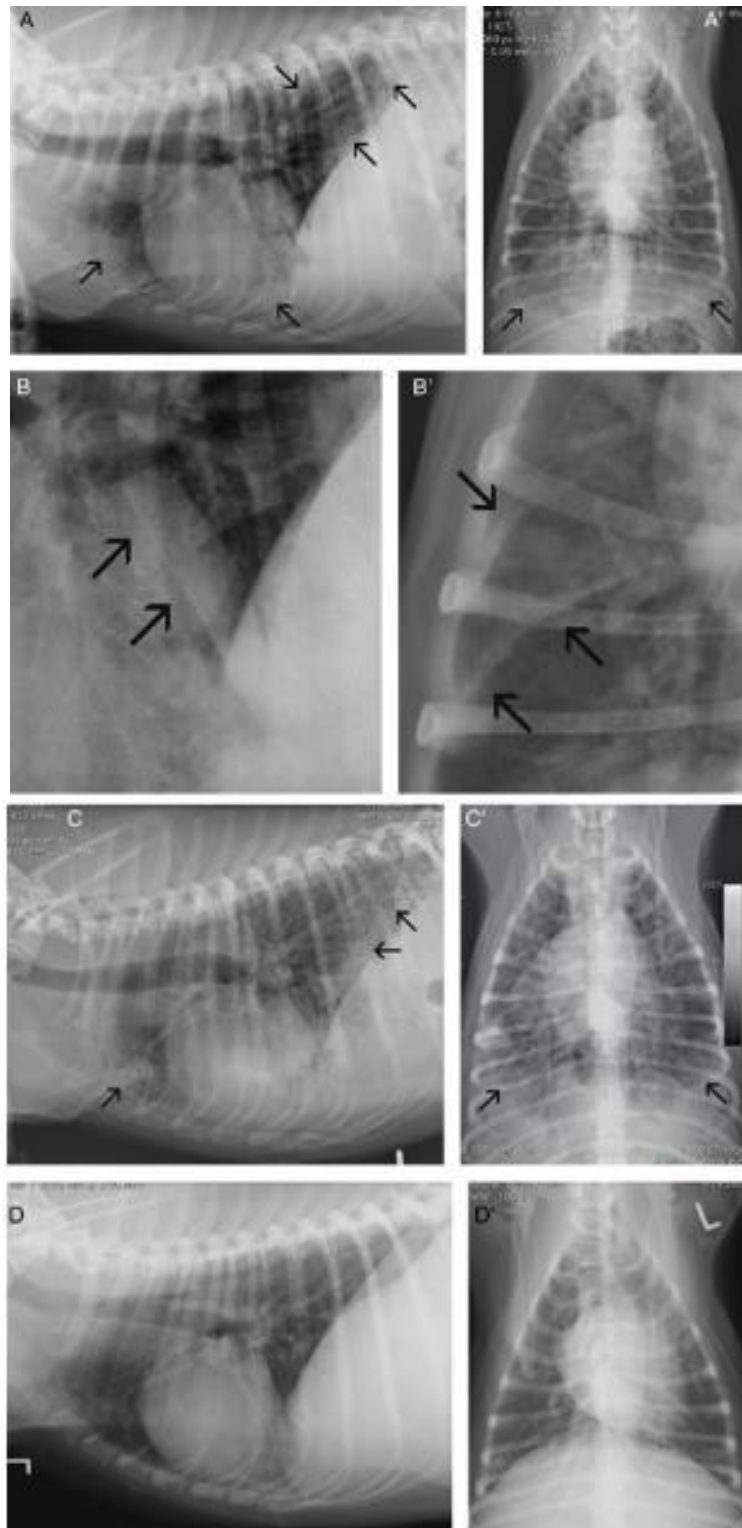
Om een diagnose te stellen, worden verschillende methodes gebruikt. Naast het opmerken van klinische symptomen wordt gebruik gemaakt van medische beeldvorming (RX en echografie), bloedonderzoek, fecesonderzoek (Baermann methode, Teleman sedimentatie methode en flotatie-sedimentatiemethode), bronchoscopie, BAL-methode, PCR en serologie (ELISA).

1.5.1. Medische beeldvorming

De abnormaliteiten die via deze technieken worden beschreven zijn niet specifiek voor de infectie. Op radiografie (zie fig. 4) wordt afhankelijk van de duur van de infectie en de door de parasiet veroorzaakte lesies een interstitieel, bronchiaal en alveolair patroon in de longen gezien. Vaak wordt een multifocaal of perifeer broncho-interstitieel patroon met alveolaire patches waargenomen (5-7 weken na infectie) (Boag en Chapman, 2004). Tijdens het verdere verloop van de ziekte (7-9 weken na infectie) kan caudodorsaal een alveolair patroon aan de rand van de longen verschijnen (Boag en Chapman, 2004; Moeremans et al., 2011; Di Cesare en Traversa, 2014). Bij een later stadium wordt eerder een interstitieel patroon door pulmonaire consolidatie en fibrose verwacht. Pleurale effusie kan wijzen op een chronische infectie (Di Cesare en Traversa, 2014).

Ook vergroting van het rechterhart kan op radiografieën worden waargenomen. Bij laterale opnames is de hartschaduw vergroot en bij ventrodorsale opnames is de axis van het hart naar links verplaatst. Bovendien kan een omgekeerde D-vorm van het hart waargenomen worden (Brennan et al., 2004).

Boag en Chapman (2004) bestudeerden radiografische beelden van 16 geïnfecteerde honden en 49 controle honden. Een alveolair patroon werd gevonden bij longoedeem, longbloeding en bronchopneumonie. Aangezien een multifocaal en/of perifeer alveolair patroon bij angiostrongylose beschreven staat en niet bij de hierboven beschreven aandoeningen, kan dit wijzen op een mogelijke infectie van de nematode. Toch werd dit multifocaal en/of perifeer patroon ook bij twee controle honden beschreven (Duitse herder met lymfomatoïde granulomatose en een West Highland White terriër met longfibrose). Een caudodorsaal alveolair patroon kan naast angiostrongylose ook gevonden worden bij het inademen van een vreemd voorwerp of een bacteriële pneumonie waarbij de bacteriën via de bloedsomloop in de longen zijn terecht gekomen (Dear, 2014). Er kan ten slotte geconcludeerd worden dat de abnormaliteiten, die via radiografische beelden worden beschreven, niet specifiek zijn voor de infectie.



*Figuur 4: Linker laterale (LL) en dorsoventrale (DV) thoracale röntgenfoto's van een Beagle geïnoculeerd met 500 larven van *Angiostrongylus vasorum* bij 8, 13 wpi en 9 wpt.*

(A) Bij 8 wpi zijn er gegeneraliseerde matig verhoogde interstitiële en, vooral aan de longperiferie, meerdere gebieden van een alveolair longpatroon (pijlen).

(B) Beeldvergrotingen tonen pleurale effusie, zoals blijkt uit pleurale fissuurlijnen (pijlen).

(C) Bij 13 wpi is er een duidelijke progressie van de pulmonale parenchymale veranderingen, inclusief een duidelijk alveolair patroon aan de longperiferie (pijlen).

(D) Bij 9 wpt zijn de meeste pathologische veranderingen opgelost, waardoor een mild interstitieel patroon achterblijft. (Naar: Kranjc et al., 2010)

Door de pulmonaire hypertensie en de opeenstapeling van de wormen in het hart en de *a. pulmonalis* kunnen echografische veranderingen optreden zoals dilatatie van het rechterhart en de *a. pulmonalis*, tricuspidalis- en mitralisklep-insufficiëntie, deviatie van het septum, paradoxale septumbeweging en systolische septale afvlakking (Di Cesare en Traversa, 2014; Helm en Morgan, 2017). Om dit in beeld te brengen kan een volledige echocardiografie uitgevoerd worden. Hierbij wordt gebruik gemaakt van de 2D-/B-modus en Doppler. Met een kleurdoppler kan de tricuspidalis en/of pulmonale regurgitatie in beeld gebracht worden. Bovendien is men met de spectraaldoppler in staat de hypertensie en de eventuele regurgitante stroomsnelheden te meten (Di Cesare en Traversa, 2014; Corda et al., 2019). De B-modus wordt gebruikt om de grootte en wanddikte van het rechter/linker ventrikel en de atria, de rechter pulmonale arterie-uitzetbaarheidsindex, de verhouding van longslagader en aorta, de eventuele deviatie van het septum, de paradoxale septumbeweging en de systolische septale afvlakking weer te geven (Corda et al., 2019). Als differentiaaldiagnose kan gedacht worden aan chronische pulmonaire ziekten, tricuspidalisklep insufficiëntie en dysplasie, atriaal septum defect, pulmonaire stenose, tetralogie van Fallot en pulmonaire hypertensie (Thompson, 2007).

1.5.2. Bloedonderzoek

Via bloedonderzoek kunnen trombocytopenie, regeneratieve anemie, hyperglobulinemie, eosinofilie, verlengde stollingstijden (PT en APPT), stijging van D-dimeren, verlaagde concentratie fibrinogeen en hypercalcemie worden waargenomen (Boag et al., 2005; Willesen et al., 2009; Helm et al., 2010; Morgan et al., 2010; Moeremans et al., 2015). Zelden wordt een daling van de von Willebrand factor geconstateerd (Moeremans et al., 2011; Helm en Morgan, 2017).

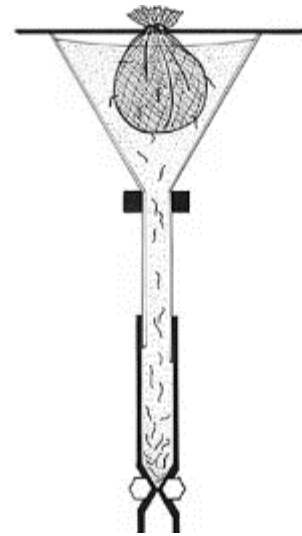
1.5.3. Detectie van L1-larven

Eén van de oudste en meest gebruikte methodes om L1-larven uit de ontlasting aan te tonen is de Baermann methode. Er bestaan heel wat variaties op deze techniek, die relatief snel, goedkoop en simpel is (Simin et al., 2014). Bovendien kan hij makkelijk in dierenartsenpraktijken worden uitgevoerd. Verder wordt ook de Teleman sedimentatie methode en sedimentatie-flotatie methode toegepast.

Een andere manier om L1-larven aan te tonen is bronchoscopie met de BAL-techniek. Naast het aantonen van de larven, kan hiermee ook cytologisch onderzoek van de longen uitgevoerd worden (Barçante et al., 2008; Houpin et al., 2016).

1.1.1.1 Baermann methode

De Baermann techniek is gebaseerd op het actief bewegen en migreren van de L1-larven. Aan een trechter wordt op het einde een rubberen slangetje met een klem vastgehangen. In de trechter zit lauwwarm water. Verse ontlasting wordt op een hydrofiel gaasje aangebracht. Dit gaasje met de ontlasting wordt aan een stokje gebonden of op een theezeeff in de trechter geplaatst, waardoor de ontlasting in het lauwarme water komt te hangen. De L1-larven migreren door de filter in het water en zinken door de zwaartekracht naar beneden. Het sediment, waarin de L1-larven zich bevinden, bevindt zich ventraal in het slangetje. Na 24u worden enkele druppels water uit het slangetje opgevangen. Nadat het sediment driemaal met een fosfaat gebufferde zoutoplossing gewassen wordt en de L1-larven met iodine worden gefixeerd, wordt het sediment in een petrischaal of op een draagglaasje met een kleine vergroting (20-40x) bekeken (Ryzs, 2017; RCV²).



Figuur 5: Proefopzetting van de Baermann methode. (Naar: RCV²)

De Baermann methode vertoont een hoge specificiteit en een suboptimale sensitiviteit. Omwille van intermitterende larvale uitscheiding wordt idealiter stoelgang van drie opeenvolgende dagen verzameld. Zo is men in staat de sensitiviteit te verhogen. Omdat vrijlevende larven de stoelgang kunnen contamineren, is de manier van staalname van belang. Bovendien is personeel met de nodige expertise noodzakelijk. Het is belangrijk verse stoelgang te onderzoeken aangezien er *post mortem* vervorming van de larven optreedt waardoor de L1-larven van *A. vasorum* niet meer herkenbaar zijn (Oliveira-Junior et al., 2006). Verder is het onmogelijk om de parasitaire infectie tijdens de prepatente periode aan te tonen. Bijgevolg zijn de longen reeds aangetast, wat een slechtere prognose aan de eindgastheer geeft (Koch en Willesen, 2009; Humm en Adamantos, 2010; Simin et al., 2014).

1.1.1.2 Teleman sedimentatie methode

Bij een Teleman sedimentatie test wordt één gram fecesmateriaal met zes ml HCl in een reageerbuis gemengd. Dit mengsel wordt door een zeef van één mm mazendikte gezeefd. Hierna wordt een extra volume van zes ml di-ethylether toegevoegd. Die suspensie wordt 30 seconden geschud en één minuut gecentrifugeerd bij 500G. Daarna wordt het supernatant verwijderd en worden enkele druppels sediment op een microscopglaasje geplaatst. Nadat dit met een dekglasje afgedekt is, kan onder de microscoop gezocht worden naar L1-larven (Mylonakis et al, 2001).

1.1.1.3 Sedimentatie-flotatiemethode

Een fecesstaal van 5 gram wordt afgewogen in een beker waaraan 50 ml van een 1% formaline oplossing toegevoegd wordt. Deze suspensie wordt gehomogeniseerd en driemaal gezeefd. Na het opnieuw toevoegen van 50 ml 1% formalineoplossing, wordt de suspensie voor 15 minuten gesedimenteerd. Vervolgens wordt het supernatant afgegoten en het sediment overgebracht naar een 15 ml proefbuis, die daarna gecentrifugeerd wordt. Het supernatant wordt opnieuw afgegoten en een flotatievloeistof wordt toegevoegd aan het sediment. Na het opnieuw centrifugeren (aan lage snelheid) wordt een dekglasje op het vloeistofoppervlak geplaatst. Dit glaasje wordt tenslotte op een draagglaasje geplaatst en wordt onder de microscoop bij een minimale vergroting van 100x bekeken. Lichte aanpassingen kunnen voorkomen. (Van de Putte, 2015; Becker et al., 2016; Inês et al., 2016)

De fecale sedimentatie-flotatiemethode heeft bepaalde nadelen. Zo is de test minder gevoelig vanwege de kleine hoeveelheid gebruikte stoelgang. Bovendien hangt de betrouwbaarheid van de test af van de soort gebruikte flotatie-oplossing en de flotatietijd (Christie et al., 2011). De geconcentreerde zout- en

² RCV/FAO. Opgehaald van RCV/FAO guide to veterinary diagnostic parasitology: <https://www.rvc.ac.uk/review/parasitology/Baermann/Principle.htm> Laatst bezocht op 05/09/2020.

suikeroplossingen kunnen osmotische schade induceren waardoor de larven uitdrogen. Dit zorgt voor een moeilijker microscopisch morfologische identificatie. Hoewel de zinksulfaat oplossing het meest betrouwbare medium is, worden nog steeds positieve dieren niet gedecteerd (Traversa et al., 2008). Barutzki en Schaper (2009) concludeerden dat de sedimentatie-flotatie methode slechts iets minder specifiek is dan de Baermann methode.

1.1.1.4 Bronchoscopie en BAL-methode



Figuur 6: Bronchoscopisch beeld van tracheobronchische bifurcatie met congestie van het tracheobronchiale slijmvlies en bloedbevattende afscheidingen van de linker hoofdbronchus. (Naar: Canonne et al., 2015)

In deze methode kunnen de trachea en bronchen door middel van een stijve of flexibele bronchoscoop in beeld gebracht worden (Rha en Mahony, 1999). Bij angiostrongylosis wordt vaak een diffuse slijmvliescongestie en oedeem waargenomen. Verder kunnen bloedbevattende afscheidingen, afkomstig van de belangrijkste bronchiën, teruggevonden worden (Lepri et al., 2011; Canonne et al., 2015).

BAL (bronchoalveolaire lavage) is een techniek waarbij cellen en andere elementen uit de longen worden gehaald. Een endotracheale buis wordt tot aan de carina geplaatst, waarna 5ml/kg lichaamsgewicht steriel fosfaat gebufferde zoutoplossing (37°C) in de longen toegevoegd wordt (Barçante et al., 2008). Deze oplossing wordt terug opgezogen en onder de microscoop bekeken. L1-larven, bloed, eosinofiele cellen en co-infecties met *Bordetella bronchiseptica* en *Crenosoma vulpis* kunnen worden waargenomen (Canonne et al., 2015).

Om volledig te zijn, kan een kwantitatieve PCR-test op het verzamelde vocht worden uitgevoerd (zie verder) (Canonne et al., 2015; Houpin et al., 2016).

De BAL-methode is een nauwkeurige techniek, vooral in situaties waarbij de hond klinische symptomen vertoont en de Baermann methode een negatief resultaat geeft. Bovendien kan een cytologische evaluatie worden uitgevoerd. Op deze manier kan informatie over ontstekingsziekten en een mogelijke diagnose en prognose van longparasieten zoals *A. vasorum* weergegeven worden. Het is een belangrijke aanvullende methode voor een follow-up van de infectie (Barçante et al., 2008). Een dier met respiratoire symptomen moet de behandeling onder anesthesie ondergaan, wat risicovol kan zijn (Canonne et al., 2015).

1.5.4. PCR-test

Een polymerase chain reaction (PCR) wordt gebruikt op bloed, feces, verzameld vocht uit de BAL-techniek en (naakt)slakweefsel. Het kan gebruikt worden om de aanwezigheid van DNA-stukjes van de nematode aan te tonen. De PCR-test kan als bevestiging op microscopisch onderzoek gehanteerd worden.

Het is een algemene techniek die gebruikt wordt om kleine DNA-fragmenten te vermenigvuldigen zonder dat ze dienen gekloneerd te worden in een vector. Een real-time PCR is een variant van de hierboven beschreven PCR en is ontwikkeld om de kwantificering van mRNA uit te voeren. De PCR kan tijdens het proces gevolgd worden

De gebruikte RT-PCR is ontwikkeld om de gehele ITS2-regio (*second internal transcribed spacer*) van het rDNA van *A. vasorum* te produceren. De gebruikte primers zijn respectievelijk gericht op het 5,8-rRNA-gen en het 28S-rRNA-gen (Jefferies et al., 2009). De sensitiviteit van de primers werd getest op DNA van zowel volwassen *A. vasorum* wormen van een geïnfecteerde vos, als L1-larven van experimenteel geïnfecteerde vossen. De specificiteit van de primers werd getest op DNA van andere nematoden zoals *Crenosoma vulpis*, *Eucoleus aerophilus* en *Toxocara canis*, afkomstig van vossen uit het Verenigd Koninkrijk, maar ook *D. immitis* en *D. repens*, afkomstig van een Griekse hond. Bovendien werd DNA van potentiële eindgastheren en tussengastheren getest (Jefferies et al., 2009; Al-Sabi et al., 2010). Andere primers kunnen gebruikt worden om welbepaalde stukjes van het rRNA aan te tonen.

Deze kwantitatieve PCR is gericht op het 18S-rRNA-gen van *A. vasorum* (Canonne et al., 2015 Houpin et al., 2016).

Jefferies et al. (2009) beschreven dat bij deze methode vals negatieve resultaten ontstaan afhankelijk van het type staal, het gebruikte volume van de staal en de fase van de infectie. Afhankelijk van het type staal heeft de PCR-methode een betere detectielimiet. De beste detectielimiet kan gevonden worden bij een EDTA-bloedstaal. Bij gebruik van feces of nasopharyngeale swabs is deze limiet verhoogd. Om de detectielimiet bij fecesonderzoek te verlagen, kan een L1-zuiveringsstap worden toegevoegd. Dit zorgt wel voor een langere arbeidsduur (Jefferies et al., 2011). Bijgevolg wordt de PCR het liefst op een EDTA-bloedstaal uitgevoerd.

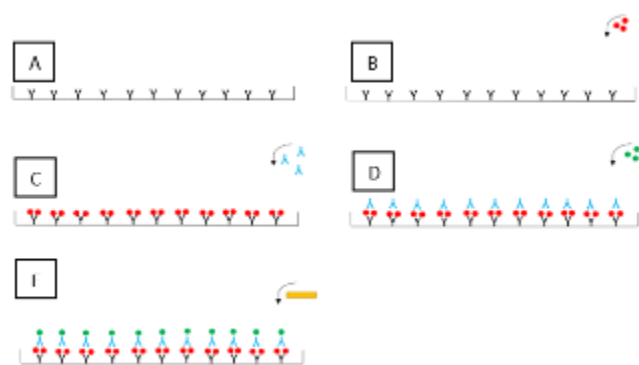
1.5.5. Serologie: ELISA

Met behulp van een sandwich ELISA (fig. 7) kunnen antigenen in het bloed van de hond worden aangetoond. Antigenen worden mogelijks 35-77 dagen na infectie en tot 16-34 dagen na behandeling gedetecteerd.

De IDEXX AngioDetect-kits zijn eenvoudige, gemakkelijke en snelle (15 minuten) immunochromatografische tests om *A. vasorum*-specifieke antigenen aan te tonen. Ze kunnen gebruikt worden als een eerstelijnstest voor honden die klinische symptomen van angiostrongylose vertonen (Liu et al., 2017). De specificiteit en sensitiviteit van de test bedragen respectievelijk 98,9% en 84,6% (Schnyder et al., 2014). In sommige gevallen toonde de test na 9 weken postinoculatie positief resultaat, pas na 14 weken werd hij echter 100% gevoelig. Na een anthelminthicumbehandeling geeft de sneltest na 3-7 weken een negatief resultaat weer (Schnyder et al., 2014). Liu et al. (2017) beschrijven een sensitiviteit van 97,1%, wat veel hoger ligt. Doordat in deze studie enkel klinisch zieke honden of eerder bevestigde geïnfecteerde honden werden gebruikt, kan de testpopulatie in een later stadium van de infectie worden geplaatst dan de onderzoekspopulatie gebruikt door Schnyder et al. (2014). Deze test is vooral handig in enzoötische gebieden en gebieden waar honden risico lopen op infectie. Bovendien is het mogelijk honden na anthelminthische behandelingen op te volgen (Schnyder et al., 2014; Liu et al., 2017). Wanneer de test negatief is, maar de hond wel verdachte symptomen vertoont, mag deze infectie niet worden uitgesloten en moet verder onderzoek worden uitgevoerd (Schnyder et al., 2014).

Een antigen sandwich-ELISA is een betrouwbare methode met slechts een kleine percentage kans op kruisreacties. Een kruisreactie met *D. immitis* is wegens dezelfde epitopen mogelijk (Guardone et al., 2013; Schnyder et al., 2014). Om de kans op kruisreacties te verkleinen, werd in het verleden gebruik gemaakt van ELISA's met *A. vasorum*-specifieke monoklonale antistoffen die niet reageren op *D. immitis* E/S antigenen. De combinatie met polyklonale konijn-antistoffen tegen volwassen *A. vasorum* E/S antigenen zorgt voor een hoge specificiteit (94%) en sensitiviteit (95,7%) (Schnyder et al., 2014).

Met behulp van ELISA kunnen daarnaast ook antistoffen tegen de parasitaire infectie in het bloed worden aangetoond. De antistoffen kunnen al 21 dagen na infectie gedetecteerd worden en na behandeling kunnen ze nog 9 weken meetbaar zijn. Schucan et al. (2012) beschreven hoe de ELISA werd opgebouwd. Er wordt gebruik gemaakt van adult E/S antigenen (Schnyder et al., 2011). Daarnaast worden somatische antigenen gebruikt, afkomstig van gehomoniseerde *A. vasorum* specimen



Figuur 7: Sandwich-ELISA: (A) plaat met monoklonale antistoffen; (B) serum met antigenen wordt toegevoegd; (C) polyklonale antistoffen worden toegevoegd; (D) substraat geïmunitiseerd met anti-konijn IgG gekoppeld aan alkalische fosfatase wordt toegevoegd; (E) buffer met P-nitrofenyl fosfaat wordt toegevoegd. (Naar: Schnyder et al., 2014)

tijdens necropsie van vossen en honden geïsoleerd. Via de Baermann methode worden als laatste ook antigenen afkomstig van L1-larven uit experimenteel geïnfekteerde hondenfeces verzameld.

Ondanks het feit dat detectie van specifieke antilichamen door middel van ELISA-testen zeer gevoelig is, zijn deze ELISA's niet commercieel verkrijgbaar en worden ze alleen voor epidemiologische studies gebruikt (Schucan et al., 2012; Guardone et al., 2013; Canonne et al., 2015).

Doordat slechts één bloedname moet worden uitgevoerd, zijn de antigen- en antistof-ELISA-methodes minder omslachtig. Bijgevolg worden deze technieken gebruikt voor zowel massascreening als individuele controle. Bovendien staat deze techniek toe een infectie op een veel vroeger tijdstip aan te tonen dan met de Baermann methode, wat een betere prognose geeft.

1.6. Behandeling en preventie

Na diagnose kan een anthelminthische en ondersteunende therapie ingesteld worden. Oorspronkelijk werden levamisole en ivermectine gebruikt als anthelminthische behandeling (Elsheikha et al., 2014). Levamisole doodt snel de parasieten, waardoor de kans op anafylactische reacties groot is (Soland en Bolt, 1996; Bourque et al., 2008) en ivermectine kan mogelijk toxiciteit bij honden met een MDR-1 mutatie (bijvoorbeeld collies) teweegbrengen. Bovendien is ivermectine niet geregistreerd voor gebruik bij de hond in België. Deze nevenwerkingen, samen met de aanwezigheid van veiligere producten, zorgen ervoor dat de levamisole en ivermectine niet meer of zelden gebruikt worden.

Waardige alternatieven zijn topicaal moxidectine (in combinatie met imidacloprid; één of tweemaandelijks behandelingen) en oraal milbemycine oxime (als onderdeel van een combinatieproduct; eenmaal per week gedurende vier weken). Fenbendazole (dagelijks orale behandeling gedurende 21 dagen) wordt in tegenstelling tot moxidectine en milbemycine oxime in Europa *off-label* gebruikt en zou voor een trage dood van de wormen zorgen waardoor het risico op trombo-embolie verlaagd wordt. Volgens Elsheikha et al. (2014) zijn hieromtrent nog geen peer-reviewed gegevens beschikbaar. Al deze anthelminthica hebben een activiteit tegen L4- en/of L5-larven (Willesen et al., 2007; Moeremans et al., 2011; Becskei et al., 2020).

Ter preventie wordt oraal moxidectine in combinatie met sarolaner en pyrantel door Becskei et al. (2020) als een waardig alternatief voor topicaal en oraal moxidectine beschreven. Een eenmalige toediening geeft een werkzaamheid boven de 92,9% tegen L5-larven, terwijl de werkzaamheid van moxidectine 85,2% is (Willesen et al. 2007).

Het al dan niet instellen van ondersteunende therapie hangt af van de voorkomende symptomen. Hokrust en bronchodilatoren kunnen gebruikt worden om het respiratoir stelsel te ondersteunen. Bij honden met zware dyspneu is zuurstoftoediening aanbevolen. Wanneer ernstige coagulopathie optreedt, kan een bloedtransfusie (vol bloed, 'Fresh frozen plasma' of 'packed red blood cells') levensreddend zijn. Diuretica kunnen toegediend worden om overbelasting van het hart te vermijden. Corticosteroïden kunnen de pulmonale inflammatie onderdrukken en helpen bij een anafylactische reactie en immuun-gemedieerde trombocytopenie (Bolt et al., 1994; Morgan en Shaw, 2010; Moeremans et al., 2011).

De prognose voor volledig herstel van het dier wordt beïnvloed door de duur van de infectie en de wormbelasting. Bij honden die van nature met de nematode zijn geïnfecteerd, kunnen deze parameters niet makkelijk worden beoordeeld (Koch en Willesen, 2009).

Na behandeling wordt opnieuw een Baermann test uitgevoerd op feces, afkomstig van drie verschillende dagen. Op deze manier wordt bevestigd of de behandeling aanslaat en kunnen symptoomloze dragers uitgesloten worden (Koch en Willensen, 2009; Moeremans et al., 2011). Daarnaast kan het bloed, op antigenen (en/of antistoffen) getest worden (Schnyder et al., 2011).

Ter preventie wordt in enzoötische gebieden een maandelijks behandeling van oraal milbemycine oxime, oraal moxidectine of topicaal moxidectine gebruikt (Becskei et al., 2020). Daarnaast is het

regelmatig testen op de infectie en honden aan de leiband houden tijdens het wandelen een hulpmiddel (Moeremans et al., 2011; Böhm et al., 2014; Böhm et al., 2017).

2. Epidemiologie

2.1. Inleiding

In dit hoofdstuk wordt de distributie van *A. vasorum* doorheen de tijd onderzocht. De nematode wordt gekarakteriseerd door een opvallend onregelmatig geografische distributie. De distributie bestaat uit focale enzoötische 'hotspots' met een hoge prevalentie bij de vos en de slak en een hoge incidentie bij de hond. De spots zijn omgeven door grotere gebieden waar de infectie minder frequent of niet voorkomt (Bolt et al., 1994; Morgan et al., 2005; Koch en Willesen, 2009; Blanch-Lazaro et al., 2018).

Zowel de prevalentie als de incidentie worden gebruikt om een ziektefrequentie te meten. Terwijl de incidentie het aantal zieke dieren in de tijd in een omschreven populatie weergeeft, omschrijft de prevalentie het voorkomen van de infectie op een bepaald moment uitgedrukt in verhouding tot de populatie (Christensen, 2001).

Recente onderzoeken hebben aangetoond dat de parasitaire infectie steeds meer voorkomt en zich in Europa verspreidt. *A. vasorum* infecties spreiden zich niet enkel vanuit de foci, maar komen tegenwoordig ook voor in gebieden waar ze nooit eerder beschreven werden. Een mooi voorbeeld wordt tijdens het onderzoek van Gillis-Germitsch et al. (2020) in Zwitserland weergegeven. Hierbij werden jaarlijks vossen tijdens het jachtseizoen doodgeschoten en werd op elk karkas een autopsie uitgevoerd. Bovendien werd bloed verzameld en ingevroren bij -20°C, dat later met serologische onderzoeken bekeken kon worden. De studie constateerde een jaarlijkse stijging van positief gediagnosticeerde vossen (10,1% in 2012 en 71,4% in 2017).

2.2. Historiek

Serres beschreef de parasiet voor het eerst in 1853 in Toulouse, Zuidwest-Frankrijk (Schnyder et al., 2017). Hij onderzocht een jachthond met apathie, anorexie, gastro-intestinale klachten en stollingsstoornissen. Ondanks de behandeling werd de hond dood aangetroffen. Bij de autopsie werd een vergroot rechterventrikel met wormen van 15 mm waargenomen. Twaalf jaar later beschreef Baillet opnieuw wormen in de bloedvaten en in het rechterhart, die hij '*Haemostromylus vasorum*' noemde. Twee jaar later observeerde Lafosse cardiopulmonaire symptomen bij chronisch geïnfecteerde honden, wat door Laulanié in 1884 in verschillende studies werd onderzocht.

Begin 20^{ste} eeuw voerden Kamensky, Railliet en Henry morfologische studies uit. Kamensky beschreef de worm als '*Haemostromylus vasorum*' terwijl Railliet en Henry de naam '*Strongylus vasorum*' gebruikten. Aangezien er ook voorvallen in Noord-Frankrijk, Aveyron en Hérault werden aangetroffen, constateerden Cuillé en Darraspen in de jaren '30 voor het eerst dat de nematode niet enkel in het zuidwesten van Frankrijk voorkwam (Schnyder et al., 2017).

Tot op dat punt was er geen kennis over de levenscyclus van de parasiet. Laulanié had in 1884 succesvol andere honden kunnen infecteren door ze te voeden met geïnfecteerd cardiopulmonair weefsel. Wetenschappers van de Maisons-Alfort Universiteit Diergeneeskunde slaagden er echter niet in om deze experimentele studie succesvol te herhalen. Ze vermoedden dat deze vroegere succesvolle experimentele studie veroorzaakt werd door natuurlijke infecties in dat gebied en daarom werd beslist deze studie opnieuw uit te voeren in niet-enzoötische gebieden (Schnyder et al., 2017).

Nadat ook deze studies bleven falen, ontstond de hypothese dat een mogelijke tussengastheer een rol in de cyclus zou spelen (Schnyder et al., 2017). In 1960 slaagden Guilhon en mede-onderzoekers erin de tussengastheer te identificeren. Doordat slakken, honden, vossen en gouden jackhalzen experimenteel geïnfecteerd werden, ontstond op korte tijd een duidelijke kennis over de cyclus (Schnyder et al., 2017).

Sinds *A. vasorum* in Zuid-Frankrijk werd beschreven, werden lange tijd enkel hyperenozoïtische foci in Newfoundland (Canada) en Oeganda teruggevonden (Morgan et al., 2009). Vanaf de jaren '60 werden in een versneld tempo honden en vossen uit Zuid-Ierland, het zuidoosten van het Verenigd Koninkrijk en Wales, Zwitserland (Morgan et al., 2009) en Denemarken (Bolt et al., 1992; Rosenlund et al., 1991) met *A. vasorum* gediagnosticeerd (Morgan et al., 2008; Morgan et al., 2009; Taylor et al., 2015; McCarthy et al., 2016; Schnyder et al., 2017). Sindsdien werden deze landen als enzoïtische gebieden beschouwd.

Landen die eerder als vrij beschouwd werden, meldden later ook positieve gevallen. Zo werd in Duitsland een 2-jarig onderzoek door Barutzki en Schaper (2009) uitgevoerd waarbij de geografische distributie in kaart werd gebracht. In 2003 kwam deze infectie sporadisch voor, maar gedurende de laatste jaren werden steeds meer gevallen beschreven. Oorspronkelijk kwam de parasiet enkel in het zuidwesten voor, later verspreidde de nematode zich verder naar het noordoosten van Duitsland (Maksimov et al., 2017). Ook in Nederland werden in 2007 de eerste autochtone infecties bevestigd. Eerder werden enkel importgevallen beschreven (van Doorn et al., 2009). Andere voorbeelden zijn o.a. Polen (Schnyder et al., 2013b), Hongarije (Schnyder et al., 2015), Portugal (Alho et al., 2016) en Griekenland (Angelou et al., 2020).

Ondanks het gunstige klimaat werden in tegenstelling tot de buurlanden lange tijd geen infecties van *A. vasorum* in België vastgesteld. De eerste autochtone infectie werd in 2015 bij een Border collie pup beschreven (Jolly et al., 2015). Bovendien werd een hoge prevalentie van de parasiet in Wallonië bevestigd (Lempereur et al., 2016). Bijgevolg verzamelt men momenteel empirische data in Vlaanderen.

2.3. Risicofactoren

Het voorkomen van de parasiet wordt beïnvloed door een combinatie van omgevingsfactoren en factoren gerelateerd aan de tussen- en eindgastheren. Daarnaast wordt de opkomende nematode regelmatig gediagnosticeerd door betere diagnostische middelen en een beter bewustzijn bij de dierenartsen en eigenaren. Achtereenvolgens worden de eindgastheren, tussengastheren, klimaat en diagnostiek besproken.

2.3.1. De eindgastheren

2.3.1.1. De hond

De hond is één van de belangrijkste eindgastheren waarbij een hogere kans op infectie optreedt bij aanwezigheid van een aantal risicofactoren. Eerst en vooral zijn niet-gecontroleerde huisdiertransporten en het meereizen met de eigenaar mogelijke oorzaken. Op deze manier kunnen niet-klinisch geïnfecteerde honden in nog vrije landen binnengebracht worden (Moeremans et al., 2011; Sarre et al., 2015).

Er is aangetoond dat honden, jonger dan 18 maanden, relatief meer kans maken op een infectie met *A. vasorum* (Chapman et al., 2004; Barutzki en Schaper, 2009; Morgan et al., 2010). Twee mogelijke hypothesen geven daarvoor een mogelijke verklaring. Enerzijds kan een verhoogd risico bij jongere honden het gevolg zijn van gedragsfactoren, namelijk een grotere neiging tot aaseten en een grotere nieuwsgierigheid naar de omgeving toe. Anderzijds kan de verworven immuniteit een rol spelen. De verworven immuniteit kan het risico op infectie en/of ziekte bij oudere honden in enzoïtische gebieden verlagen. Het voorkomen van herhaalde infecties en de langdurige vestiging van de volwassen parasiet bij honden die experimenteel opnieuw geïnfecteerd zijn, suggereren echter onvoldoende bescherming tegen een toekomstige infectie (Morgan et al., 2010; Oliveira-junior et al., 2006).

De functie die de hond vervult (jachthond versus huisdier) kan ook een factor zijn (Shukullari et al., 2015). De hogere prevalentie bij jachthond-rassen betekent niet dat deze rassen gevoeliger zijn voor de infectie (Conboy, 2004). Het nauwere contact met de tussengastheren en de aanwezigheid van vossen die door slakken geïnfecteerd kunnen raken, zijn mogelijke verklaringen. Een hond die steeds

buiten leeft zal ook sneller in contact komen met de parasiet dan een hond die binnenhuis leeft (Shukullari et al., 2015).

Omdat in steden relatief minder vegetatie voorkomt, is de kans op infectie bij een stadshond kleiner. Vegetatie is een belangrijke onrechtstreekse factor omdat vossen en slakken dit als hun habitat beschouwen. Bij honden die dicht bij bossen of aan de rand van de stad wonen, is de kans op een mogelijke infectie relatief hoger (Shukullari et al., 2015).

Het samenwonen van verschillende dieren kan ook een belangrijke rol spelen. Andere dieren kunnen zich voordoen als een carriër, waardoor een risico op transmissie ontstaat (Shukullari et al., 2015). Tenslotte toonden Morgan et al. (2010) aan dat wanneer de hond minder dan twaalf weken geleden met milbemycine oxime ontwormd werd, de kans op angiostrongylosis aanzienlijk verlaagd wordt. In deze studie werden ook andere anthelminthica gebruikt, bijvoorbeeld fenbendazole, moxidectine en selamectine. Deze anthelminthica gaven echter geen daling in de kans op een infectie.

2.3.1.2. De vos

Omdat de vos nooit met anthelminthica behandeld wordt, de infectie nauwelijks een impact op de gezondheid van vossen heeft en vossen wijdverspreid voorkomen, wordt de vos als het belangrijkste natuurlijke reservoir van angiostrongylosis gezien (Gillis-Germitsch et al., 2017).

De toenemende vossenpopulatie, ontstaan door onder andere het succes van het rabiësvaccin, kan de verspreiding van *A. vasorum* in de hand werken (Hodzic et al., 2014; Cabrilo et al., 2018). Bovendien komen vossen door de toenemende urbanisatie steeds meer in contact met honden (Moeremans et al., 2011; Sarre et al., 2015; Cabanova et al., 2018; Blanch-Lazaro et al., 2018; Miljevic et al., 2019) en worden geïnfecteerde vossen frequent in de nabijheid van foci met angiostrongylosis bij honden teruggevonden (Morgan et al., 2008).

In tegenstelling tot honden vertonen vossen bij infectie zelden klinische tekens. In het verleden werden bij autopsies anatomische veranderingen, zoals rechterhart hypertrofie en granulomateuze pneumonie waargenomen. Deze pathologische veranderingen zouden uiteindelijk zorgen voor respiratoire problemen en sterfte (Morgan et al., 2008). In tegenstelling tot andere studies toonden Morgan et al. (2008) in een studie uit het Verenigd Koninkrijk en Newfoundland aan dat er geen verschil in lichaamsconditiescore was bij een geïnfecteerde versus niet-geïnfecteerde vos. Verder konden Webster et al. (2017) en Woolsey et al. (2017) constateren dat experimenteel geïnfecteerde vossen na 10-20 weken van de infectie nog steeds geen symptomen vertoonden, waardoor geïnfecteerde vossen langer de infectie in de omgeving kunnen verspreiden (Gillis-Germitsch et al., 2017).

Deze bevindingen zouden verband kunnen houden met verschillen in aangeboren of adaptieve immuunreacties tussen vossen en gedomesticeerde honden tegen dezelfde parasieten. Vossen ontwikkelen continu een variabele en niet-beschermende immuniteit tegen *A. vasorum*, wat de tolerantie van parasieten en de overleving ervan op lange termijn bij deze wilde hondachtigen kan verklaren (Gillis-Germitsch et al., 2017).

Verscheidende studies hebben bovendien aangetoond dat de prevalentie van de parasiet bij de vos hoger ligt dan bij de hond (Koch en Willemsen, 2009). Helm et al. (2010) beweerden zelfs dat een prevalentie- en distributieonderzoek bij de vos een objectiever beeld geeft van deze infectie dan de prevalentie of incidentie bij de hond. Ondanks het feit dat vossen essentieel zijn voor het induceren van de foci en het lokaal verspreiden van de ziekte, zijn het voornamelijk de honden die voor een verdere geografische spreiding van de infectie zorgen (zie eerder) (Helm et al., 2010).

Er is momenteel nog geen zekerheid of de leeftijd en het geslacht een rol spelen in de prevalentie van de ziekte bij de vos. Magi et al. (2015) en Schug et al. (2018) vonden geen significante correlatie tussen prevalentie en leeftijd. Hetzelfde kon geconstateerd worden voor het geslacht (Magi et al., 2015). In andere studies werd echter het tegengestelde teruggevonden (Al-sabi et al., 2014; Deak et al., 2017). Saeed et al. (2006) constateerden meer geïnfecteerde jonge en mannelijke vossen. Meer onderzoek moet daarbij duidelijkheid geven.

2.3.2. De slak

Naast een brede waaier aan eindgastheren, waarbij de vos en hond eerder besproken werden, is de rol van de tussengastheer, de slak, even belangrijk. Zoals eerder beschreven komen naast tussengastheren ook paratenische gastheren voor.

Er zijn reeds 25 species, zowel naakt- als huislakken, beschreven die onder experimentele en natuurlijke omstandigheden geïnfecteerd kunnen worden (Ferdushy et al., 2009; Patel et al., 2014; Aziz et al., 2016). De afwezigheid van specificiteit voor tussengastheren wordt ook voor andere *Angiostrongylus* species beschreven, zoals *A. cantonensis* en *A. costaricensis* (Ferdushy et al., 2009).

Bourne et al. (2020) constateerden dat naaktslakken waarschijnlijk een belangrijkere rol spelen dan huislakken. Bovendien zijn niet alle species even effectief als tussengastheer. Aziz et al. (2016) onderzochten de samenstelling en de populatiedichtheid van naaktslakken en de bijhorende frequentie van *A. vasorum* in twee steden, Swansea en Bristol. In deze studie kon een verschil in zowel de samenstelling van de slakken-species als de prevalentie van *A. vasorum* geconstateerd worden.

In Swansea, Zuid-Wales, werd een prevalentie van 29,4% voor *A. vasorum* geconstateerd. De slak-species *Arion rufus* domineerde de plaats (38% van de totale slakpopulatie). *A. rufus* is een dominante naaktslak die tot één van de 100 meest invasieve slakkensoorten behoort. De slak wordt erkend als een efficiënte tussengastheer en als een potentiële bron van infectie voor de nematode (Ferdushy et al., 2009). In Bristol, zuidwest Engeland, testten 0,3% van de slakken positief op de nematode. Opvallend was de afwezigheid van de hoge prevalentie van *A. rufus*. De dominerende positieve slakkensoorten waren *Limax maculatus* en *Arion flagellus*, die als alternatieve tussengastheren kunnen fungeren wanneer *A. rufus* niet aanwezig is (Aziz et al., 2016).

Het verschil in voorkomen van de verschillende species in de twee steden kan te verklaren zijn door een accidentele introductie in de omgeving. Waarschijnlijk liggen ecologische factoren zoals het klimaat, de bodemsamenstelling, predatie... aan de basis (Ferdushy et al., 2009; Hicklenton en Betson, 2019).

Vele naaktslakken voeden zich met uitwerpselen van zoogdieren. In tegenstelling tot de meeste slakken, die meerdere jaren leven, leven naaktslakken slechts één jaar. Grote slaksoorten, zoals de Arionidae, komen uit in februari, broeden van augustus tot september en sterven uiteindelijk in het voorjaar (Bourne et al., 2020). Ondanks hun effectieve verdedigingsmechanismen (taaie huid, zich stevig aan een oppervlak kunnen vasthechten, veel slijm afgeven bij verstoring, onaangename smaak en sissende geluiden) worden ze omwille van hun grootte sneller opgemerkt. Bijgevolg worden zij sneller door de eindgastheren opgegeten (Hicklenton en Betson, 2019; Bourne et al., 2020). Hoewel grote slaksoorten sneller opgemerkt worden, zijn kleine slaksoorten daarentegen vaker vatbaarder voor onbedoelde consumptie bij eindgastheren (Schnyder, 2015).

Zowel Ferdushy et al. (2009) als Lange et al. (2018) constateerden een hogere larvenconcentratie in de slak naarmate het gewicht toeneemt. Toch bevat het merendeel van de geïnfecteerde slakken een lage larvenconcentratie (79-82% met minder dan 10 larven in een slak). Dit zou het grote aantal subklinische infecties bij de eindgastheren kunnen verklaren en zou door een aangeboren gastropode immuunsysteem veroorzaakt worden. Er zou een efficiënte vorming van ongewervelde extracellulaire fagocytvallen (*invertebrate extracellular phagocyte traps*) optreden als reactie op de Metastrongylidae. Verdere gedetailleerde analyses zijn echter nog noodzakelijk. Informatie over de verminderde gezondheid van slakken na een infectie met de nematode is schaars. Toch werd bij experimentele infecties een gewichtsverlies waargenomen, wat niet bij niet-geïnfecteerde controleslakken voorkwam (Mozzer et al., 2015; Lange et al., 2018).

Verscheidende studies onderzochten de ideale omgevingsomstandigheden voor de slak (Ferdushy et al., 2009; Aziz et al., 2016; Hicklenton en Betson, 2019). Drie soorten omgevingen werden bestudeerd: het landelijke gebied, de bebossing aan de rand van de stad en het stedelijke gebied. De grootste prevalentie werd bij een stadsgrensgebied beschreven, gekenmerkt door vegetatie en bebossing waar zowel vossen als honden wandelen. Dit is een ideale plaats waar slakken in contact komen met uitwerpselen van zowel de hond als de vos.

Niet alleen de fauna en flora maar ook de hoogte is belangrijk. Er is aangetoond dat de natuurlijke habitat voor verschillende slakspecies, zoals *Arion spp*, *Limax maximus*, *Tononia sowerbyi* en *Helix aspersa* zich tussen 200-1100 meter boven de zeespiegel bevindt. Ze kunnen echter ook hoger teruggevonden worden (Lurati et al., 2015).

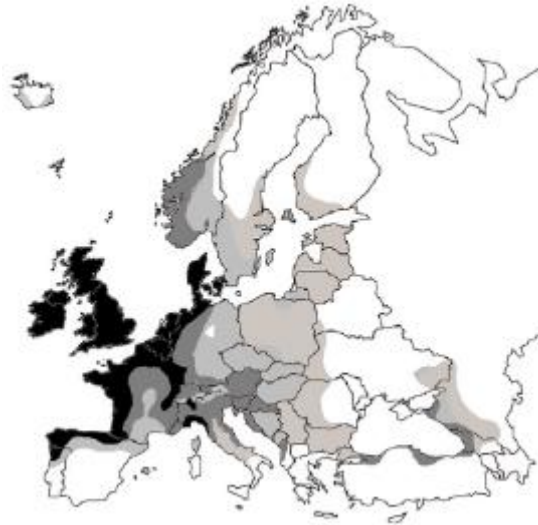
2.3.3. Het klimaat

De distributie van de parasiet is ook sterk afhankelijk van het klimaat. Wegens de klimaatopwarming heeft hij meer vrijheid om zich te verspreiden. Veranderingen in het klimaat en de omgevingscondities hebben ook mogelijks een invloed op de populatie van de tussengastheer ((naakt)slakken) en de paratenische gastheren (Blanch-lazaro et al., 2018; Ferdushy en Hasan, 2010; Bolt et al., 1994;).

Morgan et al. (2009) probeerden het toenmalige voorkomen van de parasiet in kaart te brengen en maakten een voorspelling van de prevalentie van de parasiet op basis van het klimaat (zie fig. 8 en 9).



Figuur 8: Gerapporteerde aanwezigheid van A. vasorum in 2009. (Zwart = hotspots; donkergrijs= enzoötisch (hoge prevalentie bij vossen of klinische gevallen bij honden); lichtgrijs= lage prevalentie bij de vos of sporadisch bij de hond; wit = niet gerapporteerd). (Naar: Morgan et al., 2009)



Figuur 9: Gebieden waarbij het voorkomen van A. vasorum voorspeld wordt. (Zwart = heel geschikt; grijs= matig geschikt; wit= niet geschikt). (Naar: Morgan et al., 2009)

Hiervoor analyseerden zij de ecologische factoren van de regio's. Bij deze benadering werden regio's geselecteerd die voldeden aan bepaalde criteria, zoals bewijs van verschillende prevalenties bij wilde eindgastheren in verschillende deelgebieden in de regio, een reeds lang beschreven voorkomen van de parasiet in de regio en de afwezigheid van duidelijke barrières die het verschil in prevalentie kunnen verklaren. Ten slotte werd een simulatie gemaakt waarbij het huidige klimaat met 2°C zou stijgen. Deze simulatie voorspelde een verdere verspreiding in Europa (Fig. 9).

Experimentele studies tonen aan dat de overlevingskans van *A. vasorum* het grootst is in een gematigd en nat klimaat. De larven overleven tussen een temperatuur met als onder- en bovengrens respectievelijk -4°C en 18-25°C (Morgan et al., 2009; Blanch-Lazaro et al., 2018). Bovendien kiezen slakken vochtige en gematigde omstandigheden (Willis et al., 2006), wat samen resulteert tot een snelle vermenigvuldiging van de slakken en de parasiet. Dit zou het stijgende aantal geïnfecteerde honden deels kunnen verklaren (Morgan et al., 2009; Blanch-Lazaro et al., 2018). Ondanks de voorspellingen van het epidemiologisch model van Morgan et al. (2009) zijn reeds enzoötische foci in Denemarken en Canada beschreven waar de wintertemperatuur lager dan de ondergrens is (Helm et al., 2010).

De noodzakelijke vochtigheid en temperatuur beïnvloeden de verspreiding van de parasiet. Lange et al. (2018) constateerden een variatie van prevalentie in naaktslakken tussen de verschillende seizoenen. Zowel in Hessen als Rijnland-Palts (Duitsland) werden op twee sites slakken verzameld. Deze sites bevonden zich ter hoogte van stadsgrensgebieden, waar in het verleden reeds met *A. vasorum* geïnfecteerde vossen werden aangetoond. Opvallend was de hoogste prevalentie in de zomer, met 9,1% positieve naaktslakken, en in de herfst, met 4,7% positieve naaktslakken. Hogere omgevingstemperaturen verhogen waarschijnlijk de ontwikkelingssnelheid, levensvatbaarheid en vitaliteit van de slak (Ferdushy 2018). Dit werd voor *Arion lusitanicus* aangetoond, waarbij er hogere infectiegraden bij hogere temperaturen teruggevonden werden, terwijl bij lagere temperaturen een lagere percentage slakken geïnfecteerd was (Ferdushy en Hasan, 2010).

Deze waarnemingen komen overeen met andere auteurs die beweren dat het hoogste infectierisico voor honden in de late zomer en vroege herfst kan zijn, dit omdat door de prepatente periode het optreden van klinische symptomen bij geïnfecteerde honden het vaakst optreedt in de winter (Barutzki en Schaper, 2009; Taubert et al., 2009; Maksimov et al., 2017). Bovendien wordt tijdens de herfst in Europa het grootste aantal naaktslakken verwacht (Morgan en Shaw, 2010). Toch suggereren de gegevens dat de hond op elk tijdstip kan geïnfecteerd geraken (winter 0,8% en lente 1,1% slakken positief) (Lange et al., 2018).

2.4. Prevalentie binnen Europa

2.4.1. Onderzoeksmethode

In deze literatuurstudie werd gebruik gemaakt van verschillende databanken zoals Pubmed, Google Scholar en de online bibliotheek van de Universiteit Gent. In de epidemiologie wordt het voorkomen, de prevalentie en de geografische spreiding van *A. vasorum* beschreven. De incidentie- en prevalentiewaarden van de verschillende (tussen)gasteren werden verzameld en in verschillende tabellen geplaatst. In totaal werden voor de prevalentiewaarden van de hond, vos en slak respectievelijk 31, 25 en 8 relevante artikels gebruikt.

2.4.1.1. Hond

Afhankelijk van de verschillende studies werd rekening gehouden met verschillende variabelen. Zo werden bijvoorbeeld door Canonne et al. (2015) enkel honden met representatieve klachten onderzocht, terwijl andere studies honden met en zonder klachten bestudeerden. Verder werd afhankelijk van het onderzoek rekening gehouden met een eventuele buitenlandse anamnese en een voorafgaand gebruik van anthelminthica. Er werd bovendien niet altijd stoelgang van 3 verschillende dagen verzameld.

Als methode werd gebruik gemaakt van een stoelgangonderzoek zoals de Baermann methode, Teleman sedimentatie test en de sedimentatie-flotatie test. Omwille van de intermitterende larvale uitscheiding werd idealiter stoelgang van drie opeenvolgende dagen verzameld. Wegens de nood aan betere technieken ontstonden er echter ook nieuwere technieken zoals een antigeen- en antistof-ELISA.

De interpretatie van de twee verschillende ELISA-tests is verschillend. Wanneer een dier enkel antistof-positief is, kan dit wijzen op een heel vroege detectie (in de prepatente periode), is het mogelijk dat het dier een infectie heeft meegemaakt of bijvoorbeeld reeds behandeld is geweest (Schnyder et al. 2011; Schucan et al. 2012). Antigeen-positief wijst op een actuele besmetting (Guardone et al., 2013). Dit verklaart de vaak hogere positieve percentages voor antistoffen dan antigenen. Bij honden die positief testen voor beide ELISA's kan geconcludeerd worden dat ze een actieve infectie doormaken waarbij hun immuniteit reageert door antistoffen te vormen.

De ELISA-testen hebben elk hun sensitiviteit en specificiteit. Daarnaast hangen de positieve en negatieve voorspellende waarde (PPV en NPV) af van de populatieprevalentie. Op welke manier de testen worden gebruikt is bijgevolg belangrijk. Terwijl sensitiviteit de terechte positieve gevallen weergeeft, brengt de specificiteit de terechte negatieve gevallen in beeld. Er wordt het liefst met een hoge sensitiviteit gewerkt wanneer de ziekte vroeg opgespoord moet worden, zieke dieren niet als

negatief mogen worden beoordeeld en wanneer de prevalentie van de parasiet laag is (Trevethan, 2017).

Bij massadiagnostiek wordt vaak meervoudig getest. De twee testen kunnen enerzijds parallel uitgevoerd worden. Hierbij worden ze gelijktijdig uitgevoerd. Doordat een dier positief test als één van de twee testen positief is, krijgen we een hogere sensitiviteit en een lagere specificiteit. Bijgevolg wordt in gebieden met verwachte lage percentages bij voorkeur gelijktijdig met beide testen gewerkt. Om de positief voorspellende waarde te verhogen, moeten beide testen positief zijn vooraleer een hond als besmet wordt gezien. Hierdoor is de kans op vals negatieven verlaagd (Stevenson, 2008).

Anderzijds kan gebruik gemaakt worden van serieel testen, een vorm van testen die wordt gebruikt in gebieden met hoge prevalentiepercentages. Hierbij worden de 2 testen (eerst antigeen-ELISA, daarna antistof-ELISA) na elkaar uitgevoerd, waarbij enkel de positieve dieren voor een tweede maal worden gecontroleerd. Dit zorgt voor een verhoogde specificiteit en een verlaagde sensitiviteit. De specificiteit wordt het liefst zo hoog mogelijk gehouden omdat het minder erg is om een vals positieve hond te behandelen dan een vals negatieve hond niet te behandelen (Stevenson, 2008).

In deze literatuurstudie werden de resultaten van alle epidemiologische studies in Europa van de voorbije 20 jaar samengevoegd. Om de evolutie zo goed mogelijk in kaart te brengen, werd de tijd in 4 gelijke periodes verdeeld: periode 1 (2001-2005), periode 2 (2006-2010), periode 3 (2011-2015) en periode 4 (2016-2020). Wegens het gebrek aan gegevens in periode 1, werd deze periode uit de tabel verwijderd. Zowel de tabellen als de bijbehorende kaarten zijn in Microsoft Excel voor Microsoft 365 MSO (16.0.13127.21210) 32-bits gemaakt. De overzichtstabel (tabel 2) geeft steeds het land, het gebied, het gebruikte aantal stalen met de aantal positieve stalen tussen haakjes, de gebruikte methode en de bron weer.

Om een zo'n volledig mogelijke kaart te maken werden de resultaten uit de verschillende periodes samengevoegd. Wanneer meerdere prevalentiewaarden beschikbaar zijn, werd het aantal positieve gevallen opgeteld en gedeeld door het totaal aantal onderzochte dieren. Het gemiddelde van de apart bekomen percentages kon immers een te grote afwijking op het prevalentiepercentage tot resultaat geven. Figuur 11 geeft enkel het bekomen percentage in het hele land weer. Idealiter worden echter de hotspots in Europa weergegeven. In de mate van het mogelijke werd dit in figuur 12 weergegeven. Deze kaart bevat minder resultaten omdat de literatuurstudie niet altijd de precieze lokalisaties en het aantal genomen stalen vermeldt. De gebruikte waarden voor figuur 12 worden in tabel 4 weergegeven.

2.4.1.2. Vos

De gebruikte vossen in de studie waren meestal afkomstig van het screeningsprogramma van de overheid voor de EU-verordening 1152/2011. De vossen werden door de overheid doodgeschoten en gecontroleerd op *Echinococcus multilocularis* of rabiës (Härtwig et al., 2015; McCarthy et al., 2016). Daarnaast konden ook dode gevonden vossen gebruikt worden (bijvoorbeeld door een auto-ongeluk) (Härtwig et al., 2015; Santoro et al., 2015). De leeftijd werd op basis van de tandformule en -formatie geschat, de vos werd gewogen en het geslacht werd opgeschreven (Franssen et al., 2014). In het kader van het screeningsprogramma werden de vossen meestal voor minimum één week bij -80°C ingevroren. In sommige gevallen is dit slechts enkele dagen of wordt de vos gedurende twee weken bij -20°C ingevroren. Dit zorgt voor inactivatie van de *E. multilocularis* eieren (Magi et al., 2010).

De meeste studies maakte gebruik van autopsie. Bij de ontdooide karkassen werden de longen en het hart verwijderd. Tijdens een longitudinale incisie werd in zowel het linker- als het rechteratrium en ventrikel gezocht naar macroscopische zichtbare wormen. Verder werden de pulmonale arteriën volgens de lengte-as ingesneden tot op het niveau van de kleine bronchen in de longen. De trachea, de bronchen en de grote bronchiolen werden vervolgens geopend en de longlobben werden ingesneden (Franssen et al., 2014; Härtwig et al., 2015; Schug et al., 2018).

Zowel het hart als de longen werden met water gewassen, dat daarna werd opgevangen en gezeefd door een zeef met 150 µm mazengrootte (wassen en zeven). Het opgevangen residu werd op een

petrischaal geplaatst en werd microscopisch morfologisch onderzocht (Magi et al., 2010; Franssen et al., 2014; Garrido-Castañé et al., 2015; McCarthy et al., 2016; Conradi 2017; Schug et al., 2018).

In sommige gevallen werden de longen in kleine stukken gesneden. Vervolgens werden ze met vloeibaar stikstof ingevroren. Nadat het weefsel gehomogeniseerd was, kon een PCR op het overgebleven residu uitgevoerd worden (Hartwig et al., 2015).

Tijdens de dissectie kon bovendien de feces onderzocht worden (Franssen et al., 2014). Een fecesstaal kon verzameld worden uit het distale deel van het colon en het rectum. Via sedimentatie-flotatie of PCR kon respectievelijk op zoek gegaan worden naar *A. vasorum*-eieren of -DNA. Eventueel kon de einddarmmucosa afgeschraapt worden, waar een PCR op uitgevoerd werd (Franssen et al., 2014). Naast autopsie met of zonder wassen en zeven kan men ook PCR, de Baermann methode en sedimentatie-flotatie toepassen.

Voor de tabellen en kaarten werd gebruik gemaakt van Microsoft Excel voor Microsoft 356 MSO (16.0.13127.21210) 32-bits. In de overzichtstabel (tabel 5) werden de resultaten van alle relevante epidemiologische artikels samengevoegd. Om een overzicht van de evolutie in prevalentie weer te geven, werd gewerkt met 4 periodes: periode 1 (2001-2005), periode 2 (2006-2010), periode 3 (2011-2015) en periode 4 (2016-2020). In tegenstelling tot bij de hond werden tijdens de eerste periode wel relevante data teruggevonden. Ook hier werden naast het land, het gebied en de prevalentie ook het aantal genomen stalen met het aantal geïnfecteerde dieren tussen haakjes, de methode en de bron vermeld. Figuur 12 werd met dezelfde methode als bij de hond gevormd: er werd een som gemaakt van alle positieve vossen in een land en gedeeld door de som van het totale aantal gebruikte vossen in dat land (zie tabel 6). Niet elk Europees land bevatte relevante data, waardoor bepaalde landen niet gekleurd zijn. Om de hotspots (fig. 13) in beeld te brengen werden enkel de specifieke regio's gebruikt. De gebruikte regio's worden teruggevonden in tabel 7.

2.4.1.3. Slak

Het verzamelen van slakken gebeurde tijdens schemerlicht met de hand. Meestal werden de tussengastheren in aparte plastic zakjes gestopt en werden ze op basis van de morfologische eigenschappen geïdentificeerd. Verder werd het gewicht van de slak opgeschreven.

Het verzamelen van de slakspecies kon variëren afhankelijk van de studie. In sommige studies zoals Lange et al. (2018) werden, omwille van de bewezen hogere affiniteit, alleen naaktslakken verzameld, terwijl in andere onderzoeken alle soorten slakken werden gebruikt. Daarnaast was de lokalisatie van de staalname belangrijk. Zo werden slakken meestal verzameld aan de stadsrand (waar vegetatie aanwezig is) of buiten de stad. In sommige gevallen, zoals bij Ferdushy (2009) en Patel et al. (2014), werden gebieden gekozen waar de aanwezigheid van vossen is aangetoond.

Afhankelijk van de studie konden verschillende methodes aangewend worden. Enerzijds werd gebruik gemaakt van digestie (Lange et al., 2018; Ferdushy 2009; Patel et al. 2014; Penagos-Tabares et al. 2020). Na digestie van de slak werden de aanwezige larven stereomicroscopisch aangetoond. Deze methode werd met kleine aanpassingen ook in andere studies gebruikt (Patel et al., 2014).

Volgens Patel et al. (2014) werden de slakken na het wegen gedecapiteerd en via een sagitaal vlak in twee helften gesneden. De ene helft werd bewaard bij -20°C waarbij de andere helft gebruikt werd voor digestie (Ferdushy et al., 2009). Het weefsel werd klein gesneden (1-2 mm) en gedurende 35 minuten in een digestievloeistof (12 ml HCl en 30 ml pepsine (1:30 000 IU) in 1 liter water van 42°C) geplaatst met een magnetische roerder. Na het zeven door een mazengrootte van 180 µm, zakte het sediment gedurende 75 minuten naar de bodem, waarna het tweemaal met water gewassen werd tot er een heldere suspensie verkregen werd. Na fixatie van de larven met lugol, werden die onder een stereomicroscop geïdentificeerd (Ferdushy et al., 2009).

Anderzijds werd gebruik gemaakt van DNA-extractie, gevolgd door een SYBR-green real time polymerase chain reaction (PCR) (zie eerder) (Hicklenton en Betson 2019; Aziz et al. 2016; Patel et al.

2014; Penagos-Tabares et al. 2020; Helm et al 2015). Zoals voorheen beschreven werd Microsoft Excel voor Microsoft 356 MSO (16.0.13127.21210) 32-bits aangewend voor de tabel.

2.4.2. Resultaten

2.4.2.1. Hond

In tabel 2 wordt een overzicht van de beschreven prevalentiepercentages weergegeven. Afhankelijk van het land en de tijdsperiode schommelden de percentages tussen 0,3% en 10,7%. Voor de landen IJsland, Finland, Noorwegen, Oostenrijk, Kroatië, Slovenië en Bosnië-Herzegovina waren geen prevalentiestudies voorhanden, waardoor ze niet teruggevonden kunnen worden in tabel 2, figuur 10 en figuur 11.

Hoewel er geen studie werd uitgevoerd, is de aanwezigheid van de parasiet in deze landen wel aangetoond. Zo werden in Finland door Tiskina et al. (2019) gedurende 1 maand een vragenlijst specifiek voor dierenartsen online geplaatst. Hierbij vulden 38 dierenartsen de vragenlijst in, waarvan 9 dierenartsen de aanwezigheid van één of meerdere geïnfecteerde honden rapporteerden. In totaal zouden 13 positieve gevallen geconstateerd zijn. Met deze beperkte studie kan de enzoötische aanwezigheid echter niet worden bevestigd. Hiervoor zijn verschillende redenen, zoals het beperkt aantal meewerkende dierenartsen, de mogelijkheid tot het niet of verkeerd stellen van een diagnose, de korte tijdspanne van het openstaan van de enquête, de beperkte verspreiding in de media van de enquête en de mogelijkheid dat het om hetzelfde dier gaat bij de verschillende dierenartsen. Coprologisch onderzoek in februari 2014 en 2017 bevestigde evenwel twee met *A. vasorum* geïnfecteerde honden in Finland (Tiskina et al., 2019). In Noorwegen en Slovenië werden tot nu toe geen positieve dieren gerapporteerd (Lagaanes, 2016; Schnyder et al., 2013b). Slovenië kan niettemin wel een potentieel gebied voor mogelijke infectie zijn wegens het goede klimaat voor de tussengastheren en de parasiet (Schnyder et al., 2017).

In IJsland is het vanaf 1989 toegestaan honden en katten te importeren mits een quarantaine, klinisch onderzoek en eventuele voorafgaande behandeling. Van 1989 tot 2017 werden in totaal 4722 honden geïmporteerd. In december 2017 werd een geïnfecteerde hond, afkomstig uit Zwitserland, voor het eerst bevestigd. Hierbij werd gebruik gemaakt van de formaline-ethyl acetaat sedimentatie techniek en de Baermann methode (Skirnisson et al., 2018). In Bosnië en Herzegovina werden door Stevanovic et al. (2020) een eerste autochtone infectie bevestigd bij een symptomatische hond uit Banja Luka.

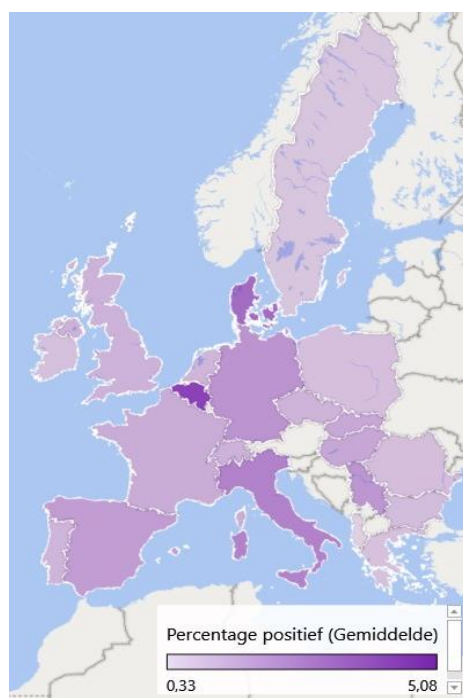
Het visueel in beeld brengen van de prevalentie werd op twee verschillende manieren uitgevoerd. Waar figuur 10 het hele land kleurt, werden in figuur 11 in de mate van het mogelijke de eventuele hotspots in beeld gebracht. Tabel 4 geeft de gebruikte waarden weer. Door een combinatie van verschillende periodes, wordt Europa bijna volledig ingekleurd.

Tabel 2: Overzichtstabel van de prevalentie van A. vasorum bij de hond met respectievelijk het land, het gebied (soms verder gespecificeerd), het prevalentiepercentage in de verschillende periodes, het aantal genomen stalen (aantal positief geteste stalen), de gebruikte methode en de bron.

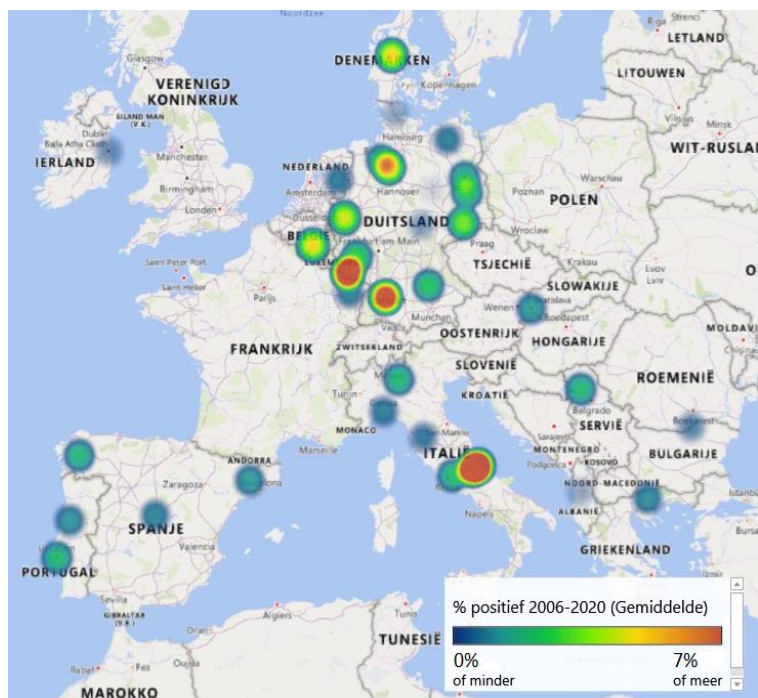
Land	Gebied	% positief 2006-2010	% positief 2011-2015	% positief 2016-2020	Aantal stalen	Methode	Bron
Albanië	Tirana		0,30%		602 (2)	Baermann	Shukllari et al. (2015)
België	Zuidoost		10,70%		65 (7)	Baermann + PCR bronchoscopie	Canonne et al. (2015)
	Wallonië		4,70%		979 (46)	Baermann + Angiodetect (AG)	Lempereur et al. (2016)
Bulgarije	Roese, Razgrad, Sofia, Stara Zagora en Plovdiv		0,60%		172 (1)	Angiodetect (AG)	Ilieu et al. (2020)
Denemarken	Algemeen	3,60%			4151 (149)	Baermann	Taubert et al. (2009)
	Algemeen	2,20%			181 (4)	Baermann	Al-sabi et al. (2013)
	Noord-Seeland	3,80%			84 (3)	Baermann	Al-sabi et al. (2013)
	Centraal-Jutland	4,80%			21 (1)	Baermann	Al-sabi et al. (2013)
Duitsland	Algemeen	7,40%			810 (60)	Sedimentatie-flotatie + Baermann	Barutzki en Schaper (2009)
	Baden-Württemberg	14,50%			227 (33)	Sedimentatie-flotatie + Baermann	Barutzki en Schaper (2009)
	Beieren	3%			99 (3)	Sedimentatie-flotatie + Baermann	Barutzki en Schaper (2009)
	Berlijn	0%			9 (0)	Sedimentatie-flotatie + Baermann	Barutzki en Schaper (2009)
	Brandenburg	10,50%			19 (2)	Sedimentatie-flotatie + Baermann	Barutzki en Schaper (2009)
	Bremen	0%			2 (0)	Sedimentatie-flotatie + Baermann	Barutzki en Schaper (2009)
	Hamburg	0%			1 (0)	Sedimentatie-flotatie + Baermann	Barutzki en Schaper (2009)
	Hessen	0%			52 (0)	Sedimentatie-flotatie + Baermann	Barutzki en Schaper (2009)
	Mecklenburg-Voor-Pommeren	0%			11 (0)	Sedimentatie-flotatie + Baermann	Barutzki en Schaper (2009)
	Laag Saksen	0%			38 (0)	Sedimentatie-flotatie + Baermann	Barutzki en Schaper (2009)
					197 (13)	Sedimentatie-flotatie + Baermann	Barutzki en Schaper (2009)
					85 (1)	Sedimentatie-flotatie + Baermann	Barutzki en Schaper (2009)
					40 (7)	Sedimentatie-flotatie + Baermann	Barutzki en Schaper (2009)
					15 (1)	Sedimentatie-flotatie + Baermann	Barutzki en Schaper (2009)
					2 (0)	Sedimentatie-flotatie + Baermann	Barutzki en Schaper (2009)
	Sleeswijk-Holstein	0%			9 (0)	Sedimentatie-flotatie + Baermann	Barutzki en Schaper (2009)
	Thuringen	0%			4 (0)	Sedimentatie-flotatie + Baermann	Barutzki en Schaper (2009)
	Algemeen			2,30%	12628 (288)	Baermann	Maksimov et al. (2017)
	Baden-Württemberg			6,70%	3387 (121)	Baermann	Maksimov et al. (2017)
	Beieren			2,30%	2512 (35)	Baermann	Maksimov et al. (2017)
	Berlijn			3,60%	389 (14)	Baermann	Maksimov et al. (2017)
	Brandenburg			2,20%	273 (6)	Baermann	Maksimov et al. (2017)
	Bremen			3,60%	28 (1)	Baermann	Maksimov et al. (2017)
	Hamburg			0%	159 (0)	Baermann	Maksimov et al. (2017)
	Hessen			1,80%	1400 (25)	Baermann	Maksimov et al. (2017)
	Laag Saksen			0,20%	467 (1)	Baermann	Maksimov et al. (2017)
	Mecklenburg-Voor-Pommeren			1,70%	116 (2)	Baermann	Maksimov et al. (2017)
	Noordrijn-Westfalen			2%	2251 (46)	Baermann	Maksimov et al. (2017)
	Rijnland-Palts			3,80%	745 (29)	Baermann	Maksimov et al. (2017)
	Saarland			4,50%	110 (5)	Baermann	Maksimov et al. (2017)
	Saksen			0%	307 (0)	Baermann	Maksimov et al. (2017)
	Saksen-Anhalt			0%	134 (0)	Baermann	Maksimov et al. (2017)
	Sleeswijk-Holstein			0,70%	283 (2)	Baermann	Maksimov et al. (2017)
	Thuringen			0,80%	121 (1)	Baermann	Maksimov et al. (2017)
Frankrijk	West-Duitsland		0,30%		4003 (13)	AG en AS Elisa	Schnyder et al. (2013)
Griekenland	Algemeen			1,14%	2289 (26)	AG en AS Elisa	Schnyder et al. (2013)
	Serres	1,10%			281 (3)	Telemans sedimentatie methode	Papazahariadou et al. (2007)
	Centraal Griekenland, Macedonië, Aegeïsche eilanden, Thracië, Peloponnesos, Ionische eilanden, Kreta, Thessalië, Epirus			0,40%	1000 (4)	AG en AS Elisa	Angelou et al. (2020)
Hongarije	Algemeen		0,20%		1036 (3)	Sedimentatie-flotatie	Symeonidou et al. (2017)
Ierland	Algemeen		1,73%		1247 (17)	AG en AS Elisa	Schnyder et al. (2015)
Italië	Dublin			0,48%	627 (3)	Baermann	Garcia-Campos et al. (2018)
	Algemeen		2,30%		606 (14)	Baermann	Traversa et al. (2013)
	Lombardije		1,98%		101 (2)	Baermann	Traversa et al. (2013)
	Lazio		2%		100 (2)	Baermann	Traversa et al. (2013)
	Abruzzo		9,90%		101 (10)	Baermann	Traversa et al. (2013)
	Toscane		0,80%		265 (2)	AG en AS Elisa	Guardone et al. (2013)
	Ligurië		0,90%		445 (4)	AG en AS Elisa	Guardone et al. (2013)
	Chieti	8,90%			178 (20)	Baermann + autopsie	Tieri et al. (2008)
Nederland	De Haag, Noordwestelijke rand Veluwe	0,80%			485 (4)	Baermann	Van doorn et al. (2009)
Polen	Algemeen		0,51%		3345 (17)	AG en AS Elisa	Schnyder et al. (2013a)
Portugal	Algemeen			0,66%	906 (6)	AG en AS Elisa	Alho et al. (2016)
	Algemeen			1%	100(1)	AG en AS Elisa	Alho et al. (2016)
	Lissabon		2%		50 (1)	Baermann + autopsie longstukje	Nabais et al. (2014)
	Coimbra, Santarem en Setubel		1,17%		341 (4)	AG en AS Elisa	Alho et al. (2014)
Roemenië	Westen		5,21%		115 (6)	Baermann	Ilie et al. (2016)
	Algemeen			0,19%	1545 (3)	AG Elisa enkel	Deak et al. (2019)
Servië	Novi Sad		1,96%		51 (1)	Baermann	Kosic et al. (2016)
Slowakije	Bratislava		1,33%		225 (3)	AG en AS Elisa	Miterpakova et al. (2015)
Spanje	Algemeen			1,73%	2020 (35)	Angiodetect (AG)	Carreton et al. (2020)
	Galicië			1,86%	323 (6)	Angiodetect (AG)	Carreton et al. (2020)
	Asturië, Cantabrië, Baskenland			2,74%	438 (12)	Angiodetect (AG)	Carreton et al. (2020)
	Salamanca, Leon			0,93%	216 (2)	Angiodetect (AG)	Carreton et al. (2020)
	Catalonië, Navarra, Zaragoza, Huesca			1,30%	539 (7)	Angiodetect (AG)	Carreton et al. (2020)
	Valencië, Murcia			1,72%	407 (7)	Angiodetect (AG)	Carreton et al. (2020)
	Madrid, Toledo, Ciudad Real			0,99%	101 (1)	Angiodetect (AG)	Carreton et al. (2020)
Tsjechië	Algemeen	0,40%			253 (1)	Baermann	Hajnalova et al. (2017)
	Algemeen	1,70%			193 (3)	AG en AS Elisa	Hajnalova et al. (2017)
Verenigd Koninkrijk	Zuiden		0,97%		4040 (39)	Schnyder et al. (2013a)	
Zweden	Algemeen		0,70%		2882 (20)	Baermann	Grandi et al. (2015)
	Centraal-Zuid Zweden		0,10%		3885 (4)	AG en AS Elisa	Grandi et al. (2015)
Zwitserland	Algemeen		0,96%		6136 (59)	AG en AS Elisa	Lutari et al. (2015)

Tabel 3: Het voorkomen van *A. vasorum* bij de hond in de verschillende landen in percentage uitgedrukt. Deze percentages worden bekomen door het totale aantal positieve gevallen te delen door het in totale aantal genomen stalen en te vermenigvuldigen met factor 100.

Land	Aantal stalen	Aantal stalen positief	Percentage positief
Albanië	602	2	0,33
België	1044	53	5,08
Bulgarije	172	1	0,58
Denemarken	4332	153	3,53
Duitsland	17441	361	2,07
Frankrijk	2289	26	1,14
Griekenland	2317	10	0,43
Hongarije	1247	17	1,36
Ierland	627	3	0,48
Italië	1494	40	2,68
Nederland	485	4	0,82
Polen	3345	17	0,51
Portugal	1397	12	0,86
Roemenië	1660	9	0,54
Servië	51	1	1,96
Slovakije	225	3	1,33
Spanje	2020	35	1,73
Tsjechië	446	4	0,90
Verenigd Koninkrijk	4040	39	0,97
Zweden	6767	24	0,35
Zwitserland	6139	59	0,96



Figuur 10: Visueel beeld van het percentage honden geïnfecteerd met *A. vasorum* in de verschillende landen.



Figuur 11: Visueel beeld van de hotspots van *A. vasorum* bij de hond in Europa.

Tabel 4: De gebruikte prevalentiewaarden voor figuur 12. Het land, het gebied, het percentage, het aantal gebruikte stalen, het aantal positieve stalen, de methode en bron worden weergegeven.

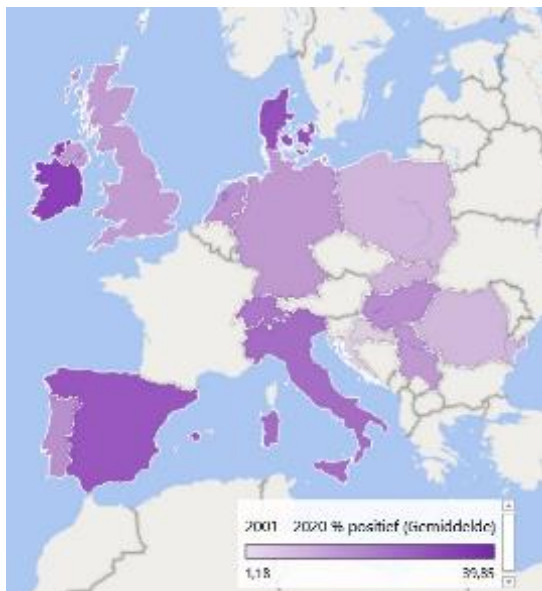
Land	Gebied	% positief 2006-2020	Aantal stalen	Aantal stalen positief	Methode	Bron
Albanië	Tirana	0,33%	602	2	Baermann	Shukullari et al. (2015)
België	Wallonië	4,70%	979	46	Baermann + Angiodetect (AG aantonen)	Lempereur et al. (2016)
België	Zuidoost	10,70%	65	7	Baermann + PCR bronchoscopie	Canonne et al. (2015)
Bulgarije	Roese	0,58%	172	1	angiodetect (AG)	Ilieu et al. (2020)
Denemarken	Centraal Denemarken	4,76%	21	1	Baermann	Al-sabi et al. (2013)
Duitsland	Baden-Württemberg	14,54%	227	33	Sedimentatie-flotatie	Barutzki en Schaper (2009)
Duitsland	Beieren	3,03%	99	3	Sedimentatie-flotatie	Barutzki en Schaper (2009)
Duitsland	Berlijn	0,00%	9	0	Sedimentatie-flotatie	Barutzki en Schaper (2009)
Duitsland	Brandenburg	0,00%	19	0	Sedimentatie-flotatie	Barutzki en Schaper (2009)
Duitsland	Bremen	0,00%	2	0	Sedimentatie-flotatie	Barutzki en Schaper (2009)
Duitsland	Hamburg	0,00%	1	0	Sedimentatie-flotatie	Barutzki en Schaper (2009)
Duitsland	Hessen	0,00%	52	0	Sedimentatie-flotatie	Barutzki en Schaper (2009)
Duitsland	Mecklenburg-Voor-Pommeren	0,00%	11	0	Sedimentatie-flotatie	Barutzki en Schaper (2009)
Duitsland	Magdeburg	0,00%	38	0	Sedimentatie-flotatie	Barutzki en Schaper (2009)
Duitsland	Düsseldorf	6,60%	197	13	Sedimentatie-flotatie	Barutzki en Schaper (2009)
Duitsland	Rijnland-Palts	1,18%	85	1	Sedimentatie-flotatie	Barutzki en Schaper (2009)
Duitsland	Saarland	17,50%	40	7	Sedimentatie-flotatie	Barutzki en Schaper (2009)
Duitsland	Saksen	6,67%	15	1	Sedimentatie-flotatie	Barutzki en Schaper (2009)
Duitsland	Saksen-Anhalt	0,00%	2	0	Sedimentatie-flotatie	Barutzki en Schaper (2009)
Duitsland	Sleeswijk-Holstein	0,00%	9	0	Sedimentatie-flotatie	Barutzki en Schaper (2009)
Duitsland	Erfurt	0,00%	4	0	Sedimentatie-flotatie	Barutzki en Schaper (2009)
Duitsland	Baden-Württemberg	3,57%	3387	121	Baermann	Maksimov et al. (2017)
Duitsland	Beieren	1,39%	2512	35	Baermann	Maksimov et al. (2017)
Duitsland	Berlijn	3,60%	389	14	Baermann	Maksimov et al. (2017)
Duitsland	Brandenburg	2,20%	273	6	Baermann	Maksimov et al. (2017)
Duitsland	Bremen	3,57%	28	1	Baermann	Maksimov et al. (2017)
Duitsland	Hamburg	0,00%	159	0	Baermann	Maksimov et al. (2017)
Duitsland	Hessen	1,79%	1400	25	Baermann	Maksimov et al. (2017)
Duitsland	Maagdenburg	0,21%	467	1	Baermann	Maksimov et al. (2017)
Duitsland	Mecklenburg-Voor-Pommeren	1,72%	116	2	Baermann	Maksimov et al. (2017)
Duitsland	Düsseldorf	2,04%	2251	46	Baermann	Maksimov et al. (2017)
Duitsland	Rijnland-Palts	3,89%	745	29	Baermann	Maksimov et al. (2017)
Duitsland	Saarland	4,55%	110	5	Baermann	Maksimov et al. (2017)
Duitsland	Saksen	0,00%	307	0	Baermann	Maksimov et al. (2017)
Duitsland	Saksen-Anhalt	0,00%	134	0	Baermann	Maksimov et al. (2017)
Duitsland	Sleeswijk-Holstein	0,71%	283	2	Baermann	Maksimov et al. (2017)
Duitsland	Erfurt	0,83%	121	1	Baermann	Maksimov et al. (2017)
Griekenland	Serres	1,07%	281	3	Teleman sedimentatie methode	Papazahariadou et al. (2007)
Ierland	Dublin	0,48%	627	3	Baermann	Garcia-Campos et al. (2018)
Italië	Lombardije	1,98%	101	2	Baermann	Traversa et al. (2013)
Italië	Lazio	2,00%	100	2	Baermann	Traversa et al. (2013)
Italië	Abruzzo	9,90%	101	10	Baermann	Traversa et al. (2013)
Italië	Toscane	0,75%	265	2	AG en AS Elisa	Guardone et al. (2013)
Italië	Ligurië	0,90%	445	4	AG en AS Elisa	Guardone et al. (2013)
Italië	Chieti	11,24%	178	20	Baermann + autopsie	Tieri et al. (2008)
Nederland	Overijssel	0,82%	485	4	Baermann	Van doorn et al. (2009)
Portugal	Lissabon	2,00%	50	1	baermann + autopsie longstukje	Nabais et al. (2014)
Portugal	Coimbra	1,17%	341	4	AG en AS Elisa	Alho et al. (2014)
Roemenië	Dörverden	5,22%	115	6	Baermann	Ilie et al. (2016)
Servië	Novi Sad	1,96%	51	1	Baermann	Kosic et al. (2016)
Slovakije	Bratislava	1,33%	225	3	AG en AS Elisa	Miterpakova et al. (2015)
Spanje	Galicië	1,86%	323	6	angiodetect (AG)	Carreton et al. (2020)
Spanje	Asturië	2,74%	438	12	angiodetect (AG)	Carreton et al. (2020)
Spanje	Salamanca	0,93%	216	2	angiodetect (AG)	Carreton et al. (2020)
Spanje	Catalonië	1,30%	539	7	angiodetect (AG)	Carreton et al. (2020)
Spanje	Valencië	1,72%	407	7	angiodetect (AG)	Carreton et al. (2020)
Spanje	Madrid	0,99%	101	1	angiodetect (AG)	Carreton et al. (2020)

2.4.2.2. Vos

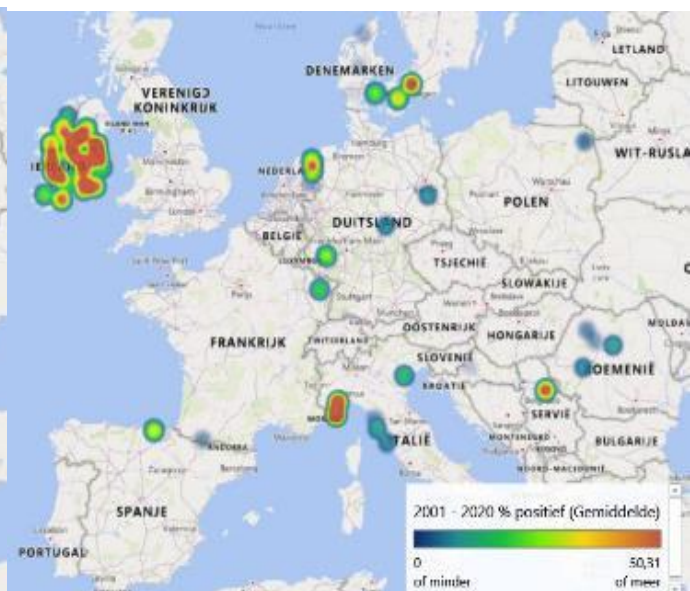
Tabel 5 (overzichtstabel van de vos) geeft een gedetailleerde weergave van de verschillende prevalentiepercentages weer. Van de 25 epidemiologische studies die de afgelopen 20 jaar zijn uitgevoerd, werd bij de overgrote meerderheid een autopsie uitgevoerd. Eenmalig werd de Baermann methode en de antigen-ELISA gebruikt. In 4 studies werd een PCR uitgevoerd. In totaal werden in Europa 8966 vossen bestudeerd, waarbij het voorkomende prevalentiepercentage varieert van 1,7% in Zuid-Jutland (Denemarken) tot 80,1% in Noord-Zwitserland.

Figuur 12 geeft een visueel beeld van de prevalentie binnen Europa weer. Door ontbrekende data worden landen zoals België, Albanië, Frankrijk en Zweden niet gekleurd. In Noorwegen werd wel een epidemiologische studie uitgevoerd, waaruit geen met *A. vasorum* geïnfecteerde vossen geconstateerd konden worden (Davidson et al., 2006). De bekomen percentages in figuur 12 worden in tabel 6 weergegeven.

Figuur 13 geeft de gekende hotspots weer. De gebruikte waarden voor deze figuur worden in tabel 7 voorgesteld. Ierland wordt als een hyperenzootische focus beschouwd. Daarnaast worden zowel in Denemarken als in Italië bepaalde gebieden als belangrijke hotspots gezien.



Figuur 12: Visueel beeld van het percentage vossen geïnfecteerd met *A. vasorum* in de verschillende landen van Europa.



Figuur 13: Visueel beeld van de hotspots van *A. vasorum* bij de vos in Europa.

Tabel 5: Overzichtstabel van het percentage geïnfecteerde vossen met A. vasorum waarbij het land, het gebied, de prevalentiepercentages per periode, het aantal stalen met tussen haakjes het aantal positieve gevallen, de methode en de gebruikte bron.

Land	Gebied	2001-2005 %	2006-2010 %	2011-2015 %	2016-2020 %	Aantal stalen (positief)	Methode	Bron
Denemarken	Noord-Seeland	48,60%				748 (364)	Wassen en zeven	Saeed et al. (2006)
	Kopenhagen		80%			70 (56)	Wassen en zeven	Al-sabi et al. (2014)
	Zuid-Jutland		0%			48 (0)	Wassen en zeven	Al-sabi et al. (2014)
	Algemeen				6,80%	367 (25)	Autopsie + PCR	Lemminga et al. (2020)
	Noord-Jutland				2,30%	88 (2)	Autopsie + PCR	Lemminga et al. (2020)
	Midden-Jutland				1,90%	161 (3)	Autopsie + PCR	Lemminga et al. (2020)
	Zuid-Jutland				1,70%	59 (1)	Autopsie + PCR	Lemminga et al. (2020)
	Funen				25%	4 (1)	Autopsie + PCR	Lemminga et al. (2020)
	Kopenhagen				37,50%	16 (6)	Autopsie + PCR	Lemminga et al. (2020)
	Zuid-Seeland				37%	27 (10)	Autopsie + PCR	Lemminga et al. (2020)
Duitsland	ongekende regio				16,70%	12 (2)	Autopsie + PCR	Lemminga et al. (2020)
	Brandenburg		9%			122 (11)	PCR	Hartwig et al. (2015)
	Centraal-Duitsland			14,10%		569 (80)	Autopsie + copro-PCR	Schug et al. (2018)
	Hessen			19,10%		89 (17)	Autopsie + copro-PCR	Schug et al. (2018)
	Rijnland-Palts			27,30%		121 (33)	Autopsie + copro-PCR	Schug et al. (2018)
	Thuringia			8,40%		359 (30)	Autopsie + copro-PCR	Schug et al. (2018)
Hongarije	Algemeen			17,90%		937 (168)	Autopsie	Tolnai et al. (2015)
	Algemeen	5%				100 (5)	Baermann	Sreter et al. (2003)
Italië	Centraal en noord		27,50%			198 (52)	Autopsie	Magi et al. (2010)
	Grosseto		8,10%			37 (3)	Autopsie	Magi et al. (2010)
	Cecina		10%			50 (5)	Autopsie	Magi et al. (2010)
	Pisa		3,80%			26 (1)	Autopsie	Magi et al. (2010)
	Siena		0%			16 (0)	Autopsie	Magi et al. (2010)
	Imperia		80%			45 (36)	Autopsie	Magi et al. (2010)
	Borgo San Dalmazzo		0%			5 (0)	Autopsie	Magi et al. (2010)
	Montezemolo		70%			10 (7)	Autopsie	Magi et al. (2010)
	Campania			33,30%		102 (34)	Autopsie	Santoro et al. (2015)
	Algemeen			39,90%		542 (216)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Carlow			12,50%		16 (2)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Cavan			52,90%		17 (9)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Clare			72,70%		11 (8)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Cork			50%		34 (17)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Donegal			12,50%		16 (2)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Dublin			66,70%		39 (26)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Galway			57,10%		28 (16)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Kerry			23,10%		26 (6)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Kildare			40%		5 (2)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Kilkenny			36,80%		19 (7)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Laois			20%		5 (1)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Leitrim			33,30%		21 (7)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Limerick			44,40%		36 (16)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Longford			28,60%		21 (6)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Louth			62,50%		8 (5)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Mayo			42,30%		26 (11)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Meath			17,60%		17 (3)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Monaghan			37,50%		8 (3)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Offaly			37,50%		8 (3)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Roscommon			11,10%		9 (1)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Sligo			38,10%		21 (8)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Tipperary			19,60%		51 (10)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Waterford			51,20%		41 (21)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Westmeath			33,30%		3 (1)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Wexford			50%		40 (20)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Wicklow			21,40%		14 (3)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
	Geen gebied gekend			100%		2 (2)	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Kroatië	Zagreb	1%				85 (1)	Autopsie	Rajkovic-Janje et al. (2002)
Nederland	Oost-Nederland			4,20%		136 (4)	Wassen en zeven	Franssen et al. (2014)
	Noordoost Nederland				32,60%	95 (31)	en sedimentatie-flotatie	Conradi et al. (2017)
	Groningen				33,30%	39 (13)	Wassen en zeven	Conradi et al. (2017)
Polen	Drenthe				32,10%	56 (18)	Wassen en zeven	Conradi et al. (2017)
	Augustów oerbos			5,20%		78 (4)	Autopsie	Demiaszkiewicz et al. (2014)
Portugal	Dunas de Mira	16,10%				62 (10)	Onbekend	Eira et al. (2006)
Roemenië	Algemeen				4,20%	567 (24)	Autopsie	Deak et al. (2017)
	Cluj				3%	33 (1)	Autopsie	Deak et al. (2017)
	Hunedoara				8,20%	61 (5)	Autopsie	Deak et al. (2017)
	Mures				10,90%	156 (17)	Autopsie	Deak et al. (2017)
	Salaj				4%	25 (1)	Autopsie	Deak et al. (2017)
Servië	Algemeen				13,20%	83 (11)	Autopsie	Gavrilovic et al. (2019)
	Pancevo				54,17%	24 (13)	Autopsie	Gavrilovic et al. (2018)
Slovakije	Algemeen				5,43%	571 (31)	Sedimentatie-flotatie + PCR	Cabanova et al. (2018)
Spanje	Asturië en Galicië				43,20%	257 (111)	Autopsie	Martinez-Rondan et al. (2019)
	Val d'Aran	3,40%				87 (3)	Wassen en zeven	Garrido-Castane et al. (2015)
Verenigd Koninkrijk	Baskenland	33,30%				48 (16)	Autopsie	Gerrikagoitia et al. (2010)
	Algemeen		7,30%			546 (40)	Autopsie	Morgan et al. (2008)
Zwitserland	Algemeen			18,80%		442 (82)	Autopsie	Taylor et al. (2015)
	Noordoost-Zwitserland			49,40%		269 (133)	Autopsie + ELISA AG	Gillis-Germitsch et al. (2020)
	Noordoost-Zwitserland				80,10%	237 (190)	Autopsie + ELISA AG	Gillis-Germitsch et al. (2020)
	Algemeen				8,80%	1481 (130)	Sedimentatie-flotatie + PCR	Koller et al. (2019)

Tabel 6: De gebruikte percentages voor figuur 12. De percentages werden bekomen door het totale aantal positieve stalen te delen met het totaal aantal genomen stalen in het land en dit met factor 100 te vermenigvuldigen.

Land	Aantal stalen	Aantal stalen positief	2001-2020 % positief
Denemarken	1115	389	34,89
Duitsland	691	91	13,17
Hongarije	1037	173	16,68
Ierland	542	216	39,85
Kroatië	85	1	1,18
Italië	198	52	26,26
Nederland	231	35	15,15
Polen	78	4	5,13
Portugal	62	10	16,13
Roemenië	567	24	4,23
Servië	83	11	13,25
Slovakije	571	31	5,43
Spanje	392	130	33,16
Verenigd Koninkrijk	988	122	12,35
Zwitserland	1987	453	22,80

Tabel 7: De gebruikte prevalentiewaarden voor figuur 13. Het land, het gebied, het percentage, het aantal gebruikte stalen, het aantal positieve stalen, de methode en bron worden weergegeven.

Land	Gebied	Aantal stalen	Aantal stalen positief	2001 - 2020 % positief	Methode	Bron
Denemarken	Kopenhagen	70	56	80,00	Wassen en zeven	Al-sabi et al. (2014)
Denemarken	Zuid-Denemarken	48	0	0,00	Wassen en zeven	Al-sabi et al. (2014)
Denemarken	Noord-Jutland	88	2	2,27	Autopsie + PCR	Lemminga et al. (2020)
Denemarken	Centraal-Denemarken	161	3	1,86	Autopsie + PCR	Lemminga et al. (2020)
Denemarken	Zuid-Denemarken	59	1	1,69	Autopsie + PCR	Lemminga et al. (2020)
Denemarken	Odense	4	1	25,00	Autopsie + PCR	Lemminga et al. (2020)
Denemarken	Kopenhagen	16	6	37,50	Autopsie + PCR	Lemminga et al. (2020)
Denemarken	Næstved	27	10	37,04	Autopsie + PCR	Lemminga et al. (2020)
Duitsland	Brandenburg	122	11	9,02	PCR	Hartwig et al. (2015)
Duitsland	Hessen	89	17	19,10	Autopsie + copro-PCR	Schug et al. (2018)
Duitsland	Rijnland-Palts	121	33	27,27	Autopsie + copro-PCR	Schug et al. (2018)
Duitsland	Erfurt	359	30	8,36	Autopsie + copro-PCR	Schug et al. (2018)
Ierland	Carlow	16	2	12,50	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Cavan	17	9	52,94	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Clare	11	8	72,73	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Cork	34	17	50,00	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Donegal	16	2	12,50	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Dublin	39	26	66,67	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Galway	28	16	57,14	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Kerry	26	6	23,08	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Kildare	5	2	40,00	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Kilkenny	19	7	36,84	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Laois	5	1	20,00	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Leitrim	21	7	33,33	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Limerick	36	16	44,44	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Longford	21	6	28,57	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Louth	8	5	62,50	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Mayo	26	11	42,31	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Meath	17	3	17,65	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Monaghan	8	3	37,50	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Offaly	8	3	37,50	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Roscommon	9	1	11,11	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Sligo	21	8	38,10	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Tipperary	51	10	19,61	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Waterford	41	21	51,22	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Westmeath	3	1	33,33	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Wexford	40	20	50,00	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Ierland	Wicklow	14	3	21,43	Autopsie	McCarthy et al. (2016)
Italië	Grosseto	37	3	8,11	Autopsie	Magi et al. (2010)
Italië	Cecina	50	5	10,00	Autopsie	Magi et al. (2010)
Italië	Pisa	26	1	3,85	Autopsie	Magi et al. (2010)
Italië	Siena	16	0	0,00	Autopsie	Magi et al. (2010)
Italië	Imperia	45	36	80,00	Autopsie	Magi et al. (2010)
Italië	Borgo San Dalmazzo	5	0	0,00	Autopsie	Magi et al. (2010)
Italië	Montezemolo	10	7	70,00	Autopsie	Magi et al. (2010)
Italië	Campania	102	34	33,33	Autopsie	Santoro et al. (2015)
Kroatië	Zagreb	85	1	1,18	Autopsie	Rajkovic-Janje et al. (2002)
Nederland	Overijssel	136	4	2,94	Wassen en zeven	Franssen et al. (2014)
Nederland	Groningen	39	13	33,33	Wassen en zeven	Conradi et al. (2017)
Nederland	Drenthe	56	18	32,14	Wassen en zeven	Conradi et al. (2017)
Polen	Augustów oerbos	78	4	5,13	Autopsie	Demiaszkiewicz et al. (2014)
Portugal	Mira	62	10	16,13	Onbekend	Eira et al. (2006)
Roemenië	Cluj-Napoca	33	1	3,03	Autopsie	Deak et al. (2017)
Roemenië	Hunedoara	61	5	8,20	Autopsie	Deak et al. (2017)
Roemenië	Mureș	156	17	10,90	Autopsie	Deak et al. (2017)
Roemenië	Sălaj	25	1	4,00	Autopsie	Deak et al. (2017)
Servië	Pančevo	24	13	54,17	Autopsie	Gavrilovic et al. (2018)
Spanje	Asturië	257	111	43,19	Autopsie	Martinez-Rondan et al. (2019)
Spanje	Viella, Pyreneeën	87	3	3,45	Wassen en zeven	Garrido-Castane et al. (2015)
Spanje	Bilbao	48	16	33,33	Autopsie	Gerrikagoitia et al. (2010)

2.4.2.3. Slak

Voor de slak varieerden de prevalentiepercentages tussen 0,1% en 29,7%. Slechts enkele landen zoals Denemarken, het Verenigd Koninkrijk (waaronder Wales en Schotland)), Duitsland en Oostenrijk zijn reeds bestudeerd. Hiervoor werden 8 studies gebruikt. In totaal zijn 4848 slakken onderzocht, waarvan 349 met de nematode geïnfecteerd waren. In tabel 8 wordt een overzicht van de gebruikte studies, met jaartal, land, gebied, aantal geteste slakken, percentage en aantal slakken positief, de methode en de bron weergegeven.

Tabel 8: Overzichtstabel van A. vasorum infecties bij de slak waarbij het jaartal, land, gebied, aantal slakken met het positieve percentage en aantal positieve slakken, methode en bron worden weergegeven.

Jaartal	Land	Gebied	aantal slakken	Percentage positief	Aantal positief	methode	Bron
2007	Denemarken	Kopenhagen	298	9,40%	28	digestie	Ferdushy et al. (2009)
2009	Groot-Brittannië	Londen	381	1,60%	6	digestie + PCR	Patel et al. (2014)
2009	Schotland	Glasgow en Argyshire	340	6,70%	16	PCR	Helm et al. (2015)
2012	Wales	Swansea	180	29,40%	53	PCR	Aziz et al. (2016)
2014	Groot-Brittannië	Bristol	338	0,30%	1	PCR	Aziz et al. (2016)
2014-2015	Duitsland	Weilburg	785	5,40%	127	digestie	Lange et al. (2018)
2014-2015	Duitsland	Eppstein	609	2,50%	45	digestie	Lange et al. (2018)
2014-2015	Duitsland	Rockenhausen	742	1,50%	11	digestie	Lange et al. (2018)
2014-2015	Duitsland	Otterberg	565	9,90%	56	digestie	Lange et al. (2018)
2016	Oostenrijk	Wenen	193	0,50%	1	digestie + PCR	Penagos-tabares et al. (2019)
2016	Groot-Brittannië	Surrey	97	4,10%	4	PCR	Hickleton en Betson (2019)
2020	Oostenrijk	Wenen, Stiermarken, Burgenland, Zuid-Oostenrijk	1320	0,07%	1	digestie + PCR	Fuehrer et al. (2020)

2.4.3. Discussie

Deze literatuurstudie verzamelt de reeds bestaande studies tot overzichtstabellen en Europese kaarten, wat enkele beperkingen met zich meebrengt. In vele studies is het ten eerste onmogelijk om betrouwbare schattingen van de prevalentie te bekomen. De steekproefgroottes kunnen namelijk in grote mate verschillen. Sommige zijn heel klein waardoor de bekomen resultaten niet geëxtrapoleerd kunnen worden naar de algemene honden- en/of vossenpopulatie. Om een betrouwbare schatting van de prevalentie te bekomen, werd het berekenen van de minimum noodzakelijke steekproefgrootte meestal niet op voorhand uitgevoerd. In principe zou in deze literatuurstudie dus eerder van 'infectiegraad' gesproken moeten worden.

Door het verschil in proefopzet is het ten tweede moeilijk om de bekomen resultaten te vergelijken. Zo werd doorheen de tijd gebruik gemaakt van verschillende methodes, met elk hun eigen specificiteit en sensitiviteit. Verder verschilt steeds de steekproefgrootte en -samenstelling. Daarnaast worden bepaalde onderzoeken slechts in specifieke gebieden van een land uitgevoerd, waarvan sommige enkel in gekende hotspots, terwijl in andere studies wel het hele land bestudeerd werd. Het geheel van al deze factoren zorgt voor een moeilijke vergelijking tussen de landen en tussen de vos en de hond. Afgezien daarvan kan toch een ruw beeld van de geografische verspreiding en de evolutie in de tijd van *A. vasorum* infecties weergegeven worden.

Recente onderzoeken hebben echter aangetoond dat de parasitaire infectie steeds meer voorkomt en zich in Europa verspreidt (Maksimov et al., 2017; Gillis-Germitsch et al., 2020). Omdat bij de hond in slechts een beperkt aantal gevallen meerdere studies in hetzelfde land zijn gebeurd, is het moeilijk om een stijging van de parasitaire infectie in de Europese landen aan te tonen. Voorbeelden waar een stijging wel aangetoond kan worden, zijn Duitsland en Griekenland.

Zo werden door Barutzki en Schaper (2009) en Maksimov et al. (2017) met de Baermann methode en sedimentatie-flotatiemethode epidemiologische studies in Duitsland uitgevoerd. Ondanks het feit dat een stijgend percentage verwacht werd, werd een dalende prevalentie van respectievelijk 7,4% en 2,2% teruggevonden. Een groot verschil in steekproefgrootte (respectievelijk 810 en 12628 honden) kan hiervoor de oorzaak zijn. Maksimov et al. (2017) voerden een langdurige studie uit en gaven de resultaten in drie tijdspannes weer, verspreid over 13 jaar. Daar werd wel een significante stijging tussen het begin en het einde van de studie teruggevonden. Ook in Griekenland werden twee studies uitgevoerd (Symeonidou et al., 2017; Angelou et al., 2020). Aangezien de steekproefgrootte van beide studies bijna dezelfde is en de data van de uitgevoerde studies slechts één jaar verschillen, kunnen zij

slechts een beperkte tot geen invloed hebben op de prevalentie. Het beperkte verschil in prevalentiepercentage, respectievelijk 0,2% en 0,4%, kan te verklaren zijn aan de gebruikte methode (Symeonidou gebruikte sedimentatie-flotatie en Angelou gebruikte ELISA).

Omwille van het gebrek aan voldoende data blijven landen zoals IJsland, Finland, Noorwegen, Slovenië en Bosnië en Herzegovina ongekleurd op de kaart (fig. 10 en 11). In IJsland, Slovenië en Noorwegen werden voorlopig geen autochtone *A. vasorum*-infecties vastgesteld. België kleurt opvallend veel donkerder dan de overige landen. De studie van Canonne et al. (2015) constateerde in België een prevalentie van 10,7%. Dit hoge percentage kan te verklaren zijn door de kleine steekproefgrootte (65 honden) en het alleen onderzoeken van symptomatische honden. Deze studie bij de hond kan bijgevolg mogelijks niet geëxtrapoleerd worden naar de gehele hondenpopulatie in het land.

In tegenstelling tot de hond, beschikt men in bepaalde landen wel over voldoende data bij de vos om de evolutie in prevalentiepercentages weer te geven. Een voorbeeld is Denemarken. De aanzienlijke hogere percentage van Saeed et al. (2006), Al-Sabi et al. (2014) en Lemminga et al. (2020), respectievelijk 48,6%, 80% en 37,5%, in Noord-Seeland kon teruggevonden worden in de verschillende studies. Bijgevolg wordt Noord-Seeland al decennia lang als een hyperenzoötische focus beschouwd. Onverwacht was de nagenoeg even hoge prevalentie in Zuid-Seeland (37%) (Lemminga et al., 2020). Dit wijst op een uitbreiding van de bestaande focus. De lage prevalentie in Jutland kan wijzen op een geografisch verschil. Hierbij kan het al dan niet veelvuldig voorkomen van de tussengastheer een belangrijk punt zijn. Niettemin wordt geconstateerd dat de prevalentie in Jutland gestegen is (Lemminga et al., 2020).

Andere voorbeelden zijn Zwitserland, Hongarije en Groot-Brittannië. In 5 jaar tijd is de prevalentie in Zwitserland 4 keer zo hoog geworden (Gillis-Germitsch et al., 2020). In Hongarije en Groot-Brittannië zijn respectievelijk in 12 en 8 jaar 3,6 en 2,6 keer meer geïnfecteerde vossen teruggevonden (Sreter et al., 2003; Tolnai et al., 2015; Taylor et al., 2015).

Figuur 10 en 12 werden bekomen door het totaal van alle geïnfecteerde honden of vossen per land op te tellen en te delen door alle genomen stalen per land. Hierdoor wordt beter rekening gehouden met de steekproefgrootte. Andere nuances zoals de onderzoeksmethodes worden hierdoor tenietgedaan, iets wat mogelijk een invloed op de prevalentiepercentages kan hebben (zie eerder).

Figuur 11 en 13 bestaan uit de beschreven hotspots. Doordat veel epidemiologische studies niet specifiek zijn over de lokalisatie, is het onmogelijk om een gedetailleerde kaart met hotspots te vormen. Duidelijke hoge prevalentiepercentages bij de hond werden teruggevonden in Zuidwest-Duitsland en Centraal-Italië, wat ook in figuur 10 teruggevonden kan worden. In België en Denemarken worden gemiddeld hoge percentages weergegeven. Terwijl de prevalentie bij de hond in België voor zowel figuur 10 als 11 dezelfde is, lijkt het land in figuur 10 zwaarder getroffen dan in figuur 11. Dit komt omdat Duitsland, eveneens als een enzoötisch gebied beschouwd, en Italië in bepaalde gebieden zwaarder getroffen zijn en hier geen gemiddelde van de verschillende gebieden genomen werd.

Het verschil in hotspots bij de hond en de vos kunnen te verklaren zijn door het gebrek aan epidemiologische studies. Het autochtoon voorkomen van een infectie bij de hond, bewijst onrechtstreeks het voorkomen van de infectie bij de vos. Dit omdat zij in verschillende tuinen en bossen voorkomen en de infectie op deze manier kunnen verspreiden. De studies onderzochten vaak andere gebieden, wat ook op de kaarten gezien kan worden (figuur 10, 11, 12 en 13). Er is steeds een hoger prevalentiepercentage bij de vos in vergelijking met de hond, waarbij de toenemende vossenpopulatie en asymptomatische infectie een rol spelen.

Het ontbreken van prevalentiepercentages bij vossen voor bepaalde Europese landen betekent niet dat deze landen als vrije gebieden beschouwd kunnen worden. Landen zoals België, Frankrijk, Albanië, Tsjechië, Bulgarije, Griekenland, Zweden, Finland en Bosnië en Herzegovina hebben de nematode bij de hond reeds aangetoond (Papazahariadou et al., 2007; Canonne et al., 2015; Grandi et al., 2017; Shukullari et al., 2015; Kosic et al., 2016; Lempereur et al., 2016; Hajnalova et al., 2017; Schnyder et al., 2017; Symeonidou et al., 2017; Tiskina et al., 2019; Angelou et al., 2020; Iliev et al., 2020). In

Noorwegen werd tot heden nog geen met *A. vasorum* geïnfecteerde vos teruggevonden (Davidson et al., 2006).

Oostenrijk, Slovenië, Kroatië en Bosnië en Herzegovina beschikken tot op heden over geen bruikbare data bij de hond en de vos. Toch kan de infectie niet met 100% worden uitgesloten. Zo werd in Bosnië en Herzegovina voor de eerste maal een autochtone infectie aangetoond (Stevanovic et al., 2020). Penagos-Tabares et al. (2019) en Fuehrer et al. (2020) toonden geïnfecteerde *Arion vulgaris* slakken aan in Oostenrijk, wat wijst op de aanwezigheid van de infectie in het land.

Ook het klimaat heeft een invloed op het voorkomen van de parasitaire infectie. Davin et al. (2020) constateerden met verschillende simulaties een stijging van 0,2 tot 1 Kelvin in Europa. De stijging is hoofdzakelijk in de winter te zien en zwakt af naar het zuidwesten toe. Aangezien natte en koele gebieden ideaal zijn voor de groei en de verspreiding van *A. vasorum* en de tussengastheren, kon met behulp van Sayre et al. (2020) geconcludeerd worden dat Europa een ideaal continent is voor deze parasiet, met uitzondering van enkele gebieden waar het te droog, te nat of te warm is. Omdat Slovenië een gunstig klimaat heeft, is het mogelijk dat een voorkomende infectie nog niet is aangetoond (Schnyder et al., 2017).

In figuur 9 werden door Morgan et al. (2009) een voorspelling van de parasiet bij de hond beschreven. Hierbij werden Groot-Brittannië, Ierland, Nederland, Denemarken, België, Noordwest Frankrijk, Noord-Spanje, Noord-Portugal en gebieden in Italië als hyperenzoötische gebieden beschouwd. Deze voorspelling komt, met kleine afwijkingen, grotendeels overeen met de huidige realiteit. Hotspots in Centraal- en Zuidcentraal-Portugal, alsook Centraal-Spanje werden beschreven. Bovendien werd aangetoond dat de parasiet ook in Griekenland voorkomt. Waar Zuid-Noorwegen volgens Morgan et al. (2009) een ideaal gebied is, zijn infecties er tot op heden nog niet aangetoond.

De interpretatie van de verschillende studies geven een indicatie van de evolutie in voorkomen van *A. vasorum* in Europa. Om een beter beeld over de verspreiding te verkrijgen, zou echter een standaardisering van de gebruikte methode ontwikkeld moeten worden. Bovendien is een standaardisering van de samenstelling van steekproefgrootte noodzakelijk. Daarnaast zou op voorhand een berekening van de minimale steekproefgrootte uitgevoerd moeten worden. Idealiter worden de Europese landen opnieuw onderzocht, alsook de landen waarbij nog geen data beschikbaar zijn, en wordt dezelfde studie over een aantal jaren opnieuw uitgevoerd om de evolutie volledig en correct in kaart te kunnen brengen.

2.4.4. Conclusie

Met deze literatuurstudie werd de evolutie in het voorkomen van *A. vasorum* in beeld gebracht. Wegens het gebrek aan data bij de hond, kon dit slechts voor enkele landen bij de hond aangetoond worden. De data bij de vos konden een beter beeld van de evolutie van *A. vasorum* aantonen. De voorspelling van Morgan et al. (2009) stemt grotendeels overeen met de huidige realiteit, wat wijst op de cruciale rol van het klimaat (temperatuur en vochtigheidsgraad). Om een verdere verspreiding tegen te gaan, moet er zeker aandacht besteed worden aan het bewustzijn van hondeneigenaars en dierenartsen in verband met het voorkomen en de preventie (ontworming, hygiëne). Om de prevalentie echter eenduidig in beeld te brengen is het standaardiseren van de gebruikte methode en de lokalisatie noodzakelijk.

3. Literatuurlijst

1. Alho, A.M., Meireles, J., Schnyder, M., Cardoso, L., Belo, S., Deplazes, P., de Carvalho, L.M., 2018. *Dirofilaria immitis* and *Angiostrongylus vasorum*: The current situation of two major canine heartworms in Portugal. *Veterinary Parasitology*, 252, 120-126.
2. Alho, A.M., Pita, J., Amaro, A., Amaro, F., Schnyder, M., Grimm, F., Custódio, A.C., Cardoso, L., Deplazes, P., Madeira de Carvalho, L., 2016. Seroprevalence of vector-borne pathogens and molecular detection of *Borrelia afzelii* in military dogs from Portugal. *Parasites & Vectors*, 9, 225.
3. Alho, A., Schnyder, M., Meireles, J., Belo, S., Deplazes, P., Madeira de Carvalho, L., 2014. Preliminary results on the seroprevalence of *Angiostrongylus vasorum* and co-infection with *Dirofilaria immitis* in shelter dogs from Portugal. *Parasites & Vectors* 7, O26.
4. Alho, A.M., Schnyder, M., Schaper, R., Meireles, J., Belo, S., Deplazes, P., Madera de Carvalho, L., 2016. Seroprevalence of circulating *Angiostrongylus vasorum* antigen and parasite-specific antibodies in dogs from Portugal. *Parasitology Research* volume 115, 2567-2572.
5. Al-Sabi, M.N.S., Deplazes, P., Webster, P., Willesen, J.L., Davidson R.K., Kapel, C.M.O., 2010. PCR detection of *Angiostrongylus vasorum* in faecal samples of dogs and foxes. *Parasitology Research* 107, 135-140.
6. Al-Sabi, M.N.S., Halasa, T., Kapel, C.M., 2014. Infections with cardiopulmonary and intestinal helminths and sarcoptic mange in red foxes from two different localities in Denmark. *Acta Parasitology* 59, 98–107.
7. Al-sabi, M.N., Kapel, C.M., Johansson, A., Espersen, M.C., Koch, J., Willesen, J.L., 2013. A coprological investigation of gastrointestinal and cardiopulmonary parasites in hunting dogs in Denmark *Veterinary Parasitology*, 196, 366-372.
8. Adamantos, S., Waters, S., Boag, A., 2015. Coagulation status in dogs with naturally occurring *Angiostrongylus vasorum* infection *Journal of Small Animal Practice* 56, 485–490.
9. Angelou A., Gelasakis, A.I., Schnyder, M., Schaper, R., Papadopoulos, E., 2020. The ‘French heartworm’ in Greece: A countrywide serological survey of *Angiostrongylus vasorum* infection by combined detection of circulating antigens and specific antibodies. *Veterinary Parasitology: Regional studies and reports* volume 19, 100376.
10. Aziz, N.A.A., Daly, E., Allen, S., Rowson, B., Greig, C., Forman, D., Morgan, E.R., 2016. Distribution of *Angiostrongylus vasorum* and its gastropod intermediate hosts along the rural-urban gradient in two cities in the United Kingdom, using real time PCR. *Parasites & Vectors* 9, 56.
11. Barçante, T., Barçante, J., Dias, S., dos Santos Lima, W., 2003. *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) Kamensky, 1905: emergence of third-stage larvae from infected *Biomphalaria glabrata* snails. *Parasitology Research* 91, 471–475.
12. Barçante, J., Barçante, T., Ribeiro, V., Oliveira-Junior, S., Dias, S., Negrão-Corrêa, D., Lima, W., 2008. Cytological and parasitological analysis of bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs. *Veterinary Parasitology* 158, 93-102.
13. Barutzki, D., Schaper, R., 2009. Natural infections of *Angiostrongylus vasorum* and *Crenosoma vulpis* in Dogs in Germany (2007-2009). *Parasitology Research* 105, 39-48.
14. Becker, A.C., Kreaemer, A., Epe, C., Strube, C., 2016. Sensitivity and efficiency of selected coproscopical methods- sedimentation, combined zinc sulfate sedimentation-flotation, and McMaster method. *Parasitology Research* 115, 2581-2587.
15. Becskei, C., Thys, M., Doherty, P., Mahabir, S., 2020. Efficacy of orally administered combination of moxidectin, sarolaner and pyrantel (Simparica Trio™) for the prevention of experimental *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs. *Parasites & Vectors* <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3948-z>.
16. Blanch-Lazaro, B., Mitton, Z., Tudor, C., Hindle, J., Martineau, H., Fox, M., Blakec, D.P., 2018. Genetic diversity and population structure of *Angiostrongylus vasorum* parasites within and between local urban foxes (*Vulpes Vulpes*). *Veterinary Parasitology* volume 262, 42-46.
17. Boag, A.K., Chapman, P.S., 2004. Radiographic findings in 16 dogs infected with *Angiostrongylus vasorum*. *Veterinary Record* volume 154, Issue 14, 426-430.

18. Boag, A., Murphy, K., Connolly, D., 2005. Hypercalcaemia associated with *Angiostrongylus vasorum* in three dogs. *Journal of Small Animal Practice* 46, 79–84.
19. Böhm, C., Petry, G., Schmidt, H., Raue, K., Barthel, F., Schaper, R., 2017. Evaluation of the persistent preventive efficacy of 2.5% Moxidectin/ 10% Imidacloprid Spot-on (Advocate®, Advantage® Multi) in dogs experimentally infected with *Angiostrongylus vasorum*. *Parasitology Research* 116, 1–10. Doi: 10.1007/s00436-017-5487-x.
20. Böhm, C., Schnyder, M., Thamsborg, S.M., Thompson, C.M., Trout, C., Wolken, S., Schnitzler, B., 2014. Assessment of the combination of spinosad and milbemycin oxime in preventing the development of canine *Angiostrongylus vasorum* infections. *Veterinary Parasitology* volume 199 issues 3-4, 272-277.
21. Bolt, G., Monrad, J., Henriksen, P., Dietz, H.H., Koch, J., Bindseil, E., Jensen, A.L., 1992. The fox (*Vulpes vulpes*) as a reservoir for canine angiostrongylosis in Denmark. Field survey and experimental infections. *Acta Veterinaria Scandinavica* 33, 357-362.
22. Bolt, G., Monrad, J., Frandsen, F., Henriksen, P., Dietz, H., 1993. The common frog (*Rana temporaria*) as a potential paratenic and intermediate host for *Angiostrongylus vasorum*. *Parasitology Research* 79, 428-430.
23. Bolt, G., Monrad, J., Koch, J., Jensen, A.L., 1994. Canine angiostrongylosis: a review. *Veterinary Record* 135, 447-452.
24. Bourne, D., Elsheikha, H., Farquhar, R., Helm, J., Morgan, E., Peters, I., Sturgess, K., Torrance, A., Wright, I., 2020. Lungworm: A roundtable discussion. *Companion Animal* volume 25, No. 2.
25. Bourque, A., Conboy, G., Miller, L.M., Whitney, H., 2008. Pathological findings in dogs naturally infected with *Angiostrongylus vasorum* in Newfoundland and Labrador. *Canine Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 20, 11-20.
26. Bourque, A., Whitney, H., Conboy, G., 2005. *Angiostrongylus vasorum* infection in a coyote (*Canis latrans*) from Newfoundland and Labrador, Canada. *Journal of Wildlife Diseases* 41, 816-819.
27. Brennan, S., McCarthy, G., McAllister, H., Bassett, H., Jones, B., 2004. Clinical signs, diagnosis and treatment of three dogs with angiostrongylosis in Ireland. *Irish Veterinary Journal* volume 57, 103-109.
28. Cabanova, V., Miterpakova, M., Druga, M., Hurnikova, Z., Valentova, D., 2018. GIS-based environmental analysis of fox and canine lungworm distribution: an epidemiological study of *Angiostrongylus vasorum* and *Crenosoma vulpis* in red foxes from Slovakia. *Parasitology Research* 117, 521-530.
29. Cabrilo, O.B., Simin, V., Miljevic, M., Cabrilo, B., Mijatovic, D., Lalošević, D., 2018. Respiratory and cardiopulmonary nematode species of foxes and jackals in Serbia. *Helminthologia* volume 55, issue 3, 213-221.
30. Canonne, A.M., Roels, E., Caron, Y., Losson, B., Bolen, G., Peters, I., Billen, F., Clercx, C., 2015. Detection of *Angiostrongylus vasorum* by quantitative PCR in bronchoalveolar lavage fluid in Belgian dogs. *Journal of Small Animal Practice* 57, 130- 134.
31. Carreton, E., Morchon, R., Falcon-Cordon, Y., Matos, J., Costa-Rodriguez, N., Montoya-Alonso, J.A., 2020. First epidemiological survey of *Angiostrongylus vasorum* in domestic dogs from Spain. *Parasites & Vectors* volume 13, Article number: 306.
32. Chapman, P.S., Boag, A.K., Guitan, J., Boswood, A., 2004. *Angiostrongylus vasorum* infection in 23 dogs (1999–2002). *Journal of Small Animal Practice* volume 45 issue 9, 435-440.
33. Chilton, N.B., Huby-Chilton, F., Gasser, R.B., Beveridge, I., 2006. The evolutionary origins of the nematodes within the order Strongylida are related to predilection sites within hosts. *Molecular Phylogenetics and Evolution* volume 40, issue 1, 118-128.
34. Christensen, J., 2001. Epidemiological concepts regarding disease monitoring and surveillance. *Acta Veterinaria Scandinavica* 42, S11.
35. Christie, J., Schwan, E.V., Bodenstein, L.L., Sommerville, J.E.M., van der Merwe, L.L., 2011. The sensitivity of direct faecal examination, direct faecal flotation, modified centrifugal faecal flotation and centrifugal sedimentation/flotation in the diagnosis of canine spirocercosis. *Journal of the South African veterinary Association* volume 82, issue 2, 71–75.

36. Ciuca, L., Meomartino, L., Piantedosi, D., Cortese, L., Cringoli, G., Rinaldi, L., Lamagna, B., 2019. Irreversible ocular lesions in a dog with *Angiostrongylus vasorum* infection. *Topics in Companion Animal Medicine* 36, 4-8.
37. Conboy, G., 2011. Canine angiostrongylosis: The French heartworm: An emerging threat in North America. *Veterinary Parasitology* 176, 382-389.
38. Conradi, M., 2017. Cardiopulmonary helminth parasites of the red fox (*Vulpes vulpes*) in the north-east of The Netherlands. Master thesis, Faculty of Veterinary Medicine, University Utrecht, The Netherlands.
39. Corda, A., Carta, S., Varcasia, A., Tamponi, C., Evangelisti, M.A., Scala, A., Pargaglia, M.L.P., 2019. Pulmonary arterial response to *Angiostrongylus vasorum* in naturally infected dogs: echocardiographic findings in two cases. *Parasites & Vectors* volume 12, 286.
40. Davidson, K., Gjerde, B., Vikoren, T., Lillehaug, A., Handeland, K., 2006. Prevalence of *Trichinella* larvae and extra-intestinal nematodes in Norwegian red foxes (*Vulpes vulpes*). *Veterinary Parasitology* volume 136 issues 3-4, 307-316.
41. Davin, E.L., Rechid, D., Breil, M., Cardoso, R.M., Coppola, E., Hoffmann, P., Jach, L.L., Katragkou, E., de Noblet-Ducoudré, N., Radtke, K., Raffa, M., Soares, P.M.M., Sofiadis, G., Strada, S., Strandberg, G., Tölle, M.H., Warrach-Sagi, K., Wulfmeyer, V., 2020. Biogeophysical impacts of forestation in Europe: first results from the LUCAS (Land Use and Climate Across Scales) regional climate model intercomparison. *Earth System Dynamics*, volume 11 issue 1, 183-200.
42. Deak, G., Gherman, C.M., Ionică, A.M., Vezendan, A.D., D'Amico, G., Matei, I.A., Daskalaki, A.A., Marian, I., Damian, A., Cozma, V., Mihalca, A.D., 2017. *Angiostrongylus vasorum* in Romania: an extensive survey in red foxes, *Vulpes vulpes*. *Parasites & Vectors* 10, 330.
43. Deak, G., Gillis-Germitsch, N., Ionică, A.M., Mara, A., Păstrav, I.R., Cazan, C.D., Ioniță, M., Mitrea, I.L., Răileanu, C., Bărburaș, D., Nedișan, M., Oachiș, R., Cozma, V., Schaper, R., Schnyder M., Mihalca, A.D., 2019. The first seroepidemiological survey for *Angiostrongylus vasorum* in domestic dogs from Romania. *Parasites & Vectors* 12, 224.
44. Dear, J.D., 2014. Bacterial pneumonia in dogs and cats. *Veterinary clinics of North America: small animal practice* volume 44, issue 1, 143-159.
45. Demiaszkiewicz, A., Pyziel, A., Kuligowska, I., Lachowicz, J., 2014. The first report of *Angiostrongylus vasorum* (Nematoda; Metastrongyloidea) in Poland, in red foxes (*Vulpes vulpes*). *Acta parasitologica* volume 59 issue 4, 758–762.
46. Di Cesare, A., Traversa, D., 2014. Canine angiostrongylosis: recent advances in diagnosis, prevention, and treatment. *Veterinary Medicine* 5, 181-192.
47. Eamsobhana, P., Lim, P.E., Yong, H.S., 2014. Phylogenetics and systematics of *Angiostrongylus* lungworms and related taxa (Nematoda: Metastrongyloidea) inferred from the nuclear small subunit (SSU) ribosomal DNA sequences. *Journal of Helminthology* 89, 317–325.
48. Eira, C., Torres, J., Miquel, J., 2006. The helminth community of the red fox, *Vulpes vulpes*, in Dunas de Mira (Portugal) and its effect on host condition. *Wildlife Biology in Practice* 2, 26–36.
49. Eleni, C., Grifoni, G., Di Egidio, A., Meoli, R., De Liberato, C., 2014. Pathological findings of *Angiostrongylus vasorum* infection in red foxes (*Vulpes vulpes*) from Central Italy, with the first report of a disseminated infection in this host species. *Parasitology Research* volume 113, 1247-1250.
50. Elsheikha, H.M., Holmes, S.A., Wright, I., Morgan, E.R., Lacher, D.W., 2014. Recent advances in the epidemiology, clinical and diagnostic features, and control of canine cardio-pulmonary angiostrongylosis. *Veterinary Research*, 45, 92.
51. Ferdushy, T., Hasan, M.T., 2010. *Angiostrongylus vasorum*: the 'French Heartworm'. *Parasitology Research* 107, 765–771.
52. Ferdushy, T., Hasan, M.T., 2010. Survival of first stage larvae (L1) of *Angiostrongylus vasorum* under various conditions of temperature and humidity. *Parasitology Research* 107, 1323–1327.
53. Ferdushy, T., Kapel, C., Webster, P., Al-Sabi, M., Gronvold, J., 2009. The occurrence of *Angiostrongylus vasorum* in terrestrial slugs from forests and parks in the Copenhagen area, Denmark. *Journal Helminthology* 83, 379– 383.

54. Franssen, F., Nijse, R., Mulder, J., Cremers, H., Dam, C., Takumi, K., van der Giessen, J., 2014. Increase in number of helminth species from Dutch red foxes over a 35-year period. *Parasites & Vectors* volume 7, 166.
55. Fuehrer, H.P., Morelli, S., Bleicher, J., Brauchart, T., Edler, M., Eisschiel, N., Hering, T., Lercher, S., Mohab, K., Reinelt, S., Stessl, T., Fasching, D., Nimphy, R., Pelzl, A., Shahi-Barogh, B., Wortha, L.N., Bakran-Lebl, K., Duda, M., Sattmann, H., Schaper, R., Traversa, D., Joachim, A., 2020. Detection of *Crenosoma* spp., *Angiostrongylus vasorum* and *Aelurostrongylus abstrusus* in Gastropods in Eastern Austria. *Pathogens* 9, 1046.
56. Gallagher, B., Brennan, S., Zarelli, M., Mooney, C., 2012. Geographical, clinical, clinicopathological and radiographic features of canine angiostrongylosis in Irish dogs: a retrospective study. *Irish Veterinary Journal* 65, 5.
57. Garcia-Campos, A., Power, C., O'Shaughnessy, J., Browne, C., Lawlor, A., McCarthy, G., O'Neill, E.J., de Waal, T., 2018. One-year parasitological screening of stray dogs and cats in County Dublin, Ireland. *Parasitology* 1–7. Doi: <https://doi.org/10.1017/S0031182018002020>.
58. Garrido-Castane, I., Ortuno, C., Marco, I., Castella, J., 2015. Cardiopulmonary helminths in foxes from the Pyrenees. *Acta Parasitologica* volume 60, 712–715.
59. Gavrilovic, P., Dobrosavljevic, I., Vaskovic, N., Todorovic, I., Zivulj, A., Kureljusic, B., Pavlovic, I., 2019. Cardiopulmonary parasitic nematodes of the red fox (*Vulpes vulpes*) in Serbia. *Acta Veterinaria Hungarica* volume 67 issue 1, 60-69.
60. Gavrilović, P., Todorović, I., Pavlović, I., Živulj, A., 2018. First report of *Angiostrongylus vasorum* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Serbia. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society* volume 69, issue 4, 1265-1270.
61. Gerrikagoitia, X., Barral, M., Juste, R.A., 2010. *Angiostrongylus* species in wild carnivores in the Iberian Peninsula. *Veterinary Parasitology* volume 174, 175-180.
62. Gillis-Germitsch, N., Kapel, C.M.O., Thamsborg, S.M., Deplazes, P., Schnyder, M., 2017. Host-specific response to *Angiostrongylus vasorum* infection in red foxes (*Vulpes vulpes*): implications for parasite epidemiology. *Parasitology* 144, 1144–53.
63. Gillis-Germitsch, N., Tritten, L., Hegglin, D., Deplazes, P., Schnyder, M., 2020. Conquering Switzerland: the emergence of *Angiostrongylus vasorum* in foxes over three decades and its rapid regional increase in prevalence contrast with the stable occurrence of lungworms. *Parasitology* volume 147 issue 10, 1071-1079.
64. Grandi, G., Lind, E.O., Schaper, R., Agren, E., Schnyder, M., 2017. Canine angiostrongylosis in Sweden: a nationwide seroepidemiological survey by enzyme-linked immunosorbent assays and a summary of five-year diagnostic activity (2011–2015). *Acta Veterinaria Scandinavica* volume 59, 85.
65. Guardone, L., Schnyder, M., Macchioni, F., Deplazes, P., Magi, M., 2013. Serological detection of circulating *Angiostrongylus vasorum* antigen and specific antibodies in dogs from central and northern Italy. *Veterinary Parasitology*, 192, 192-198.
66. Hajnalová, M., Svobodová, V., Schnyder, M., Schaper, R., Svoboda, M., 2017. Faecal detection of the lungworms *Crenosoma vulpis* and *Angiostrongylus vasorum* and serological detection of *A. vasorum* in dogs from the Czech Republic. *Acta Veterinaria Brno* volume 86, issue 4, 393-398. Doi: <https://doi.org/10.2754/avb201786040393>.
67. Härtwig, V., Schulze, C., Barutzki, D., Schaper, R., Daugschies, A., Dyachenko, V., 2015. Detection of *Angiostrongylus vasorum* in Red Foxes (*Vulpes vulpes*) from Brandenburg, Germany. *Parasitology Research* 114, 185–192.
68. Helm, J.R., Morgan, E.R., Jackson, M.W., Wotton, P., Bell, R., 2010. Canine angiostrongylosis: an emerging disease in Europe. *Journal of Veterinary Emergency and critical care* volume 20, issue 1, 98-109.
69. Helm, J., Morgan, E., 2017. Canine and feline lungworm infections in the UK. In *Practice*, volume 36 issue 7, 298-315.

70. Helm, J., Roberts, L., Jefferies, R., Shaw, S.E., Morgan, E.R., 2015. Epidemiological survey of *Angiostrongylus vasorum* in dogs and slugs around a new endemic focus in Scotland. *Veterinary Record* volume 177, issue 2, 46. doi: 10.1136/vr.103006.
71. Hicklenton, L., Betson, M., 2019. Molecular detection of *Angiostrongylus vasorum* in gastropods in Surrey, UK. *Parasitology Research* volume 118, 1051-1054.
72. Hoch, H., Strickland, K., 2008. Canine and Feline Dirofilariasis: prophylaxis, treatment and complications of treatment. *Compendium Parasitology* volume 30, Issue 3, 146-151.
73. Hodzic, A., Alic, A., Klebic, I., Kadric, M., Brianti, E., Duscher, G.G., 2014. Red fox (*Vulpes vulpes*) as a potential reservoir host of cardiorespiratory parasites in Bosnia and Herzegovina. *Veterinary Parasitology* volume 223, 63-70.
74. Houpin, E., McCarthy, G., Ferrand, M., De Waal, T., O'Neill, E., Zintl, A., 2016. Comparison of three methods for the detection of *Angiostrongylus vasorum* in the final host. *Veterinary Parasitology* 220, 54-58.
75. Humm, K., Adamantos, S., 2010. Is evaluation of a faecal smear a useful technique in the diagnosis of canine pulmonary angiostrongylosis? *Journal of Small Animal Practice* 51, 200–203.
76. Ilie, M.S., Imre, M., Imre, K., Hora, F.Ş., Dărăbuş, Gh., Jurca, A.O., Patraş, I., Sorescu, D.I., 2016. Prevalence of *Angiostrongylus vasorum* infestation in dogs from western Romania - preliminary results. *Medicina Veterinara* volume 49 issue 3, 78-81.
77. Iliev, P.T., Kirkova, Z.T., Tonev, A.S., 2020. Preliminary study on the prevalence of endoparasite infections and vector-borne diseases in outdoor dogs in Bulgaria. *Helminthologia* volume 57, issue 2, 171-178.
78. Inês, E.J., Pacheco, F.T., Pinto, M.C., Mendes, P.S., Da Costa-Ribeiro, H., Soares, N.M., Teixeira M.C., 2016. Concordance between the zinc sulphate flotation and centrifugal sedimentation methods for the diagnosis of intestinal parasites. *Biomédica* 36, 519-24.
79. Jefferies, R., Morgan, E.R., Helm, J., Robinson, M., Shaw, S.E., 2011. Improved detection of canine *Angiostrongylus vasorum* infection using real-time PCR and indirect ELISA. *Parasitology Research* 109, 1577-1583.
80. Jefferies, R., Morgan, E.R., Shaw, S.E., 2009. A SYBR green real-time PCR assay for the detection of the nematode *Angiostrongylus vasorum* in definitive and intermediate hosts. *Veterinary Parasitology* 166, 112–118.
81. Jolly, S., Poncelet, L., Lempereur, L., Caron, Y., Bayrou, C., Cassart, D., Grimm, F., Losson, B., 2015. First report of a fatal autochthonous canine *Angiostrongylus vasorum* infection in Belgium. *Parasitology International* volume 64, issue 1, 97-99.
82. Koch, J., Willesen, J.L., 2009. Canine pulmonary angiostrongylosis: an update. *Veterinary Journal* 179, 348-359.
83. Koller, B., Hegglin, D., Schnyder, M.A., 2017. Grid-cell based fecal sampling scheme reveals: land-use and altitude affect prevalence rates of *Angiostrongylus vasorum* and other parasites of red foxes (*Vulpes vulpes*). *Parasitology Research* 118, 2235–2245.
84. Kotic, L.S., Lalošević, V., Simin, S., Kuruca, L., 2016. Dirofilariosis and angiostrongylosis in pet and hunting dogs in Novi Sad, Vojvodina, Serbia. *Archives of Veterinary Medicine* volume 9, issue 2, 53-62
85. Kranjc, A., Schnyder, M., Dennler, M., Fahrion, A., Makara, M., Ossent, P., Morgan, J., Deplazes, P., Glaus, T.M., 2010. Pulmonary Artery Thrombosis in Experimental *Angiostrongylus vasorum* Infection Does Not Result in Pulmonary Hypertension and Echocardiographic Right Ventricular Changes. *Journal of the Veterinary Internal Medicine* volume 24, Issue 4, 855-862.
86. Lagaanes, P.E., 2016. Survey of endoparasitic infection of dogs in a region of Norway 2016. Masterproef, Master of Veterinary Medicine in de Diergeneeskunde, Faculteit Parasitology en Zoology, Universiteit Budapest (UVMB), Hongarije.
87. Lange, M.K., Penagos-Tabares, F., Hirzmann, J., Failing, K., Schaper, R., Van Bourgonie, Y.R., Backeljou, T., Hermosilla, C., Taubert, A., 2018. Prevalence of *Angiostrongylus vasorum*, *Aelurostrongylus abstrusus* and *Crenosoma vulpis* larvae in native slug populations in Germany. *Veterinary Parasitology* 254, 120-130.

88. Lepri, E., Veronesi, F., Traversa, D., Conti, M.B., Marchesi, M.C., Miglio, A., Mandara, M.T., 2011. Disseminated angiostrongylosis with massive cardiac and cerebral involvement in a dog from Italy. *Parasitology Research* volume 109, 505–508.
89. Lemminga, L., Jorgensen, A., Nielsen, L., Nielsen, S., Mejer, H., Shriel, M., Petersen, H., 2020. Cardiopulmonary nematodes of wild carnivores from Denmark: Do they serve as reservoir hosts for infections in domestic animals? *Parasites and Wildlife* volume 13, 90-97.
90. Lempereur, L., Martinelle, L., Marechal, F., Bayrou, C., Dalemans, A.C., Schnyder, M., Losson, B., 2016. Prevalence of *Angiostrongylus vasorum* in southern Belgium, a coprological and serological survey. *Parasites & Vectors* 9, 533.
91. Liu, J., Schnyder, M., Willesen, J., Potter, A., Chandrashekar, R., 2017. Performance of the Angio Detect™ in-clinic test kit for detection of *Angiostrongylus vasorum* infection in dog samples from Europe. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* 7, 45–47.
92. Lurati, L., Deplazes, P., Hegglin, D., Schnyder, M., 2015. Seroepidemiological survey and spatial analysis of the occurrence of *Angiostrongylus vasorum* in Swiss dogs in relation to biogeographic aspects. *Veterinary Parasitology* volume 212, issues 3-4, 219-226.
93. Magi, M., Guardone, L., Dell'omodarme, M., Prati, M., Mignone, W., Torracca, B., Monni, G., Macchioni, F., 2010. *Angiostrongylus vasorum* in red foxes (*Vulpes vulpes*) and badgers (*Meles meles*) from Central and Northern Italy. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy* 20, 2.
94. Magi, M., Guardone, L., Prati, M.C., Mignone, W., Macchioni, F., 2015. Extraintestinal nematodes of the red fox *Vulpes vulpes* in north-west Italy. *Journal of Helminthology* volume 89 issue 4, 506-511.
95. Magi, M., Macchioni, F., Dell'Omardarme, M., Prati, M.C., Calderini, P., Gabrielli, S., Iori, A., Cancrini, G., 2009. Endoparasites of Red foxes (*Vulpes vulpes*) in central Italy. *Journal of Wildlife Diseases* volume 45, issue 3, 881-5.
96. Maksimov, P., Hermosilla, C., Taubert, A., Staubach, C., Sauter-Louis, C., Conraths, F.J., Vrhovec, M.G., Pantchev, N., 2017. GIS-supported epidemiological analysis on canine *Angiostrongylus vasorum* and *Crenosoma vulpis* infections in Germany. *Parasites & vector* 10, 108.
97. Martinez-Rondan, F., Ruiz de Ybanez, M., Lopez-Beceiro, A., Fidalgo, L., Berriatua, E., Lahat, L., Sacristan, I., Oleaga, A., Martinez-Carasco, C., 2019. Cardiopulmonary nematode infections in wild canids: Does the key lie on host-prey-parasite evolution? *Research in Veterinary Science* volume 126, 51-58.
98. McCarthy, G., Ferrand, M., De Waal, T., Zintl, A., Mcgrath, G., Bryne, W., O'Neill, E., 2016. Geographical distribution of *Angiostrongylus vasorum* in foxes (*Vulpes vulpes*) in the Republic of Ireland. *Parasitology* volume 143, 588-593.
99. Miljevic, M., Cabrilo, O.B., Simin, V., Cabrilo, B., Miljevic, J.B., Lalosevic, D., 2019. Significance of the red fox as a natural reservoir of intestinal zoonoses in Vojvodina, Serbia. *Acta veterinaria Hungarica* volume 67, issue 4, 562-572.
100. Miterpakova, M., Schnyder, M., Schaper, R., Hurnikova, Z., Cabanova, V., 2015. Serological survey for canine angiostrongylosis in Slovakia. *Helminthologia* volume 52, issue 3, 205-210. Doi: <https://doi.org/10.1515/helmin-2015-0034>.
101. Moeremans, I., Binst, D., Claerebout, E., Van de Maele, I., Daminet, S., 2011. Canine *Angiostrongylus vasorum*. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 80.
102. Morgan, E.R., Jefferies, R., Krajewski, M., Ward, P., Shaw, S.E., 2009. Canine pulmonary angiostrongylosis: The influence of climate on parasite distribution. *Parasitology International* 58, 406-410.
103. Morgan, E., Jefferies, R., van Otterdijk, L., McEniry, R., Allen, F., Bakewell, M., Shaw, S., 2010. *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs: Presentation and risk factors. *Veterinary Parasitology* 173, 255–261.
104. Morgan, E.R., Shaw, S., 2010. *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs: continuing spread and developments in diagnosis and treatment. *Journal of Small Animal Practice* 51, 616-621.
105. Morgan, E., Shaw, S.E., Brennan, S.F., De Waal, T.D., Jones, B.R., Mulcahy, G., 2005. *Angiostrongylus vasorum*: a real heartbreaker. *Trends in Parasitology* 21, 49-51.

106. Morgan, E.R., Tomlinson, A., Hunter, S., Nichols, T., Roberts, E., Fox, M.T., Taylor, M.A., 2008. *Angiostrongylus vasorum* and *Eucoleus aerophilus* in foxes (*Vulpes vulpes*) in Great Britain. *Veterinary Parasitology* 154, 48–57.
107. Mozzer, L.R., Coaglio, A.L., Dracz, R.M., Riberio, V.M.A., Lima, W.S., 2014. The development of *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) in the freshwater snail *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822). *Journal of Helminthology*. Doi: <https://doi.org/10.1017/S0022149X14000856>.
108. Mozzer, L.R., Lima, W.S., 2015. *Gallus gallus domesticus*: Paratenic host of *Angiostrongylus vasorum*. *Veterinary Parasitology* volume 2017, issues 1-2, 81-84.
109. Mylonakis, M.E., Koutinas, A.F., Liapi, M.V., 2001. A comparison of the prevalence of *Spirocerca lupi* in three groups of dogs with different life and hunting styles. *Journal of Helminthology* 75, 359-361.
110. Nicolle, A.P., Chetboul, V., Tessier-Vetzel, D., Samedrano, C.C., Aletti, E., Pouchelon, J.L., 2006. Severe pulmonary arterial hypertension due to *Angiostrongylus vasorum* in a dog. *Canadian Veterinary Journal* 47, 792-795.
111. Oliveira-Junior, S.D., Barçante, J.M.P., Barçante, T.A., Dias, S.R.C., Lima, W.S., 2006. Larval output of infected and re-infected dogs with *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) Kamensky, 1905. *Veterinary Parasitology* volume 141, issues 1-2, 101-106.
112. Papazahariadou, M., Founta, A., Papadopoulos, E., Chliounakis, S., Antoniadou-Sotiriadou, K., Theodorides, Y., 2007. Gastrointestinal parasites of shepherd and hunting dogs in the Serres Prefecture, Northern Greece. *Veterinary Parasitology* volume 148, issue 2, 170-173.
113. Patel, Z., Gill, A.C., Fox, M.T., Hermosilla, C., Backeljau, T., Breugelmans, K., Keevash, E., McEwan, C., Aghazadeh, M., Elson-Riggins, J.G., 2014. Molecular identification of novel intermediate host species of *Angiostrongylus vasorum* in Greater london. *Parasitology research* 113, 4363-4369.
114. Penagos-Tabares, F., Groß, K.M., Hirzmann, J., Hoos, C., Lange, M.K., Taubert, A., Hermosilla, C., 2020. Occurrence of canine and feline lungworms in *Arion vulgaris* in a park of Vienna: First report of autochthonous *Angiostrongylus vasorum*, *Aelurostrongylus abstrusus* and *Troglostrongylus brevior* in Austria. *Parasitology Research* volume 119, 327–331.
115. Philbey, A.W., 2013. Detection of *Angiostrongylus vasorum* in red foxes in Scotland. *Veterinary Record* 148.
116. Rajković-Janje, R., Marinculić, A., Bosnić, S., Benic, M., Vinkovic, B., Mihaljevic, Z., 2002. Prevalence and seasonal distribution of helminth parasites in red foxes (*Vulpes vulpes*) from the Zagreb County (Croatia). *Zeitschrift für Jagdwissenschaft* 48, 151–160.
117. Rha, J-Y., Mahony, O., 1999. Bronchoscopy in Small Animal Medicine: Indications, Instrumentation, and Techniques. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* Volume 14, Issue 4, 207-212.
118. Rosen, L., Ash, L.R., Wallace, G.D., 1970. Life history of the canine lungworm *Angiostrongylus vasorum* (Baillet). *American Journal of Veterinary Research* 31, 131-142.
119. Rosenlund, P., Boserup, F., Monrad, J., 1991. *Angiostrongylus vasorum* in the anterior chamber of the eye in dogs. *Dansk Vet Tidsskrift* 12, 451–453.
120. Ryz, A., 2017. The simple methods for extraction of nematodes from plants, wood, insects and soil, with additional description how to keep extracted nematodes alive for a long time. *Parazitologiya* volume 51 issue 1, 57-67.
121. Saeed, I., Maddox-Hyttel, C., Monrad, J., Kapel, C.M., 2006. Helminths of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Denmark. *Veterinary Parasitology* 139, 168–79.
122. Santoro, M., D'Alessio, N., Di Prisco, F., Neola, B., Restucci, B., Pagano, T.B., Veneziano, V., 2015. *Angiostrongylus vasorum* infection in red foxes (*Vulpes vulpes*) in southern Italy. *Acta Parasitologica* volume 60, 356-359.
123. Sarre, C., Willems, A., Daminet, S., Claerebout, E., 2015. Autochthonous *Angiostrongylus vasorum* infection in a Border collie in Belgium. *Vlaams Diergeneeskundig tijdschrift* 84, 243.
124. Sayre, R., Karagulle, D., Frye, C., Boucher, T., Wolff, N.H., Breyer, S., Wright, D., Martin, M., Butler, K., Van Graafeiland, K., Touval, J., Sotomayor, L., McGowan, J., Game, E.T., Possingham,

- H., 2020. An assessment of the representation of ecosystems in global protected areas using new maps of World Climate Regions and World Ecosystems. *Global Ecology and Conversation* 21, e00860.
125. Skirnisson, K., Pálsson, G.R., & Eydal, M., 2018. Parasites of dogs and cats imported to Iceland during 1989–2017 with remarks on parasites occurring in the native populations. *Icelandic Agricultural Sciences*, 31, 49-63.
 126. Schnyder, M., 2015. Slugs and *Angiostrongylus vasorum* – how much do we know? *Veterinary Record* 177, 44-45.
 127. Schnyder, M., Bilbrough, G., Hafner, C., Schaper, R., 2017. *Angiostrongylus vasorum*, “The French heartworm”: a serological survey in dogs from France introduced by a brief historical review. *Parasitology Research* 116 (Suppl. 1), 31–40.
 128. Schnyder, M., Fahrion, A., Ossent, P., Kohler, L., Webster, P., Heine, J., Deplazes, P., 2009. Larvicidal effect of imidacloprid/moxidectin spot-on solution in dogs experimentally inoculated with *Angiostrongylus vasorum*. *Veterinary Parasitology* 166, 326-332.
 129. Schnyder, M., Maurelli, M.P., Morgoglione, M.E., Kohler, L., Deplazes, P., Torgerson, P., Cringoli, G., Rinaldi, L., 2011. Comparison of faecal techniques including FLOTAC for copromicroscopic detection of first stage larvae of *Angiostrongylus vasorum*. *Parasitology Research* 109, 63-69.
 130. Schnyder, M., Schaper, R., Bilbrough, G., Morgan, E.R., Deplazes, P., 2013a. Seroepidemiological survey for canine angiostrongylosis in dogs from Germany and the UK using combined detection of *Angiostrongylus vasorum* and specific antibodies. *Parasitology* volume 140, issue 11, 1442 – 1450.
 131. Schnyder, M., Schaper, R., Lukacs, Z., Hornok, S., Farkas, R., 2015. Combined Serological Detection of Circulating *Angiostrongylus vasorum* Antigen and Parasite-specific Antibodies in Dogs from Hungary. *Parasitology Research* 114, 145–154.
 132. Schnyder, M., Schaper, R., Pantchev, N., Kowalska, D., Szwedko, A., Deplazes, P., 2013b. Serological Detection of Circulating *Angiostrongylus vasorum* Antigen and Parasite-Specific Antibodies in Dogs from Poland. *Parasitology Research* 112, 109-117.
 133. Schnyder, M., Stebler, K., Naucke, T., Lorentz, S., Deplazes, P., 2014. Evaluation of a rapid device for serological in-clinic diagnosis of canine angiostrongylosis. *Parasites & Vectors* 7, 72.
 134. Schnyder, M., Tanner, I., Webster, P., Barutzki, D., Deplazes, P., 2011. 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, 152-158.
 135. Schucan, A., Schnyder, M., Tanner, I., Barutzki, D., Traversa, D., Deplazes, P., 2012. Detection of specific antibodies in dogs infected with *Angiostrongylus vasorum*. *Veterinary Parasitology* volume 185 issues 2-4, 216-224.
 136. Schug, K., Krämer, F., Schaper, R., Hirzmann, J., Failing, K., Hermosilla, C., Taubert, A., 2018. Prevalence survey on lungworm (*Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma vulpis*, *Eucoleus aerophilus*) infections of wild red foxes (*Vulpes vulpes*) in central Germany. *Parasites & Vectors* volume 11, issue 1, 85.
 137. Shukullari, E., Hamel, D., Rapti, D., Phister, K., Visser, M., Winter, R., Rehbein, S., 2015. Parasites and vector-borne diseases in client-owned dogs in Albania. Intestinal and pulmonary endoparasite infections. *Parasitology Research* 114, 4579-4590.
 138. Simin, S., Kovic, L., Kuruca, L., Pavlovic, I., Savovic, M., Vesna, L., 2014. Moving the boundaries to the South-East: first record of autochthonous *Angiostrongylus vasorum* infection in a dog in Vojvodina province, northern Serbia. *Parasites & Vectors*, 7, 396.
 139. Soland, J., Bolt, G., 1996. Hypovolaemic shock after anthelmintic treatment of canine angiostrongylosis. *Journal of small animal practice* volume 37 issue 12, 594-596.
 140. Sreter, T., Szell, Z., Marucci, G., Pozio, E., Varga, I., 2003. Extraintestinal nematode infections of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Hungary. *Veterinary Parasitology* volume 115 issue 4, 329-334.

141. Stevanović, O., Dobrijević, M., Vujanić, D., Nedić, D., Ilić, T., & Trbojević, I. (2020). First report of autochthonous canine angiostrongylosis in Bosnia and Herzegovina. *Veterinarski Glasnik* volume 74, issue 1, 85-91.
142. Stevenson, M., 2008. Diagnostic tests. In: *An introduction to veterinary epidemiology*, EpiCentre, IVABS, Massey University, Palmerston North, Nieuw-Zeeland, 73-74.
143. Symeonidou, I., Gelasakis, A.I., Arsenopoulos, K.V., Schaper, R., Papadopoulos, E., 2017. Regression models to assess the risk factors of canine gastrointestinal parasitism. *Veterinary Parasitology* volume 248, 54-61.
144. Taubert, A., Pantchev, N., Vrhovec, M.G., Bauer, C., Hermosilla, C., 2009. Lungworm infections (*Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma vulpis*, *Aelurostrongylus abstrusus*) in dogs and cats in Germany and Denmark in 2003–2007. *Veterinary Parasitology*, 159, 175-180.
145. Taylor, C.S., Gato, R.G., Learmount, J., Aziz, N.A., Montgomery, C., Rose, H., Coulthwaite, C.L., McGarry, J.W., Formans, D.W., Allen, S., Wall, R., Morgan, E.R., 2015. Increased prevalence and geographic spread of the cardiopulmonary nematode *Angiostrongylus vasorum* in fox populations in Great Britain. *Parasitology* volume 142, issue 9, 1190–5.
146. Tebb, A., Johnson, V., Irwin, P., 2007. *Angiostrongylus vasorum* (French heartworm) in a dog imported into Australia. *Australian Veterinary Journal*, 85, 23-28.
147. Thompson, M.S., 2007. Systemic approach to differential diagnosis, section I cardiopulmonary disorders. In: *Small Animal Medical differential diagnosis third edition*. Elsevier, St. Louis, Missouri (MO), USA, 94.
148. Tieri, E., Pomilio, F., Di Francesco, G., Saletti, M.A., Totaro, P., Troilo, M., Menna, S., Tampieri, M.P., Morelli, D., 2011. *Angiostrongylus vasorum* in 20 dogs in the province of Chieti, Italy. *Veterinaria Italiana* volume 47, issue 1, 77-88.
149. Tiskina, V., Lindqvist, E.L., Blomqvist, A.C., Orav, M., Stensvold, C.R., Jokelainen, P., 2019. Autochthonous *Angiostrongylus vasorum* in Finland. *Veterinary Record* volume 6, issue 1, e000314.
150. Tolnai, Z., Széll, Z., Sréter, T., 2015. Environmental determinants of the spatial distribution of *Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma vulpis* and *Eucoleus aerophilus* in Hungary. *Veterinary Parasitology* volume 207 Issues 3-4, 355-358.
151. Traversa, D., Di Cesare, A., Milillo, P., Iorio, R., Otranto, D., 2008. *Aelurostrongylus abstrusus* in a feline colony from central Italy: clinical features, diagnostic procedures and characterization. *Parasitology Research* 103, 1191–1196.
152. Traversa, D., Di Cesare, A., Conboy, G., 2010. Canine and feline cardiopulmonary parasitic nematodes in Europe: emerging and underestimated. *Parasites & Vectors* volume 3, 62.
153. Traversa, D., Di Cesare, A., Meloni, S., Frangipane di Regalbono, A., Milillo, P., Pampurini, F., Venco, L., 2013. Canine angiostrongylosis in Italy: occurrence of *Angiostrongylus vasorum* in dogs with compatible clinical pictures. *Parasitology Research* volume 112, 2473–2480.
154. Traversa, D., Guglielmini, C., 2008. Feline aelurostrongylosis and canine angiostrongylosis: A challenging diagnosis for two emerging verminous pneumonia infections. *Veterinary Parasitology* volume 157, Issues 3–4, 163-174.
155. Traversa, D., Torbidone, A., Malatesta, D., Guglielmini, C., 2008. Occurrence of fatal canine *Angiostrongylus vasorum* infection in Italy. *Veterinary Parasitology*, 152, 162-166.
156. Trevethan, R., 2017. Sensitivity, specificity, and predictive values: foundations, pliabilitys and pitfalls in research and practice. *Frontiers in public health* <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00307>.
157. Van de Putte, N., 2015. Evaluatie van de Mini-FLOTAC methode voor detectie van worminfecties bij huisdieren. Masterproef, Master of Veterinary Medicine in de Diergeneeskunde, faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, België.
158. Van Doorn, D.C.K., van de Sande, A.H., Nijse, E.R., Eysker, M; Ploeger, H.W., 2009. Autochthonous *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs in The Netherlands. *Veterinary Parasitology* volume 162 issues 1-2, 163-166.
159. Webster P., Monrad J., Kapel C.M.O., Kristensen A.T., Jensen A.L., Thamsborg S.M., 2017. The effect of host age and inoculation dose on infection dynamics of *Angiostrongylus vasorum* in red foxes (*Vulpes vulpes*). *Parasites & Vectors* 10, 4.10.1186/s13071-016-1940-4.

160. Willesen, J., Kristensen, A., Jensen, A., Heine, J., Koch, J., 2007. 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.
161. Willis, J.C., Bohan, D.A., Choi, Y.H., Conrad, K.F., Semenov, M.A., 2006. Use of an individual-based model to forecast the effect of climate change on the dynamics, abundance and geographical range of the pest slug *Deroceras reticulatum* in the UK. *Global Change Biology* volume 12, issue 9, 1643-1657.
162. Woolsey I.D., Webster P., Thamsborg S.M., Schnyder M., Monrad J., Kapel C.M.O., 2017. The influence of repeated inoculations with the lung and heartworm nematode *Angiostrongylus vasorum* in the red fox (*Vulpes vulpes*) on larval excretion and worm burden. *International Journal for Parasitology* volume 6, issue 3, 139-145.