



Rijksinstituut voor Volksgezondheid  
en Milieu  
*Ministerie van Volksgezondheid,  
Welzijn en Sport*

## **Zoönotische pathogenen bij de wasbeerhond en wasbeer in Nederland**

RIVM Briefrapport 2017-0200  
M. Maas | J. Mulder | J.W.B. van der Giessen





Rijksinstituut voor Volksgezondheid  
en Milieu  
*Ministerie van Volksgezondheid,  
Welzijn en Sport*

## **Zoönotische pathogenen bij de wasbeerhond en wasbeer in Nederland**

RIVM Briefrapport 2017-0200  
M. Maas | J. Mulder | J.W.B. van der Giessen

## Colofon

© RIVM 2018

Delen uit deze publicatie mogen worden overgenomen op voorwaarde van bronvermelding: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), de titel van de publicatie en het jaar van uitgave.

DOI 10.21945/RIVM-2017-0200

M. Maas (projectleider), RIVM  
J. Mulder (auteur), Bureau Mulder-Natuurlijk  
M. Montizaan (auteur), Dutch Wildlife Health Centre  
W.D.C. van Dam-Deisz (auteur), RIVM  
R.I. Jaarsma (auteur), RIVM  
K. Takumi (auteur), RIVM  
A. van Roon (auteur), RIVM  
F.F.J. Franssen (auteur), RIVM  
J.W.B. van der Giessen (auteur), RIVM

### Contact:

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM)  
Centrum Infectieziektenbestrijding (CIb)  
Centrum Zoönosen en Omgevingsmicrobiologie (Z&O)  
Antonie van Leeuwenhoeklaan 9,  
postbus 1  
3720 BA Bilthoven

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit, BuRO, Dhr. S. Smolders, opdrachtnummer 60006965.

Dit is een uitgave van:

**Rijksinstituut voor Volksgezondheid  
en Milieu**

Postbus 1 | 3720 BA Bilthoven  
Nederland  
[www.rivm.nl](http://www.rivm.nl)

## Publiekssamenvatting

### Zoönotische pathogenen bij de wasbeerhond en wasbeer in Nederland

De wasbeerhond en de wasbeer worden in Nederland steeds vaker waargenomen, vooral in het oostelijke grensgebied. De komst van nieuwe diersoorten als deze kan ziekteverwekkers (her)introduceren of invloed hebben op de mate waarin reeds aanwezige ziekteverwekkers voorkomen. Zo leggen wasbeerhonden grote afstanden af en kunnen ze zich in meerdere leefomgevingen handhaven.

Zowel wasbeerhonden als wasberen kunnen ziekteverwekkers bij zich dragen waar mensen ziek van kunnen worden. Bij onderzoek in 2014-2015 werd bij één van negen onderzochte wasbeerhonden *Trichinella spiralis* gevonden en bij één wasbeerhond *Echinococcus multilocularis*. Daarnaast is bij twee wasberen, die eind 2014 dood werden gevonden in de omgeving van Doetinchem, *Baylisascaris procyonis* aangetoond. Daarom heeft het RIVM in 2016-2017 12 wasbeerhonden en 5 wasberen onderzocht om meer inzicht te krijgen in de mate waarin een aantal ziekteverwekkers voorkomt: *Echinococcus multilocularis* (vossenlintworm), *Trichinella* spp. en *Francisella tularensis* bij wasbeerhonden en *Baylisascaris procyonis* (wasberenspoelworm) bij wasberen.

Vossenlintworm, *Trichinella* spp. en *Francisella tularensis* zijn niet gevonden. Bij één wasbeer is *Baylisascaris procyonis* aangetroffen. De wasbeer was afkomstig uit Limburg. Het is nog onduidelijk of de wasberen die worden gevonden in Nederland uit wilde populaties komen of dat ze ontsnapte of losgelaten huisdieren zijn. Dit maakt het lastig om de vondst van *Baylisascaris procyonis* in Limburg (Elsloo) te duiden.

Bij besmette wasberen worden spoelwormeieren via de ontlasting uitgescheiden in de omgeving, waar zij lange tijd kunnen overleven. Wanneer mensen deze eieren binnenkrijgen, ontwikkelen zich larven die zich door het lichaam kunnen verplaatsen naar onder andere de hersenen en dan neurologische klachten kunnen veroorzaken. Die kans lijkt nu nog klein, maar meer inzicht in de verspreiding van besmette wasberen is van groot belang om een goede risico-inschatting te maken.

Kernwoorden: wasbeerhonden; wasberen; vossenlintworm; *Echinococcus multilocularis*; *Trichinella*; *Francisella tularensis*; *Baylisascaris procyonis*; epidemiologie



## Synopsis

### **Zoonotic pathogens in raccoon dogs and raccoons in the Netherlands**

Sightings of raccoon dogs and raccoon occur more frequently the last decade, especially in the eastern part of the Netherlands. New species like these can (re-)introduce pathogens or change the epidemiology of endemic pathogens. For example, raccoon dogs are known to roam long distances and can live in a variety of habitats, facilitating spread of pathogens.

Both raccoon dogs and raccoons can carry infectious pathogens that can cause disease in humans. In a study performed in 2014-2015, one out of nine raccoon dogs tested positive for *Trichinella spiralis* and one for *Echinococcus multilocularis*. Two raccoons, found dead in 2014 in the area of Doetinchem, tested positive for *Baylisascaris procyonis*. Therefore, the RIVM examined in 2016-2017 12 raccoon dogs and five raccoons to gain insight in the occurrence of various pathogens: *Echinococcus multilocularis* (fox tapeworm), *Trichinella* spp. and *Francisella tularensis* in raccoon dogs and *Baylisascaris procyonis* in raccoons.

The fox tapeworm, *Trichinella* spp. and *Francisella tularensis* were not detected. *Baylisascaris procyonis* was found in one raccoon. This raccoon originated from Limburg. It is unclear whether the raccoons that are seen in the Netherlands originate from wild populations, or whether they are released or escaped pet animals. Therefore, it is difficult to make statements about the finding of *Baylisascaris procyonis* in Limburg.

*Baylisascaris procyonis* eggs are spread in the environment by infected raccoons through the feces. The eggs can survive for long periods in the environment. When humans ingest these eggs, larvae develop that can spread through the body, including the brain where they can cause neurologic symptoms. This chance seems currently small, but insight in the spread of infected raccoons is important for a good risk-assessment.

Keywords: raccoon dog; Raccoon; *Echinococcus multilocularis*; *Trichinella*; *Francisella tularensis*; *Baylisascaris procyonis*; epidemiology





## Inhoudsopgave

|          |   |
|----------|---|
| <b>1</b> | <b>Introductie — 9</b>                  |
| 1.1      | De wasbeerhond — 9                      |
| 1.2      | De wasbeer — 9                          |
| 1.3      | <i>Echinococcus multilocularis</i> — 9  |
| 1.4      | <i>Trichinella</i> spp. — 10            |
| 1.5      | <i>Francisella tularensis</i> — 10      |
| 1.6      | <i>Baylisascaris procyonis</i> — 11     |
| 1.7      | Huidig onderzoek — 11                   |
| <b>2</b> | <b>Materiaal en Methoden — 13</b>       |
| 2.1      | De wasbeerhonden en wasberen — 13       |
| 2.2      | Sectie en sampleverzameling — 13        |
| 2.3      | Parasitologisch onderzoek — 14          |
| <b>3</b> | <b>Resultaten — 15</b>                  |
| 3.1      | Wasbeerhonden — 15                      |
| 3.1.1    | <i>Echinococcus multilocularis</i> — 15 |
| 3.1.2    | <i>Trichinella</i> spp. — 16            |
| 3.1.3    | Tularemie — 16                          |
| 3.2      | Wasberen — 16                           |
| 3.2.1    | <i>Baylisascaris procyonis</i> — 17     |
| <b>4</b> | <b>Discussie — 19</b>                   |
| <b>5</b> | <b>Referenties — 21</b>                 |



## 1 Introductie

De wasbeerhond (*Nyctereutes procyonides*) en de wasbeer (*Procyon lotor*) worden in Nederland steeds vaker waargenomen, met name in het oostelijke grensgebied. Beide dieren kunnen ziekteverwekkers bij zich dragen die ook een risico zijn voor de mens (zoönotische pathogenen). Zoönotische pathogenen waarbij de wasbeerhond een rol in de transmissie kan spelen zijn in 2014 geprioriteerd, waarbij de parasieten *Trichinella spiralis* en *Echinococcus multilocularis* en de bacterie *Francisella tularensis* het hoogste scoorden (Van den End et al., 2014). Bij wasberen kan de wasberenspoelworm *Baylisascaris procyonis* voorkomen.

### 1.1 De wasbeerhond

De wasbeerhond (*Nyctereutes procyonoides*) behoort tot de familie van hondachtigen (*Canidae*) en heeft zijn natuurlijke verspreidingsgebied in het verre oosten van Azië. Tussen 1928 en 1957 werden duizenden wasbeerhonden als jachtdier uitgezet in de voormalige Sovjet-Unie, voornamelijk ten westen van de Oeral. Van daaruit heeft de soort zich in Europa verspreid. Door zijn vermogen in veel soorten habitats te kunnen leven, zijn omnivore dieet, hoge reproductiviteit en verspreidingsvermogen kan deze soort zich in relatief veel gebieden vestigen. In 2012 en 2013 is in Nederland voortplanting van de wasbeerhond geconstateerd (Mulder, 2013a; Meijer and Klop, 2014). De verwachting is dat de soort zich verder over het land zal verspreiden (Mulder, 2013b).

### 1.2 De wasbeer

De wasbeer (*Procyon lotor*) behoort tot de familie van kleine beren (*Procyonidae*). Het natuurlijke verspreidingsgebied van de wasbeer is Noord- en Midden-Amerika. In de jaren '30 en '40 van de twintigste eeuw zijn wasberen geïmporteerd naar Duitsland, waar de populaties zich explosief hebben ontwikkeld. De oorsprong van de Duitse populatie wasberen is vooral terug te voeren naar twee startpopulaties, te weten in de deelstaten Hessen en Brandenburg, aangevuld met ontsnapte/losgelaten huisdieren (Fischer et al., 2015). De Hessen-populatie heeft zich inmiddels tot aan de Nederlandse grens uitgebreid. Momenteel komt de wasbeer incidenteel voor in het oosten van Nederland; zeer recentelijk is een waarneming geweest van een ouderdier met vier jongen in Limburg (<https://waarneming.nl/waarneming/view/142671512>). In Nederland is op basis van de ervaringen in de Duitse grensstreek een groeisnelheid van circa 12 tot 20% te verwachten na het ontstaan van gevestigde populaties (Van der Grift et al., 2016).

### 1.3 *Echinococcus multilocularis*

*E. multilocularis* (vossenlintworm) is een cestode van 1 tot 4,5 mm groot en leeft in de dunne darm van zijn carnivore eindgastheer. In Europa is de belangrijkste eindgastheer de vos (*Vulpes vulpes*), maar ook andere carnivoren zoals de wasbeerhond, hond (*Canis familiaris*), wolf (*Canis lupus*) en huiskat (*Felis catus*) kunnen eindgastheer zijn.

Eieren van de vossenlintworm worden met de feces uitgescheiden en kunnen door tussengastheren, vooral knaagdieren, worden opgenomen (Eckert and Deplazes, 2004). Uit experimentele infectieproeven blijkt dat wasbeerhonden gemiddeld even veel eieren uitscheiden als de vos, en dat de uitscheiding bij wasbeerhonden langer blijft bestaan (Kapel et al., 2006). Bij de mens kan inname van de eieren leiden tot de ernstige ziekte alveolaire echinokokkose (AE) (Eckert and Deplazes, 2004). De incubatietijd van AE is erg lang (5-15 jaar). Zonder juiste behandeling overlijdt 90% van de patiënten binnen tien jaar (Kern et al., 2003). In Nederland wordt *E. multilocularis* aangetroffen in Oost-Groningen en Limburg, waar de vos tot nu toe de belangrijkste verspreider van de lintworm is (van der Giessen et al., 1999; van der Giessen et al., 2004).

Onderzoek naar *E. multilocularis* in wasbeerhonden in Polen en Litouwen gaf een prevalentie van respectievelijk 8% (n=25) en 8,2% (n=85) (Machnicka et al., 2003; Bružinskaitė-Schmidhalter et al., 2012). In onderzoek van 2000-2008 in Brandenburg, Duitsland, waar de wasbeerhonden vanaf de jaren zestig sporadisch en vanaf begin jaren negentig regelmatig waargenomen worden, werden prevalenties gevonden variërend van 6-12% (Drygala et al., 2008; Schwarz et al., 2011). Onderzoek in dezelfde regio in 2001 toonde een prevalentie aan van 2,7% (N=74) (Thiess et al., 2001). In Litouwen lag de prevalentie bij vossen hoger dan bij wasbeerhonden, wat toegeschreven werd aan een verschillende ecologie (bv verschillend dieet) en gevoeligheid van de diersoorten (Bruzinskaite et al., 2009).

#### 1.4 ***Trichinella* spp.**

De nematode *Trichinella spiralis* is de bekendste van de 12 *Trichinella* species en komt wereldwijd voor bij varkens, paarden of wild (o.a. de wasbeerhond, wild zwijn, vos, das). Omnivore of carnivore dieren en de mens kunnen besmet raken door het eten van met *Trichinella* geïnfecteerde (knaag)dieren of karkassen, en de mens ook door het eten van niet goed verhit vlees (Dupouy-Camet, 2000).

De prevalentie van *Trichinella* spp. bij wasbeerhonden in studies in verschillende Europese landen varieerde van 5,8% in Duitsland (N=86) (Thiess, 2004), 29% (N=87) tot 46% (N=109) in twee regio's in Finland (Oivanen et al., 2002) en 32,5% tot 42% in Litouwen, Letland en Estland (Malakauskas et al., 2007). In Finland was ruim 28% (N=662) van de wasbeerhonden positief voor *Trichinella* spp (gemiddeld 40 larven per gram spierweefsel), tegenover 18,7% (N=1010) van de vossen (gemiddeld 9.5 larven per gram spierweefsel) (Airas et al., 2010). In Duitsland vormen de wilde zwijnen het grootste reservoir voor *Trichinella* spp., gevolgd door de wasbeerhond en de vos. Het vermoeden is dat in de regio Mecklenburg–Vorpommern de stijging van de prevalentie van *Trichinella* spp. onder wilde zwijnen sinds 2005 toegeschreven kan worden aan de enorme groei die de populatie wasbeerhonden daar gelijktijdig heeft doorgemaakt (Pannwitz et al., 2010).

#### 1.5 ***Francisella tularensis***

De bacterie *Francisella tularensis* komt wijdverspreid voor in zoogdieren, vogels en in de omgeving (water en modder). De huidige verspreiding van *Francisella tularensis* in Nederland is onzeker. *F. tularensis* is voor

veel diersoorten pathogeen en kan bij mensen de ziekte tularemie veroorzaken. Infectie kan plaatsvinden via de huid, slijmvliezen, luchtwegen en het maagdarmkanaal. Symptomen variëren van huidzweren tot een levensbedreigende longontsteking (Dennis et al., 2001; World Health Organization, 2007; Reese et al., 2010). In Nederland was tot voor kort tularemie voor het laatst in 1953 aangetroffen, maar vanaf 2011 is tularemie meerder keren aangetoond bij zowel dieren als mensen.

Door contact met of het eten van besmette hazen of knaagdieren of het in contact komen met besmette vectoren, kan de wasbeerhond geïnfecteerd worden met deze bacterie en zo een rol spelen in de verdere introductie en verspreiding van tularemie in Nederland. In Japan is met een cELISA een seroprevalentie van 14,3% aangetoond (n=21, MA: 9,5%) (Sharma et al., 2014). In Duitsland (Brandenburg) is bij wasbeerhonden een seroprevalentie van 12,8% gevonden met behulp van een ELISA en 6,4% na confirmatie met behulp van de Western blot. In deze studie werd een hogere prevalentie gevonden dan altijd werd aangenomen en waren zowel vossen als wasbeerhonden goede indicatoren voor tularemie (Kühn et al., 2013).

1.6

### ***Baylisascaris procyonis***

De spoelworm *B. procyonis* komt voor bij wasberen. Infectie van mensen door opname van eieren kan resulteren in ernstige of zelfs fatale neurologische klachten.

De prevalenties van *B. procyonis* bij wasberen van verschillende gebieden in Duitsland lopen uiteen van 0% (N=762) in Brandenburg (Schwarz et al., 2015) tot 71.4% (N=185) in de Hessen-populatie (Gey 1998, geciteerd in (Beltrán-Beck et al., 2012)). Bij onderzoek van wasberenfeces in het tussenliggende gebied Bernburg, werd een prevalentie gevonden van 45% (N=47), wat suggereert dat die populatie dus ook qua *B. procyonis* prevalentie tussen de twee startpopulaties in zit (Helbig, 2011). In Oostenrijk werd geen *B. procyonis* gevonden (N=9) (Duscher et al., 2017). In Polen was bij 2% (N=154) van de wasberenfecesmonsters *B. procyonis* eieren aangetroffen (Karamon et al., 2014). In Denemarken was 11% (N=18) van de wasberen positief (Al-Sabi et al., 2015).

1.7

### **Huidig onderzoek**

In 2014-2015 heeft het RIVM negen wasbeerhonden onderzocht, waarvan bij één wasbeerhond *Trichinella spiralis* is gevonden, en bij één wasbeerhond *Echinococcus multilocularis* (Maas et al., 2016a). Daarnaast heeft het Dutch Wildlife Health Centre (DWHC) bij twee wasberen, die eind 2014 dood werden gevonden in de omgeving van Doetinchem, *Baylisascaris procyonis* aangetoond, wat moleculair is bevestigd door het RIVM.

Naar aanleiding van deze resultaten is in 2016 het onderzoek naar zoönotische pathogenen bij wasbeerhonden en wasberen voortgezet. Het doel van dit onderzoek was om meer inzicht te krijgen in het voorkomen van *E. multilocularis*, *Trichinella* spp. en *Francisella tularensis* in wasbeerhonden en *B. procyonis* in wasberen in Nederland.



## 2 Materiaal en Methoden

### 2.1 De wasbeerhonden en wasberen

De kadavers van wasbeerhonden en wasberen zijn verzameld in samenwerking met het DWHC en Bureau Mulder-natuurlijk. Het DWHC heeft een oproep gestuurd aan verschillende natuurorganisaties om dode of geschoten wasbeerhonden en wasberen te melden bij het DWHC. Deze oproep is in februari 2016 verzonden naar meer dan 50 verschillende natuurorganisaties/netwerken (zie bijlage 1). Onder andere de Zoogdiervereniging, de Dassenwerkgroep Brabant, NOJG, WBE Susteren Graetheide, FBE Zeeland, KNVvN, FBE Gelderland, tijdschrift Jacht&beheer (NOJG) en vakblad Natuur, Bos en Landschap (Stichting VNBL) hebben er toen ook specifiek aandacht aan besteed in bijvoorbeeld hun tijdschriften. In september 2016 is een herhaling van de oproep gestuurd naar dezelfde groep. In maart en september van 2017 is de oproep herhaald, samen met de terugkoppeling van voorlopige resultaten van het onderzoek.

Daarnaast is in de communicatie voor het RIVM vossenonderzoek, dat in 2016-2017 is uitgevoerd in Groningen en Drenthe, ook aan de jagers gevraagd om kadavers van wasbeerhonden en wasberen op te sturen voor onderzoek.

Verse kadavers die via het DWHC werden gemeld, zijn bij het DWHC onderzocht, waarbij samples werden verzameld voor deze studie. Niet-verse kadavers en reeds bevroren kadavers zijn naar het RIVM vervoerd en minimaal een week ingevroren bij  $-80^{\circ}\text{C}$  om eventueel aanwezige eieren van *E. multilocularis* te inactiveren. Na deze periode hebben de secties plaatsgevonden bij het RIVM.

Het doel was om 10 wasbeerhonden en 10 wasberen te onderzoeken.

Tenslotte zijn in 2016 en 2017 ook wasbeerhondenkeutels verzameld door Bureau Mulder-natuurlijk. Deze zijn minimaal een week ingevroren bij  $-80^{\circ}\text{C}$  om eventueel aanwezige eieren van *E. multilocularis* te inactiveren en daarna door het RIVM moleculair onderzocht op *E. multilocularis* met de methode die ook is gebruikt voor onderzoek van colon inhoud (zie onder).

### 2.2 Sectie en sampleverzameling

Tijdens de sectie zijn verschillende kenmerken genoteerd, o.a. geslacht, schatting leeftijd (jonger of ouder dan één jaar, geschat op basis van gebit, uiterlijk en reproductiesysteem) en doodsoorzaak.

Voor onderzoek naar de genoemde pathogenen zijn de volgende materialen verzameld bij de wasbeerhonden:

1. *Echinococcus multilocularis*
  - Duodenum, jejunum, ileum (dunne darm; afgebonden)
  - Colon inhoud (feces)
2. *Trichinella* spp.
  - Voorpoot musculatuur (*musculus carpi ulnaris*)
  - Tong (inclusief tongbasis)
3. *Francisella tularensis*

- Lever
- Milt

Bij de wasbeer is dunne darm verzameld ten behoeve van onderzoek naar *Baylisascaris procyonis*.

De afgenomen samples werden bewaard in de koeling (4°C) of vriezer (-20°C) tot het betreffende onderzoek plaatsvond.

### 2.3 Parasitologisch onderzoek

#### *Echinococcus multilocularis*

De intestinal scraping technique (IST) is uitgevoerd op de dunne darm, zoals eerder beschreven (Eckert et al., 2001). Daarnaast is colon inhoud moleculair geanalyseerd met behulp van een magnetic capture DNA extractie gevolgd door Q-PCR (Maas et al., 2016b).

#### *Trichinella* spp.

Op de voorpootmusculatuur en de musculatuur van de tong is de kunstmatige digestiemethode uitgevoerd zoals eerder beschreven (Franssen et al., 2014). Er is steeds minimaal 20 gram voorpootmusculatuur onderzocht. De vleesdigesten werden microscopisch geanalyseerd.

#### *Francisella tularensis*

Er is DNA geëxtraheerd van de milt en/of de lever van de wasbeerhond met behulp van de DNeasy Blood & Tissue kit van Qiagen volgens het protocol *Animal Tissues (Spin-Column Protocol)*. Vervolgens zijn de samples geanalyseerd door middel van Q-PCR, waarbij specifiek werd gekeken naar het FopA gen en het ISFtu2 gen. *Bacillus thuringiensis*, een interne controle, werd meegenomen in elke reactie om te kijken of er sprake was van remming in de monsters.

#### *Baylisascaris procyonis*

De dunne darm van de wasbeer is onderzocht door overlangs open te knippen en de geopende darm systematisch macroscopisch te controleren op het voorkomen van de wasbeerspoelworm.

Spoelwormen die bij macroscopisch onderzoek zijn gevonden, zijn vervolgens met behulp van moleculair onderzoek (PCR en sequentie analyse) bevestigd (Franssen et al., 2013).



### 3 Resultaten

#### 3.1 Wasbeerhonden

In totaal zijn 12 wasbeerhonden onderzocht. Hiervan waren er 10 vermoedelijk verkeersslachtoffer en twee afschot. Vijf dieren waren mannelijk. Er waren zes adulte dieren, en van één dier kon door het ontbreken van de kop geen goede schatting worden gemaakt van de leeftijd. Alle wasbeerhonden hadden een goede lichamelijke conditie. Het merendeel van de wasbeerhonden was afkomstig uit Noordoost-Nederland, maar ook één uit Flevoland en één uit de provincie Utrecht (Tabel 1).

Tabel 1: Resultaten onderzochte wasbeerhonden

| Dier nr. | Herkomst   | Periode        | Geslacht <sup>1</sup> | Leeftijd <sup>2</sup> | <i>E. multilocularis</i> |     | <i>Trichinella</i> spp. | <i>F. tularensis</i> |
|----------|------------|----------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------|-----|-------------------------|----------------------|
|          |            |                |                       |                       | Microscopie              | PCR |                         |                      |
| W021     | Drenthe    | augustus 2016  | M                     | J                     | neg <sup>4</sup>         | neg | neg                     | neg                  |
| W022     | Groningen  | februari 2016  | V                     | A                     | neg                      | neg | neg                     | neg                  |
| W023     | Friesland  | september 2016 | M                     | J                     | neg                      | neg | neg                     | neg                  |
| W024     | Drenthe    | september 2016 | M                     | J                     | neg                      | neg | neg                     | neg                  |
| W025     | Overijssel | mei 2016       | M                     | A                     | neg                      | neg | neg                     | neg                  |
| W026     | Friesland  | januari 2017   | V                     | J                     | neg                      | neg | neg                     | neg                  |
| W027     | Friesland  | februari 2017  | V                     | A                     | neg                      | neg | neg                     | neg                  |
| W028     | Flevoland  | april 2017     | V                     | A                     | neg                      | neg | neg                     | neg                  |
| W029     | Utrecht    | maart 2017     | V                     | A                     | neg                      | neg | neg                     | neg                  |
| W030     | Flevoland  | juli 2017      | V                     | A                     | neg                      | neg | neg                     | neg                  |
| W031     | Groningen  | september 2017 | V                     |                       | neg                      | neg | neg                     | neg                  |
| W032     | Groningen  | september 2017 | M                     | J                     | neg                      | neg | neg                     | neg                  |

<sup>1</sup> M = Mannelijk, V = Vrouwelijk

<sup>2</sup> A = Adult, J = Juveniel. Van één dier miste de kop en was leeftijdsschatting niet mogelijk.

<sup>4</sup> neg= negatief; pos= positief

Van drie wasbeerhonden is feces verzameld. Deze kwamen uit

- Bantega (april 2016)
- Onlanden (april 2016)
- Gieten (jan 2017)

##### 3.1.1 *Echinococcus multilocularis*

Er zijn geen wasbeerhonden met *E. multilocularis* gevonden, noch met de microscopie, noch met de PCR (Tabel 1).

De drie fecesmonsters waren alledrie negatief voor *E. multilocularis*.

### 3.1.2 *Trichinella* spp.

Bij het parasitologisch onderzoek werden geen wasbeerhonden met *Trichinella* spp. gevonden (Tabel 1).

### 3.1.3 *Tularemie*

Er zijn geen wasbeerhonden positief gevonden voor *F. tularensis*.



Figuur 1. Overzicht vindlocaties van de wasbeerhonden.

## 3.2 Wasberen

In totaal zijn vijf wasberen onderzocht. Allen waren verkeersslachtoffer en ze waren in goede lichamelijke conditie. Vier hiervan waren mannelijk, van één was het geslacht onbekend. Drie wasberen waren afkomstig uit de provincie Limburg, één uit Noord-Brabant en één uit Gelderland (Tabel 2).

Tabel 2. Resultaten onderzochte wasberen.

| Dier nr. | Herkomst      | Periode       | Geslacht <sup>1</sup> | Leeftijd <sup>2</sup> | B. procyonis |
|----------|---------------|---------------|-----------------------|-----------------------|--------------|
| WB14     | Limburg       | oktober 2016  | M                     | A                     | negatief     |
| WB15     | Limburg       | oktober 2016  | onbekend              | A                     | positief     |
| WB16     | Noord-Brabant | februari 2016 | M                     | A                     | negatief     |
| WB17     | Gelderland    | maart 2017    | M                     | A                     | negatief     |
| WB18     | Limburg       | augustus 2017 | M                     | subadult              | negatief     |

## 3.2.1

*Baylisascaris procyonis*

Er is bij één wasbeer *Baylisascaris procyonis* aangetroffen in de dunne darm, wat is bevestigd met PCR en sequentieanalyse. De wasbeer was afkomstig uit de omgeving van Elsloo in Limburg. Hier zijn niet eerder wasberen met *B. procyonis* gevonden.



Figuur 2. Overzicht vindlocaties van de wasberen. Het positieve dier is met een stip aangegeven.



## 4 Discussie

Het doel van dit onderzoek was om meer inzicht te krijgen in het voorkomen van *E. multilocularis* en *Trichinella* spp. in wasbeerhonden en *B. procyonis* in wasberen in Nederland. Geen van de twaalf onderzochte wasberen was positief voor *E. multilocularis*, *Trichinella* spp. of *F. tularensis*, maar bij één van de vijf onderzochte wasberen werd *B. procyonis* aangetroffen.

De komst van nieuwe diersoorten in ons land kan pathogenen (her)introduceren of de epidemiologie van aanwezige pathogenen veranderen. Omdat wasbeerhonden grote afstanden afleggen en zich in een verscheidenheid aan habitats kunnen handhaven (Sutor, 2008; Meijer & Klop, 2014), is het aannemelijk dat de vossenlintworm zich door de vestiging van de wasbeerhond verder en sneller kan verspreiden. Omdat er ook door de wasbeerhond *E. multilocularis* eieren zullen worden uitgescheiden, zal de besmetting van de omgeving toenemen en dus het risico op infectie van de mens vanuit de omgeving toenemen. Het risico op besmetting door direct contact met wasbeerhonden zal gezien het gedrag van wasbeerhonden niet groot zijn, behalve voor specifieke risicogroepen zoals jagers of natuurbeheerders. In het vorig onderzoek (2014-2015) is bij één wasbeerhond *E. multilocularis* gevonden. Dat in het huidig onderzoek de twaalf onderzochte wasbeerhonden negatief waren, geeft aan dat *E. multilocularis* in ieder geval nog niet wijdverspreid voorkomt bij wasbeerhonden. Inmiddels zijn ook de resultaten van het vossenonderzoek in Groningen en Drenthe in 2016-2017 bekend. Er werd een kleine uitbreiding gevonden van het gebied waar vossenlintworm voorkomt, maar de prevalentie van *E. multilocularis* bij vossen in dit gebied was niet significant veranderd. Dit is de regio waar tot nu toe de meeste wasbeerhonden zijn gevonden. De vestiging van wasbeerhonden in deze regio lijkt tot nu toe dus nog niet te resulteren in een stijgende prevalentie of een snelle verspreiding.

Met de komst van de wasbeerhond is een diersoort in ons land gekomen, die zowel reservoir voor *T. spiralis* als *T. britovi* kan zijn. Indien de populatie wasbeerhonden toeneemt, zal de verspreiding van *Trichinella* in de wildcyclus kunnen toenemen en is er een groter risico voor overdracht naar de varkenshouderij, zeker als de buitengehouden varkenshouderij gaat toenemen. Het risico voor de volksgezondheid wordt bewaakt doordat (buitengehouden) varkens, paarden en wilde zwijnen zullen moeten worden gecontroleerd op *Trichinella* volgens de EU regelgeving 1375/2015. In tegenstelling tot eerder onderzoek, is bij het huidige onderzoek van 12 wasbeerhonden geen *Trichinella* spp. aangetroffen. Ook uit andere surveillance-activiteiten zijn nog geen signalen dat de aanwezigheid van *Trichinella* spp. in Nederland aan het toenemen is (Franssen, 2016).

Het is momenteel onduidelijk of de wasberen die worden gevonden in Nederland uit wilde populaties komen, of dat dit ontsnapte/losgelaten huisdieren zijn. Tot voor kort betrof het waarschijnlijk vooral ontsnapte dieren, maar de laatste jaren wellicht vooral wilde dieren die vanuit

Duitsland ons land binnenkomen. De waarneming van een ouderdier met vier jongen lijkt wel te betekenen dat er voortplanting plaatsvindt in Nederland. In Limburg worden relatief veel meldingen gedaan van wasberen ten opzichte van andere provincies. Deze kunnen zowel vanuit Duitsland als België komen, als ontsnapte/losgelaten huisdieren zijn. Het is dus lastig om de vondst van *B. procyonis* in Elsloo (Limburg) te duiden. *B. procyonis* is al wel eerder in de omgeving Doetinchem bij twee wasberen gevonden. De wasbeer die in het huidige onderzoek uit de omgeving Doetinchem is onderzocht, had geen *B. procyonis*. Het RIVM heeft in 2012-2013 onderzoek uitgevoerd naar *B. procyonis* bij wasberen als huisdier in Nederland, maar hierbij bleek het heel lastig een goede schatting van het aantal gehouden wasberen te houden. In het kleine aantal (5) samples dat uiteindelijk is onderzocht, werd destijds geen *B. procyonis* gevonden.

Uiteraard kunnen zowel wasbeerhonden als wasberen nog meer (zoönotische) pathogenen bij zich dragen. De afweging voor het onderzoeken van *E. multilocularis*, *Trichinella* spp. en *F. tularensis* bij de wasbeerhond is gebaseerd op een eerdere prioritering (Van den End et al., 2014). Voor de wasbeer is geen prioritering uitgevoerd, maar onderzoek naar *B. procyonis* is relevant omdat deze tot nu toe sporadisch voorkwam in Nederland, maar wel in wasbeerpopulaties in Duitsland, en introductie dus zeer waarschijnlijk is. Mogelijk dat in de toekomst nog andere pathogenen worden onderzocht. Daarnaast is zoals eerder al beschreven (Van den End et al., 2014) het aan te raden een vinger aan de pols te houden wat betreft de verspreiding van de wasbeerhond en wasbeer over Nederland, inclusief *E. multilocularis*, *Trichinella* spp., *F. tularensis* en *B. procyonis*.

### **Dankzegging**

De volgende personen worden bedankt voor hun betrokkenheid bij de secties voor het onderzoek: Marja Kik en Joeske IJzer (beide secties DWHC).

## 5 Referenties

- Airas, N., Saari, S., Mikkonen, T., Virtala, A.-M., Pellikka, J., Oksanen, A., Isomursu, M., Kilpelä, S.-S., Lim, C.W., Sukura, A., 2010. Sylvatic *Trichinella* spp. infection in Finland. *Journal of Parasitology* 96, 67-76.
- Al-Sabi, M.N.S., Chriél, M., Hansen, M.S., Enemark, H.L., 2015. *Baylisascaris procyonis* in wild raccoons (*Procyon lotor*) in Denmark. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* 1, 55-58.
- Beltrán-Beck, B., García, F.J., Gortázar, C., 2012. Raccoons in Europe: disease hazards due to the establishment of an invasive species. *Eur J Wildl Res*, 5-15.
- Bružinskaitė-Schmidhalter, R., Šarkūnas, M., Malakauskas, A., Mathis, A., Torgerson, P.R., Deplazes, P., 2012. Helminths of red foxes (*Vulpes vulpes*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in Lithuania. *Parasitology* 139, 120-127.
- Bruzinskaite, R., Sarkunas, M., Torgerson, P.R., Mathis, A., Deplazes, P., 2009. Echinococcosis in pigs and intestinal infection with *Echinococcus* spp. in dogs in southwestern Lithuania. *Vet Parasitol* 160, 237-241.
- Dennis, D.T., Inglesby, T.V., Henderson, D.A., Bartlett, J.G., Ascher, M.S., Eitzen, E., Fine, A.D., Friedlander, A.M., Hauer, J., Layton, M., 2001. Tularemia as a biological weapon: medical and public health management. *Jama* 285, 2763-2773.
- Drygala, F., Stier, N., Zoller, H., Mix, H.M., Bögelsack, K., Roth, M., 2008. Spatial organisation and intra-specific relationship of the raccoon dog *Nyctereutes procyonoides* in Central Europe. *Wildlife biology* 14, 457-466.
- Dupouy-Camet, J., 2000. Trichinellosis: a worldwide zoonosis. *Veterinary Parasitology* 93, 191-200.
- Duscher, T., Hodžić, A., Glawischnig, W., Duscher, G.G., 2017. The raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) and the raccoon (*Procyon lotor*)—their role and impact of maintaining and transmitting zoonotic diseases in Austria, Central Europe. *Parasitology Research* 116, 1411-1416.
- Eckert, J., Deplazes, P., 2004. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clin Microbiol Rev* 17, 107-135.
- Eckert, J., Deplazes, P., Craig, P.S., Gemmell, M.A., Gottstein, B., Heath, D., Jenkins, D.J., Kamiya, M., Lightowers, M., 2001. Echinococcosis in animals: clinical aspects, diagnosis and treatment, In: Eckert, J., Gemmell, M.A., Meslin, F.-X., Pawłowski, Z.S. (Eds.) *WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern*. World Organisation for Animal Health (Office International des Epizooties) and World Health Organization, Paris, pp. pp 73-100.
- Fischer, M.L., Hochkirch, A., Heddergott, M., Schulze, C., Anheyer-Behmenburg, H.E., Lang, J., Michler, F.-U., Hohmann, U., Ansorge, H., Hoffmann, L., 2015. Historical invasion records can be misleading: genetic evidence for multiple introductions of

- invasive raccoons (*Procyon lotor*) in Germany. *PloS one* 10, e0125441.
- Franssen, F., 2016. *Trichinella* in wildlife and pork production: evaluation of risk-based monitoring. Utrecht University,
- Franssen, F., Deksné, G., Esite, Z., Havelaar, A., Swart, A., van der Giessen, J., 2014. Trend analysis of *Trichinella* in a red fox population from a low endemic area using a validated artificial digestion and sequential sieving technique. *Vet Res* 45, 120.
- Franssen, F., Xie, K., Sprong, H., van der Giessen, J., 2013. Molecular analysis of *Baylisascaris columnaris* revealed mitochondrial and nuclear polymorphisms. *Parasit Vectors* 6, 124.
- Helbig, D., 2011. Untersuchungen zum Waschbären (*Procyon lotor* Linné, 1758) im Raum Bernburg. *Naturschutz im Land Sachsen-Anhalt* 48, 2.
- Kapel, C.M., Torgerson, P.R., Thompson, R.C., Deplazes, P., 2006. Reproductive potential of *Echinococcus multilocularis* in experimentally infected foxes, dogs, raccoon dogs and cats. *Int J Parasitol* 36, 79-86.
- Karamon, J., Kochanowski, M., Cencek, T., Bartoszewicz, M., Kusyk, P., 2014. Gastrointestinal helminths of raccoons (*Procyon lotor*) in western Poland (Lubuskie province)-with particular regard to *Baylisascaris procyonis*. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 58, 547-552.
- Kern, P., Bardonnnet, K., Renner, E., Auer, H., Pawlowski, Z., Ammann, R.W., Vuitton, D.A., Kern, P., 2003. European echinococcosis registry: human alveolar echinococcosis, Europe, 1982–2000. *Emerging infectious diseases* 9, 343.
- Kühn, A., Schulze, C., Kutzer, P., Probst, C., Hlinak, A., Ochs, A., Grunow, R., 2013. Tularaemia seroprevalence of captured and wild animals in Germany: the fox (*Vulpes vulpes*) as a biological indicator. *Epidemiology & Infection* 141, 833-840.
- Maas, M., van den End, S., van Roon, A., Mulder, J., Franssen, F., Dam-Deisz, C., Montizaan, M., van der Giessen, J., 2016a. First findings of *Trichinella spiralis* and DNA of *Echinococcus multilocularis* in wild raccoon dogs in the Netherlands. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 5, 277-279.
- Maas, M., van Roon, A., Dam-Deisz, C., Opsteegh, M., Massolo, A., Deksné, G., Teunis, P., van der Giessen, J., 2016b. Evaluation by latent class analysis of a magnetic capture based DNA extraction followed by real-time qPCR as a new diagnostic method for detection of *Echinococcus multilocularis* in definitive hosts. *Veterinary Parasitology* 230, 20-24.
- Machnicka, B., Dziemian, E., Rocki, B., Kołodziej-Sobocińska, M., 2003. Detection of *Echinococcus multilocularis* antigens in faeces by ELISA. *Parasitology research* 91, 491-496.
- Malakauskas, A., Paulauskas, V., Jarvis, T., Keidans, P., Eddi, C., Kapel, C.M., 2007. Molecular epidemiology of *Trichinella* spp. in three Baltic countries: Lithuania, Latvia, and Estonia. *Parasitology research* 100, 687-693.
- Meijer, K., Klop, E. 2014. Risicoanalyse van de Wasbeerhond in Nederland. A&W-rapport 1984. (Altenburg & Wymenga ecologisch onderzoek, Feanwâlden).
- Mulder, J.L., 2013a. De wasbeerhond heeft vaste voet in Nederland. *2013* 24, 1-3.



- Mulder, J.L., 2013b. The raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) in the Netherlands - its present status and a risk assessment. *Lutra* 56, 23-43.
- Oivanen, L., Kapel, C.M., Pozio, E., La Rosa, G., Mikkonen, T., Sukura, A., 2002. Associations between *Trichinella* species and host species in Finland. *Journal of Parasitology* 88, 84-88.
- Pannwitz, G., Mayer-Scholl, A., Balicka-Ramisz, A., Nockler, K., 2010. Increased prevalence of *Trichinella* spp., northeastern Germany, 2008. *Emerg Infect Dis* 16, 936-942.
- Reese, S.M., Dietrich, G., Dolan, M.C., Sheldon, S.W., Piesman, J., Petersen, J.M., Eisen, R.J., 2010. Transmission dynamics of *Francisella tularensis* subspecies and clades by nymphal *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae). *The American journal of tropical medicine and hygiene* 83, 645-652.
- Schwarz, S., Sutor, A., Mattis, R., Conraths, F.J., 2015. [The raccoon roundworm (*Baylisascaris procyonis*)--no zoonotic risk for Brandenburg?]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 128, 34-38.
- Schwarz, S., Sutor, A., Staubach, C., Mattis, R., Tackmann, K., Conraths, F.J., 2011. Estimated prevalence of *Echinococcus multilocularis* in raccoon dogs *Nyctereutes procyonoides* in northern Brandenburg, Germany. *Current Zoology* 57, 655-661.
- Sharma, N., Hotta, A., Yamamoto, Y., Uda, A., Fujita, O., Mizoguchi, T., Shindo, J., Park, C.-H., Kudo, N., Hatai, H., 2014. Serosurveillance for *Francisella tularensis* among wild animals in Japan using a newly developed competitive enzyme-linked immunosorbent assay. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 14, 234-239.
- Thiess, A., 2004. Untersuchungen zur Helminthenfauna und zum Vorkommen von *Trichinella* sp. beim Marderhund (*Nyctereutes procyonoides*) in Brandenburg. Freie Universität Berlin,
- Thiess, A., Schuster, R., Nockler, K., Mix, H., 2001. [Helminth findings in indigenous raccoon dogs *Nyctereutes procyonoides* (Gray, 1843)]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 114, 273-276.
- Van den End, S., Maas, M., van der Giessen, J.W.B. 2014. Het volksgezondheidsrisico van de wasbeerhond in Nederland – Een literatuurstudie. . In RIVM Concept Briefrapport 68/2014 Z&O (Bilthoven, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu).
- van der Giessen, J.W., Rombout, Y., Teunis, P., 2004. Base line prevalence and spatial distribution of *Echinococcus multilocularis* in a newly recognized endemic area in the Netherlands. *Vet Parasitol* 119, 27-35.
- van der Giessen, J.W., Rombout, Y.B., Franchimont, J.H., Limper, L.P., Homan, W.L., 1999. Detection of *Echinococcus multilocularis* in foxes in The Netherlands. *Vet Parasitol* 82, 49-57.
- Van der Grift, E.A., Lammertsma, D.R., Jansman, H.A.H., Wegman, R.M.A. 2016. Onderzoek naar het voorkomen van de wasbeer in Nederland. In Wageningen Rapport (Wageningen, Wageningen Environmental Research,).
- World Health Organization, 2007. WHO guidelines on tularaemia.



**Bijlage 1. Overzicht van organisaties/instanties/personen waar de oproep voor deelname aan het onderzoek is heen gestuurd.**

| <b>Instituut</b>  | <b>Instituut (vervolg)</b>                 |
|---|--|
| <b>NP Hoge Veluwe</b>   | Zoogdiervereniging                         |
| <b>Staatsbosbeheer</b>  | Das & Boom                                 |
| <b>Staatsbosbeheer, District Utrecht</b>  | Dassenwerkgroep Brabant                    |
| <b>Staatsbosbeheer, District Limburg</b>  | Bram Houben, St Ark                        |
| <b>Natuurmonumenten</b>   | Federatie Dierenambulances Nederland       |
| <b>Nieuwe Oogs redactie</b>   | WBE-sites (100); jagen.nl                  |
| <b>Bionext</b>  | Redactie VNBL                              |
| <b>NOJG</b>   | Provincie Noord Brabant                    |
| <b>KNJV</b>   | Landschapsbeheer NL                        |
| <b>SBNL</b>   | Landschapsbeheer Drenthe                   |
| <b>Bij12, unit Faunafonds</b>   | Unie van landschappen                      |
| <b>Natuurnetwerk</b>  | Bureau Endemica en KNNV                    |
| <b>FBE Groningen</b>  | Dassenwerkgroep IVN Deventer               |
| <b>FBE Friesland</b>  | Valwild coördinator WBE                    |
| <b>FBE Drenthe</b>  | Groene ruimte                              |
| <b>FBE Overijssel</b>   | Boa - Noord Nederland                      |
| <b>FBE Gelderland</b>   | Waarneming.nl                              |
| <b>FBE Gelderland</b>   | NVP (preparateurs)                         |
| <b>FBE Utrecht</b>  | Rijkswaterstaat                            |
| <b>FBE Noord Holland</b>  | It Fryske Gea                              |
| <b>FBE Zuid Holland</b>   | Het Drentse Landschap                      |
| <b>FBE Zeeland</b>  | Landschap Overijssel                       |
| <b>FBE Noord Brabant</b>  | Zuid Hollands Landschap                    |
| <b>FBE Limburg</b>  | Dierenambulance Nijmegen                   |
| <b>Brabants Landschap</b>   | Dierenambulance Doetinchem                 |
| <b>Vereniging van bos en natuurterreineigenaren (VBNE)</b>                          | Dierenambulance Ermelo/Harderwijk/Nunspeet |
| <b>Geldersch Landschap &amp; Kasteelen - Noordwest-Veluwe</b>                       | Dierenambulance Ermelo/Harderwijk/Nunspeet |
| <b>Werkgroep marterachtigen</b>   | Dierenambulance Gouda                      |
| <b>Stichting NatuurBank Limburg van het Natuurhistorisch Genootschap in Limburg</b> | Dierenambulance Limburg Zuid               |
| <b>Wildaanrijding.nl</b>  | Naturetoday.nl                             |

**RIVM**

*De zorg voor morgen begint vandaag*