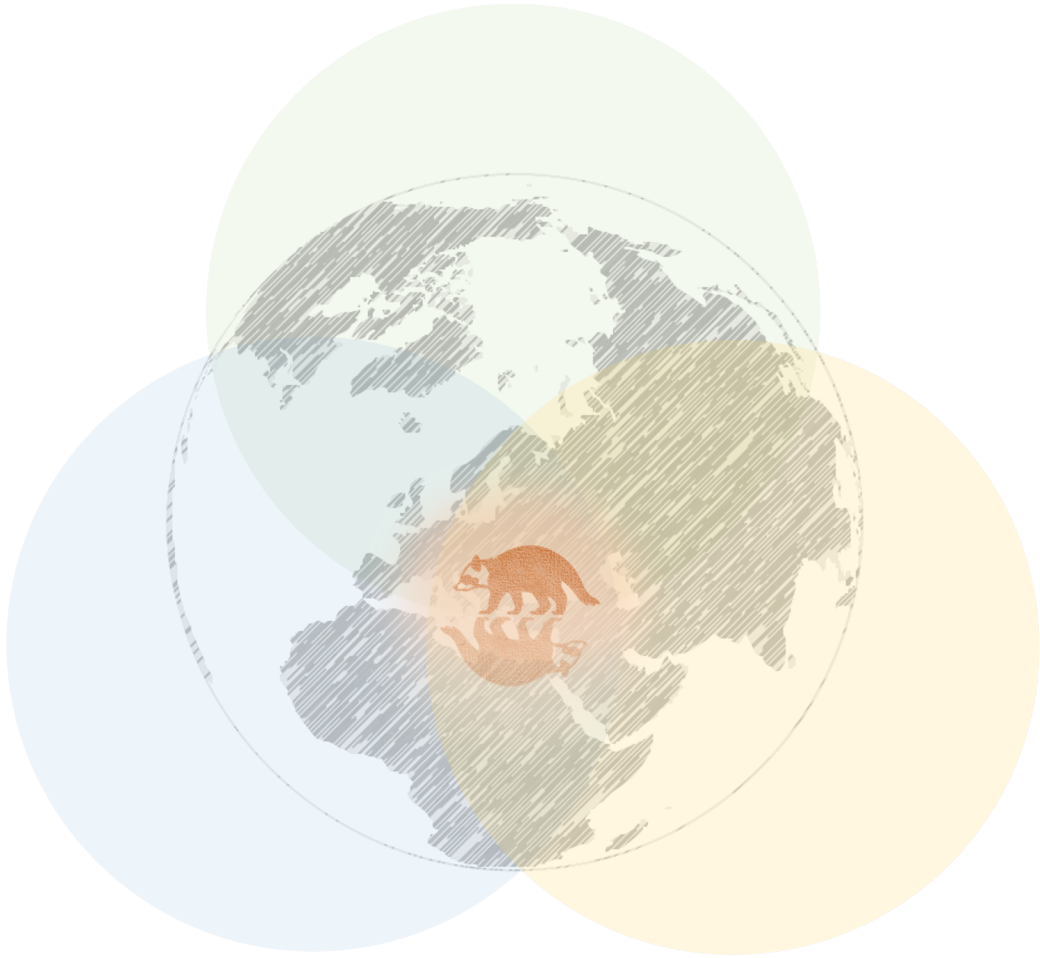


Explorative Untersuchung von Infektionserregern
im invasiven, gebietsfremden Waschbären
in Baden-Württemberg, Deutschland

von Nico Philipp Reinhardt



Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Explorative Untersuchung von Infektionserregern
im invasiven, gebietsfremden Waschbären
in Baden-Württemberg, Deutschland

von Nico Philipp Reinhardt
aus Crailsheim
München, 2024

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:
Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

In Teilen angefertigt am
Fachgebiet für Parasitologie, Universität Hohenheim
Mentorin: Prof. Dr. Ute Mackenstedt

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Nicolai T. Siegel
Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann
Priv.-Doz. Dr. Dorothea Döring
Prof. Dr. Ivica Medugorac

Tag der Promotion: 10. Februar 2024

Für Lena, Dani und Opa A.

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits als Konferenzbeitrag präsentiert:

Poster

N. Reinhardt, J. Köster, J. Härle, M. Wassermann, A. Thomas, J. Arnold, T. Romig, R. Fux, U. Mackenstedt, R. K. Straubinger: What's In The Box? Exploratory Study of Infectious Agents with One Health Relevance in Invasive Raccoons (*Procyon Lotor*, Linné 1758) in Southwest Germany. Proceedings of the Zoo and Wildlife Health Conference 2022, European Association of Zoo and Wildlife Veterinarians, 25–28 of May 2022, Emmen, Netherlands. S. 101.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	ix
I Einleitung	1
II Literaturübersicht	3
1 Lebensraum, Ernährung und Fortpflanzung des Waschbären.....	3
2 Der Waschbär in Europa, Deutschland und Baden-Württemberg.....	4
3 Der Waschbär als invasive, gebietsfremde Art.....	5
4 Ursachen und Folgen der Erregerausbreitung	8
5 Infektionserreger bei Waschbären.....	10
5.1 Virale Infektionserreger	10
5.1.1 Das carnivore Protoparvovirus-1 (CPPV-1).....	11
5.1.2 Das canine Staupevirus (CDV)	12
5.1.3 Das West-Nil-Virus (WNV).....	12
5.1.4 Das Influenza-A-Virus (IAV)	14
5.2 Bakterielle Infektionserreger	14
5.2.1 Pathogene <i>Leptospira</i> spp. (pL).....	15
5.2.2 <i>Anaplasma phagozytophilum</i> (Ap).....	16
5.3 Parasitäre Infektionserreger	17
6 Untersuchung von Infektionserregern im invasiven, gebietsfremden Waschbären in Baden-Württemberg.....	20
III Publikationen.....	21
1 Reinhardt, N. P.; Köster, J.; Thomas, A.; Arnold, J.; Fux, R.; Straubinger, R. K. Bacterial and Viral Pathogens with One Health Relevance in Invasive Raccoons (<i>Procyon lotor</i> , Linné 1758) in Southwest Germany. <i>Pathogens</i> 2023, 12, 389. https://doi.org/10.3390/pathogens12030389	21
2 Reinhardt, N. P.; Wassermann, M.; Härle, J.; Romig, T.; Kurzrock, L.; Arnold, J.; Großmann, E.; Mackenstedt, U.; Straubinger, R. K. Helminths in Invasive Raccoons (<i>Procyon lotor</i>) from Southwest Germany. <i>Pathogens</i> 2023, 12, 919. https://doi.org/10.3390/pathogens12070919	40

IV	Diskussion.....	61
1	Epidemiologische Bedeutung der Waschbären.....	61
1.1	Waschbären als epidemiologisches Bindeglied zwischen Wild-, Zoo-, Haustieren und Menschen.....	61
1.2	Waschbären und die Erregerausbreitung.....	64
1.3	Weitere Einflussfaktoren der Erregerausbreitung	66
1.3.1	Erregerspezifische Faktoren	66
1.3.2	Anthropogene Faktoren.....	67
2	Waschbärenmanagement.....	68
2.1	Allgemeine Maßnahmen.....	68
2.2	Erregermanagement	69
V	Schlussbemerkung.....	72
VI	Zusammenfassung.....	74
VII	Summary	76
VIII	Literaturverzeichnis.....	78
IX	Danksagung.....	89

Abkürzungsverzeichnis

<i>Ap</i>	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>
<i>B. procyonis</i>	<i>Baylisascaris procyonis</i>
BW	Baden-Württemberg
CDV	canines Staupevirus
CPPV-1	carnivores Protoparvovirus-1
CPV-2	canines Parvovirus-2
CVUA	Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt
DVO	Durchführungsverordnung
EU	Europäische Union
EASIN	<i>European Alien Species Information Network</i>
FPV	felines Panleukopenievirus
H	Hämagglutinin
HGA	humane granulozytäre Anaplasmose
HPAI	hochpathogene aviäre Influenza
IAS	invasive, gebietsfremde Arten
IAV	Influenza-A-Virus
JWMG	Jagd- und Wildtiermanagementgesetz
km ²	Quadratkilometer
MEV	Mink-Enteritisvirus
<i>N</i>	Anzahl der gesamten Stichprobe
<i>n</i>	Anzahl einer Teilstichprobe
N	Neuraminidase
P1	Publikation 1
P2	Publikation 2
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
<i>pL</i>	pathogene <i>Leptospira</i> spp.
qPCR	quantitative Polymerase-Kettenreaktion
RaPV	Raccoon-Parvovirus
spp.	species pluralis
StIKo Vet	Ständige Impfkommision Veterinär
USA	Vereinigte Staaten von Amerika
WNV	West-Nil-Virus

I Einleitung

Gegenwärtig ist die Resilienz der Ökosysteme aufgrund des Überschreitens planetarer Belastbarkeitsgrenzen insbesondere durch die globale Klima- und Biodiversitätskrise geschwächt, was ein gesundes Leben auf der Erde gefährdet [1-3]. Neben den beiden sich wechselseitig verstärkenden Krisen, dem Verlust von Lebensräumen und invasiven, gebietsfremden Arten (IAS) stellt die Verbreitung von Krankheitserregern durch Wildtiere eine zusätzliche signifikante Bedrohung für die globale biologische Vielfalt dar [4-7].

In Europa ist die Ausbreitung von Infektionskrankheiten, die von Wildtieren übertragen werden, unter anderem durch die ausgeprägten internationalen Wirtschaftsbeziehungen bedingt und aufgrund der hohen Bevölkerungsdichte von großer Relevanz [4,8,9]. Dennoch besteht aktuell ein Mangel an international koordinierter Forschung zur Vielfalt dieser Krankheitserreger und zu deren epidemiologischen Veränderungen bei Wildtieren [4]. Hauptsächlich konzentriert sich die Wissenschaft auf humanpathogene Erreger und weniger auf solche, die sich negativ auf Ökosysteme und Wirtstiere auswirken [10,11]. Gemäß des interdisziplinären One-Health-Konzepts sollten die durch Infektionserreger bedingten Gesundheitsrisiken für Menschen, Tiere und Ökosysteme aber gesamtheitlich untersucht werden, da die drei Entitäten in ihrem Wohlbefinden voneinander abhängig sind [12-14]. Die Sinnhaftigkeit dieses Forschungszugangs wurde spätestens durch die SARS-CoV-2-Pandemie der letzten Jahre deutlich.

Eine wichtige Rolle als Wildtierreservoir spielt der Waschbär. Ursprünglich in Nord- und Mittelamerika beheimatet, breitet er sich als IAS zunehmend in Asien und Europa aus [15-17]. Wegen seines synanthropen Verhaltens und der Vielzahl von Infektionserregern, für die er empfänglich ist, sind epidemiologische Erregeruntersuchungen besonders interessant [18-23]. In Bezug auf Deutschland, vor allem die süddeutschen Regionen, gibt es bislang nur wenige entsprechende systematische Analysen. Die vorliegende Dissertation trägt dazu bei, diese Lücke zu schließen und befasst sich mit dem Vorkommen von viralen, bakteriellen und parasitären Infektionserregern in 102 wildlebenden Waschbären in Baden-Württemberg (BW), Deutschland. Auf

diese Weise soll ein besseres Verständnis des Expositionsriskos mit Infektionserregern für Wild-, Zoo- und Haustiere sowie Menschen durch Waschbären und dessen epidemiologischer Bedeutung in einem Ausbreitungsrandgebiet wie BW erlangt werden.

II Literaturübersicht

1 Lebensraum, Ernährung und Fortpflanzung des Waschbären

Der Waschbär (*Procyon lotor*) gehört zur Familie der Procyonidae und ist ein opportunistischer Mesoprädator, welcher autochthon in Nord- und Mittelamerika vorkommt [24,25]. Er ist in einer Vielzahl von Lebensräumen anzutreffen, wobei er gewässerreiche Laub- und Mischwälder bevorzugt [26]. Es handelt sich bei ihm um einen nachtaktiven Generalisten, der je nach saisonaler Verfügbarkeit und Zugänglichkeit ein breites Spektrum von pflanzlichen (Samen, Nüsse, Früchte, Gemüse) und tierischen Nahrungsquellen (Insekten, Amphibien, Krebse, Fische, Vögel, Vogeleier, kleine Säugetiere) zu sich nimmt [27-29]. Als synanthrope Art mit ausgeprägter Anpassungsfähigkeit für städtische Gebiete nutzt der Waschbär auch die dort ganzjährig verfügbaren Nahrungsquellen menschlicher Herkunft sowie die vielfältigen Unterschlupfmöglichkeiten. Dies zieht eine Verkleinerung des Aktionsradius, eine Überlappung von Territorien benachbarter Waschbärengruppen und folglich einen Anstieg der Populationsdichte nach sich [19,27,29-32]. Erwähnenswert ist zudem, dass Waschbären ein habituelles Verhalten darin zeigen, ihre Ausscheidungen in Latrinen abzusetzen. Diese Latrinen sind oft in der Nähe ihrer Ruhe- und Schlafplätze zu finden, etwa in Baumhöhlen, auf Holzstapeln, Hausdächern oder Dachböden [27,33,34].

Abhängig von Klima, Lebensraum und den vorhandenen Ressourcen weisen Waschbären eine hohe Fortpflanzungsrate auf. Ihre Paarungszeit beginnt Anfang des Jahres und erstreckt sich teilweise bis August [32,35]. Die durchschnittliche Gravidität dauert etwa 63 Tage an, sodass die Geburten zwischen April und Juni, meistens jedoch im Mai, stattfinden [36]. Die Wurfgröße variiert zwischen drei und sieben Nachkommen, wobei in kälteren Gebieten in der Regel mehr Nachwuchs zu erwarten ist [36]. Weibliche Waschbärenjungtiere verbleiben oft in der Nähe ihrer Mütter, während männlicher Nachwuchs dazu neigt, neue Territorien zu erkunden und zu besiedeln [32,35,36]. Wildlebende Waschbären werden häufig nicht älter als fünf Jahre; Tiere in Menschenobhut können hingegen bis zu 17 Jahre alt werden [36].

2 Der Waschbär in Europa, Deutschland und Baden-Württemberg

Trotz der begrenzten genetischen Vielfalt breiten sich Waschbären als IAS, die nicht über natürliche Fressfeinde verfügen, erfolgreich in Europa und Asien aus [15,16,25]. Durch eine Reihe von sowohl absichtlichen als auch unabsichtlichen Freisetzung seit dem Beginn des 20. Jahrhunderts gibt es heute in mindestens 27 europäischen Ländern mehrere etablierte Populationen [37]. Cunze *et al.* [38] zeigten, dass noch viele geeignete und von Waschbären bislang unbesiedelte Lebensräume in Europa bestehen, was auf eine dortige Ausbreitung in Zukunft hindeutet. Die größte europäische Population befindet sich in Deutschland [16,24], wo es, wie genetische Untersuchungen aufzeigen konnten, mindestens vier Einführungsereignisse von Waschbären gegeben hat. Jene erfolgten größtenteils in der Mitte des letzten Jahrhunderts, eine jedoch erst in den 1990er Jahren [15,25,39]. Angesichts der wenigen Einführungsereignisse überrascht es nicht, dass in den Waschbärenpopulationen in Deutschland bzw. Zentraleuropa lediglich fünf bis sechs verschiedene genetische mitochondriale Haplotypen festgestellt wurden. Demgegenüber identifizierte man in den Vereinigten Staaten von Amerika (USA) 76 verschiedene [25]. Zu beachten ist, dass die geografische Verbreitung des Waschbärspulwurms *Baylisascaris procyonis* (*B. procyonis*) mit der der genetischen Waschbärenpopulationen übereinstimmt, in denen der Parasit auftritt [40]. In Deutschland sind Waschbären in allen 16 Bundesländern präsent, wobei die Populationsdichte variiert und zwei Verbreitungsschwerpunkte in Mittel- und Nordostdeutschland bestehen. Fischer *et al.* [16] prognostizierten, dass die Tierart bis zur Mitte des 21. Jahrhunderts einen Großteil der Fläche Deutschlands besiedeln wird.

Bereits heute begegnen Waschbären in urbanen Räumen Deutschlands in hohen Populationsdichten: In Kassel und Bad Karlshof beträgt sie bis zu 90–110 Tiere/km² [41]. In städtischen Gebieten in den USA wurden zum Vergleich durchschnittliche Waschbärendichten von 125 Tieren/km² konstatiert, während das dokumentierte Maximum bei 333,3 Tieren/km² liegt [42]. Im Gegensatz dazu fanden sich in ländlichen Gebieten zwischen 1–27 Tieren/km² [15,35], wobei es abhängig vom Grad der menschlichen Besiedlung und der landwirtschaftlichen Nutzung auch mehr sein können [43].

Laut den Jagdstatistiken des Deutschen Jagdverbands ist die Waschbärenpopulation in Deutschland in den letzten beiden Jahrzehnten stark angewachsen [44]: Die Anzahl der erlegten Tiere stieg von gut 9.000 in der Jagdsaison 2000/2001 auf rund 200.000 in der Saison 2020/2021 an. Eine deutliche Zunahme der Jagdstrecke lässt sich auch in Bezug auf BW feststellen. Im Jagdjahr 2010/11 wurden 339 Waschbären geschossen, während es im Jagdjahr 2020/21 bereits 4.015 waren [44]. Laut Fischer *et al.* [28] spiegeln die erfassten Abschussdaten etwa 10% der tatsächlichen Populationsdichte wider. Dies würde bedeuten, dass es in BW eine Waschbärenpopulation von rund 40.000 Tieren gibt. Genetische Studien haben nachgewiesen, dass sie hauptsächlich von Waschbären aus Hessen abstammen, aber gebietsweise auch Einflüsse von Populationen aus dem Harz und Rheinland-Pfalz erkennen lassen [15,25,39].

Nach §7 Absatz 8 des Jagd- und Wildtiermanagementgesetzes (JWMG) unterliegen Waschbären in BW dem Nutzungsmanagement. Die Jagdzeit für Waschbären in BW erstreckt sich §10 Absatz 1 der Durchführungsverordnung zum Jagd- und Wildtiermanagementgesetz (JWMG DVO 2015) zufolge vom 1. Juli bis zum 15. Februar. Es gibt jedoch eine Ausnahme für Jungtiere laut §10 Absatz 2 JWMG DVO 2015, die seit 2021 außerhalb der regulären Schonzeit nach §41 Absatz 2 JWMG ganzjährig erlegt werden dürfen.

3 Der Waschbär als invasive, gebietsfremde Art

Wie bereits erwähnt, gehören IAS zu den Hauptursachen der Biodiversitätskrise. Als IAS werden Organismen wie Waschbären bezeichnet, die ein großes Potenzial zur Ausbreitung aufweisen und gleichzeitig ökologische und/oder ökonomische Schäden auslösen können. Diese umfassen insbesondere negative Wechselwirkungen wie Prädation und Konkurrenz sowie die Ausbreitung von Krankheiten, die die autochthone Tierwelt und Menschen negativ beeinflussen [21,24,28,37,45-48]. Durch die Klimakrise und Habitatsveränderungen können diese negativen Auswirkungen weiter verstärkt werden [48].

In Europa treibt insbesondere die Globalisierung die Ausbreitung von IAS voran [45], was im Verlauf der letzten Jahrzehnte hohe finanzielle Kosten nach sich gezogen hat. Die jährlichen Kosten für die mit IAS einhergehenden Schäden und deren Management werden auf 12,5 bis 20 Milliarden Euro geschätzt [37]. Cuthbert *et al.* [49] stellten erhebliche Defizite im Management von IAS heraus, vor allem in Bezug auf präventive Maßnahmen zur Verhinderung weiterer Einführungen und Ansiedlungen. Relevante Daten bezüglich Neozoa innerhalb Europas sind im *European Alien Species Information Network* (EASIN) verfügbar, welches im Jahr 2012 durch die Gemeinsame Forschungsstelle der Europäischen Kommission gegründet wurde. Demzufolge sind europaweit momentan mehr als 14.000 eingebrachte allochthone Spezies dokumentiert, darunter 4.682 terrestrische, 1.264 marine sowie 641 Süßwasser-Tierarten [50]. Die EASIN-Plattform soll die Umsetzung der Verordnung der Europäischen Union (EU) Nummer 1143/2014 über IAS erleichtern [50]. Essenzieller Bestandteil dieser EU-Verordnung ist die Liste der IAS von unionsweiter Bedeutung (Unionsliste) [51]. Diese umfasst nach der letzten Aktualisierung von 2022 insgesamt 88 verschiedene Tier- und Pflanzenarten, von denen 33 Wirbeltierarten darstellen [51]. Seit 2016 sind Waschbären entsprechend Artikel 19 der Verordnung (EU) Nummer 1143/2014 in die Unionsliste aufgenommen.

Die ökologischen Konsequenzen von Waschbären in Europa sind bisher unzureichend wissenschaftlich evaluiert. In den letzten Jahren gibt es allerdings vermehrt Berichte, die darauf hindeuten, dass sie lokal einen negativen Einfluss haben könnten [24,26,28,29,37,46]. Bekannt ist zudem, dass Interaktionen zwischen IAS und ihren Beutetieren sowie die Konkurrenz um Nahrung, Schlaf- oder Nistplätze Ökosystemprozesse stören können [32,48]. Aus diesem Grund sind entsprechende Kenntnisse über die von Waschbären bevorzugten Landbedeckungstypen von besonderer Relevanz [38]. Es besteht die Möglichkeit, dass ein erhöhter Prädationsdruck auf Populationen teilweise gefährdeter einheimischer Beutetierarten (Fische, Amphibien, Reptilien, Vögel, Fledermäuse) zu deren regionalem Rückgang führen könnte [24,26,28,46], auch wenn Wirbeltierarten keine Hauptnahrungsquelle für Waschbären darstellen

[26,27,29]. Dennoch wird beispielsweise vermutet, dass Waschbären für den gebietsweisen Schwund der Europäischen Sumpfschildkröte (*Emys orbicularis*) in Deutschland verantwortlich sind [52], da sie je nach regionalem und saisonalem Angebot spezialisierte Nahrungsgewohnheiten aufweisen können. Eine Studie, die im Naturschutzgebiet Nietoperek (Polen) durchgeführt wurde, ergab, dass sich die dort neu vorkommenden Waschbären in den Wintermonaten größtenteils von Fledermäusen (96%) ernährten [53]. Cichocki *et al.* [53] schlussfolgerten, dass die Waschbären daher signifikant zur Abnahme von überwinternden Fledermäusen im Untersuchungsgebiet beitragen können. Die Forschungsarbeit von Oe *et al.* [54] verdeutlichte wiederum, dass Waschbären in Japan in den Monaten von Spätwinter bis Frühsommer, wenn pflanzliche Nahrungsquellen knapp sind, vermehrt tierische wie Amphibien und Krebstiere nutzen. Dies hatte eine Reduktion der Populationen seltener einheimischer Arten (Hokkaido-Salamander (*Hynobius retardatus*) und Japanische Flusskrebse (*Cambaroides japonicus*)) während der Laichsaison zur Folge [54]. Ferner ist aus Nordamerika bekannt, dass Waschbären boden- und höhlenbrütende Vögel erbeuten, was insbesondere in geografisch isolierten Lebensräumen wie Inseln zu erheblichen Bestandsrückgängen führen kann [32]. Weiterhin könnte der Waschbär mit einheimischen geschützten Arten wie dem Europäischen Nerz (*Mustela lutreola*) oder dem Europäischen Iltis (*Mustela putorius*) in Konkurrenz stehen. Diese Konkurrenz kann sowohl durch die Begrenztheit von Ressourcen (Ausbeutungskonkurrenz) als auch durch aggressive Interaktionen (Störungskonkurrenz) entstehen [28,46]. Insgesamt werden gegenwärtig in Deutschland die negativen Konsequenzen von Waschbären auf die heimische Fauna durch Prädation und Konkurrenz als eher gering eingeschätzt, auch wegen der bereits beschriebenen geringen Nahrungs- und Habitatspezialisierung [26]. Trotzdem bleibt in jedem spezifischen Fall zu prüfen, ob und inwiefern der Waschbär unter den gegebenen Rahmenbedingungen in bestimmten Gebieten eine Gefährdung für einheimische Arten darstellen kann [26].

Materielle Waschbär-Mensch-Konflikte verursacht der Waschbär in Europa im Vergleich zu Nordamerika bisher nur bedingt [26,55]. In den USA entstehen diese vor

allem durch Ernteverluste (z. B. im Maisanbau) [18], in städtischen Gebieten durch Beschädigung von Privateigentum und gelegentlichen Angriffen auf Haustiere [28,36,56]. Diese Schäden stehen vermutlich in Zusammenhang mit hohen Populationsdichten sowie einer starken geografischen Verbreitung, wie sie auch in Europa vorstellbar sind.

4 Ursachen und Folgen der Erregerausbreitung

Eine zentrale negative Interaktion zwischen IAS wie dem Waschbären und ihrer Umwelt besteht, wie herausgestellt, in der Übertragung von Krankheitserregern, über deren Vielfalt es in Hinblick auf Europa bisher nur lokal begrenzte Kenntnisse gibt. Die enge epidemiologische Verbindung zwischen Wild-, Zoo-, Haustieren und Menschen sowie das Verschwimmen der räumlichen Grenzen zwischen diesen Entitäten sind entscheidend bei der Ausbreitung der Erreger, der Vergrößerung von deren Wirtsspektrum und dem Anstieg von Prävalenzen [4,5,8,9,11,14,57-59].

Das Neuauftreten von Krankheitserregern wird in der Regel auf veränderte Wechselwirkungen zwischen Tierarten oder andere ökologische Parameter zurückgeführt, wobei auch Erregerereigenschaften und die Anfälligkeit der Wirte entscheidend sein können [4,5,60]. Wildtiere und andere Vektoren können beträchtliche Entfernungen zurücklegen und somit die geografische Ausbreitung befördern [4]. Sie fungieren daher als epidemiologische Indikatoren für das Vorhandensein bestimmter Infektionserreger [59].

Zusätzlich zu wirts- und erregerspezifischen Faktoren sind hier auch anthropogene Einflüsse relevant, die das Risiko von Spillover-Infektionen erhöhen und epidemiologische Veränderungen in einem Ökosystem bewirken [4,5,9]. Dazu zählt der illegale Wildtierhandel [61] sowie der mit der Globalisierung einhergehende internationale Markt vor allem für Lebensmittel tierischen Ursprungs [4,5,58,62]. Die intensive, konventionelle Landwirtschaft hat einen erheblichen Flächenverbrauch und führt dadurch zu einem verstärkten Kontakt zwischen Menschen und Wildtieren [63,64].

Weltweit finden zudem Umsiedlungen von Wildtieren zum Zwecke der Landwirtschaft, der Jagd aber auch des Naturschutzes statt, wodurch der Austausch von Infektionserregern begünstigt wird [5]. Internationales Reisen und Outdoor-Freizeitaktivitäten mit Haustieren resultieren ebenfalls in eine verbreiterte Interaktionsfläche mit Wildtiererregern [5,9,59]. Die von Menschen verursachte Klimakrise ist ein weiterer bedeutender Umstand für das Auftreten neuer Krankheitserreger und deren geografische Ausbreitung [4,14], insofern sie Fortpflanzungsraten und Lebensräume von Wirten und Vektoren verändert [4,11,58,65]. Die erhöhten Durchschnittstemperaturen können außerdem die Reproduktionszyklen von Krankheitserregern steigern, was wiederum ihr Ausbreitungspotenzial befördert [11,58,66]. Permanente und tiefgreifende Veränderungen der Ökosysteme wie die fortschreitende Urbanisierung zählen zu den Hauptursachen des Biodiversitätsverlusts [1,7,19,28,58,62]. Gleichzeitig verstärken sie das Expositionsrisiko für Menschen und Tiere mit bestimmten Krankheitserregern sowie deren Ausbreitung [1,19,28,57,58,67,68]. Die Erforschung der Faktoren, die die Epidemiologie von Infektionskrankheiten innerhalb städtischer Gebiete beeinflussen, steht jedoch erst am Anfang [19]. Hohe Populationsdichten synanthroper Wildtierarten wie Waschbären können diesbezüglich ausschlaggebend sein [19,58,69]. Laut Pedersen *et al.* [70] könnte auch die enge evolutionäre Verwandtschaft zwischen wildlebenden und domestizierten Karnivoren die Wahrscheinlichkeit von Spillover-Infektionen erhöhen.

Folglich ist festzustellen, dass neuauftretende Erreger und deren Ausbreitung zwei zentrale negative Konsequenzen haben: Erstens stellen sie eine Gefahr für die weltweite biologische Vielfalt dar, da nicht-immune und womöglich gefährdete Wirtspopulationen Populationsverluste erfahren können. Eine Endemisierung der Infektionserreger führt in der Folge möglicherweise zu einer chronischen Depressionsphase in der betroffenen Population [5,70]. Zweitens stellen neuauftretende Infektionserreger eine Gefahr für die öffentliche Gesundheit dar, da es sich bei ihnen laut verschiedenen Veröffentlichungen mehrheitlich um zoonotische Erreger handelt, von

denen wiederum die meisten von Wildtieren stammen [4,5,9]. Die signifikante Zunahme der Waschbärenpopulation könnte also ein Gesundheitsrisiko für Menschen, Tiere und Ökosysteme in Europa darstellen.

5 Infektionserreger bei Waschbären

In den autochthonen Verbreitungsgebieten ist der Waschbär als Reservoir und Überträger einer Vielzahl von Infektionserregern schon bekannt [21-23]. Aufgrund der hohen Populationsdichten und weiten geografischen Verbreitung wird er dort als Indikator für das Infektionsrisiko mit bestimmten Erregern angesehen [21,71-74].

Im Folgenden wird ein Überblick über bereits dokumentierte virale, bakterielle und parasitäre Krankheitserreger bei Waschbären gegeben. Darüber hinaus werden die Infektionserreger, die innerhalb dieser Doktorarbeit untersucht wurden, vorgestellt.

5.1 Virale Infektionserreger

Zu den serologisch oder genetisch nachgewiesenen Viren bei Waschbären zählen: das carnivore Protoparvovirus-1 (CPPV-1) [21,75], canine Staupevirus (CDV) [21,76], West-Nil-Virus (WNV) [77,78], Influenza-A-Virus (IAV) [79], canine Adenovirus-1 und -2 [80], Aujeszky-Virus [81], Bornavirus [82] und das Polyomavirus [83]. In Nordamerika gehört der Waschbär des Weiteren zu den relevanten Virusträgern der terrestrischen Tollwut [36,41,55]. Deutschland hingegen gilt seit 2008 als frei von terrestrischer Tollwut: Zwischen 1960 und 1977 wurden im ehemaligen West-Deutschland 15 Tollwutfälle bei Waschbären registriert, einer davon in BW [21,36]. In den Jahren 1990 bis 2000 wurden fünf mit Tollwut infizierte Waschbären erfasst. Diese Tierart scheint damit hierzulande für die Epidemiologie jenes Virus weniger bedeutsam zu sein [36,41,55]. In BW veröffentlicht das Landestollwut- und Epidemiologiezentrum des Chemischen und Veterinäruntersuchungsamts (CVUA) Freiburg regelmäßig Ergebnisse der CVUAs in BW, welche wildlebende Karnivoren wie Waschbären auf das klassische Tollwutvirus (Rabies-Virus) hin untersuchen. Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf die beiden für Wirtstiere populationsdynamisch relevanten Viren

CPPV-1 und CDV sowie WNV und IAV, da diese bislang nicht in europäischen Waschbären nachgewiesen wurden und sich durch ein zoonotisches Potenzial auszeichnen.

5.1.1 Das carnivore Protoparvovirus-1 (CPPV-1)

Das CPPV-1 gehört zur Gattung Protoparvovirus und umfasst das canine Parvovirus-2 (CPV-2) und seine Varianten CPV-2a, -2b und -2c sowie das feline Panleukopenievirus (FPV), das Mink-Enteritisvirus (MEV) und das Raccoon-Parvovirus (RaPV) [84-86]. Weltweit ist CPPV-1 bei einem großen Wirtsspektrum innerhalb der Ordnung Carnivora verbreitet. Jedoch ist es auch in nicht-fleischfressenden Arten wie dem europäischen Igel (*Erinaceus europaeus*), *Macaca* spp. und dem Taiwan-Pangolin (*Manis pentadactyla*) beschrieben. Daher kann CPPV-1 ähnlich wie CDV die Populationsdynamik vieler (gefährdeter) Tierarten negativ beeinflussen und somit die Biodiversität beeinträchtigen [36,70,80,84,86-93]. Einigen Studien aus Nordamerika und Asien zufolge dienen auch Procyoniden als Erhaltungswirte für CPPV-1 [75,80,84,86-88,91,93,94]. Dabei wurden wiederholt Übertragungen von CPPV-1 zwischen Procyoniden und anderen wildlebenden Karnivoren sowie Haustieren beobachtet. Außerdem zeigten diese Untersuchungen, dass Procyoniden leicht von CPV-2-ähnlichen Stämmen und FPV infiziert werden können und teilweise hohe Prävalenzen aufweisen. Wang *et al.* [88] stellten allerdings fest, dass bei Waschbären die bekannten CPPV-1-Sequenzen selten in die FPV-Gruppe und meist in die CPV-2a- und -2b-Gruppen fallen. Überdies wird vermutet, dass Waschbären in der Evolution von CPV-2 bedeutsam sind, insofern sie zur Entstehung der Varianten CPV-2a, -2b und -2c beigetragen haben [75,84,87]. Das CPPV-1 wird als zentraler Krankheitserreger und als wichtige nicht-anthropogene Todesursache bei nordamerikanischen Waschbären betrachtet [80,95]. In europäischen Wild- und Haustierpopulationen haben FPV, CPV-2a, -2b und -2c eine weite geografische Verbreitung [89,96,97]. Trotzdem findet sich für Europa und Deutschland aktuell nur eine Veröffentlichung zu CPPV-1-Infektionen bei Waschbären [36].

5.1.2 Das canine Staupevirus (CDV)

Das CDV ist ein (wieder) vermehrt auftretendes Virus mit einem breiten Wirtsspektrum und einer hohen interspezifischen Übertragbarkeit. Es ist deshalb eine starke Bedrohung für empfängliche Wild-, Haus- und Zootiere und damit auch für die Biodiversität [[4,5,70,76,80,98-100](#)]. In Nordamerika und den neuen Verbreitungsgebieten sind Waschbären wichtige Reservoirwirte für CDV [[76,80,81,94,101](#)]. Staupe ist ähnlich wie CPPV-1 eine bedeutende Ursache für die infektionsbedingte Sterblichkeit bei wildlebenden Waschbären [[18,36,80,95](#)]. Weltweit gibt es je nach Publikation zwischen 11 und 18 CDV-Linien bei domestizierten und wildlebenden Tieren, während bei Waschbären die nachfolgenden Linien nachgewiesen wurden: America-1 (dazu gehören die Impfstämme), America-2 und -4, Asia-1, European wildlife und Europe [[69,76,98,99,101-103](#)]. Seit 2006 gibt es einen anhaltenden transnationalen Ausbruch von CDV (Europe-Linie), der sich vom östlichen bis zum westlichen Kontinentaleuropa ausgebreitet hat. In Deutschland und den angrenzenden Ländern wurden seit 2008 zunehmend Fälle von Infektionen bei einer Vielzahl von domestizierten, in Menschenobhut gehaltenen und wildlebenden Karnivoren, einschließlich Waschbären, beobachtet [[4,69,100](#)]. In Europa gibt es nur wenige Veröffentlichungen über CDV bei Waschbären, der erste Nachweis in Deutschland erfolgte 2007, in BW im Jahr 2015 [[69,99,104-107](#)].

5.1.3 Das West-Nil-Virus (WNV)

Das WNV zählt zu den weltweit verbreitetsten zoonotischen Arboviren, das ein breites Wirtsspektrum hat, welches mehr als fünf taxonomische Ordnungen umfasst [[4,98,108-111](#)]. In mehreren Veröffentlichungen wird vermutet, dass der Anstieg der WNV-Prävalenz bei Menschen und Tieren in Europa während der letzten beiden Jahrzehnte mit der Klimakrise und den daraus resultierenden Veränderungen der Verbreitungsgebiete von Vektoren und Wirbeltierwirten in Zusammenhang stehen könnte [[9,109-111](#)]. Ein wichtiges Merkmal der WNV-Epidemiologie in Europa ist die Ko-Zir-

kulation mehrerer WNV-Stämme der Linie-1 und -2, welche zu den virulentesten gehören [109-112]. Seit der Epidemie in Deutschland von 2018 haben die WNV-Fälle ebenfalls zugenommen, was auf eine größere Wildtier-Epizootie hindeutet [108,111,113,114]. In Deutschland (Niedersachsen, Sachsen-Anhalt) wurde erstmalig in einer im Jahr 2022 veröffentlichten Studie mittels serologischer Tests die Infektion mit WNV bei 7 von 195 untersuchten Waschbären konstatiert, keine davon jedoch in BW [68]. Allerdings nahmen die Autor:innen wegen der negativen Polymerase-Kettenreaktions (PCR)-Ergebnisse an, dass der Waschbär in Deutschland derzeit noch kein Reservoir für das Virus darstellt [68]. Im Lebenszyklus des WNV tragen vor allem Stechmücken der Familie Culicidae, aber auch asymptomatisch infizierte Wirbeltierreservoirs, hauptsächlich Vögel, als Vektoren zur Virusreplikation bei. Darüber hinaus können Wirbeltiere auch als End- oder Zwischenwirte involviert sein [78,109,115]. Studien weisen jedoch darauf hin, dass zahlreiche Säugetierarten das Potenzial haben, als Verstärker und Reservoirs für WNV zu fungieren [109,116,117]. In Nordamerika ist insbesondere die Verbreitung der WNV-Linie 1 unter Menschen und Tieren, einschließlich Waschbären, stark [77,109,116,117]. Die genaue epidemiologische Bedeutung von Waschbären im WNV-Infektionszyklus ist noch nicht abschließend geklärt. Es ist jedoch bekannt, dass sie wie viele als Zufalls- bzw. Fehlwirte geltenden Säugetiere aufgrund zu niedriger Virustiter nicht signifikant als Verstärkerwirt auf den Mückenzyklus des Virus einwirken [77,109,116,117]. Dass Waschbären durch virale Kontamination der Umwelt über Latrinen fäkal-orale Infektionen bei Wildtieren verursachen könnten, ist unter anderem wegen der geringen Tenazität von WNV umstritten [77,116]. Waschbären könnten aber wegen teilweise sehr hohen Seroprävalenzen als Indikatoren für die Aktivität von Mücken und das WNV-Risiko bei Säugetieren wie Menschen dienen [116,118].

5.1.4 Das Influenza-A-Virus (IAV)

Influenza-A-Viren sind Erreger mit pandemischem Potenzial. Sie stellen global eine wirtschaftliche Bedrohung dar und haben negative gesundheitliche Auswirkungen sowohl auf Menschen als auch auf eine Vielzahl von Nutz- und Wildtieren, etwa bedrohte Vogel- und Säugetierarten [5,6,98,119-122]. Studien zu IAV bei Waschbären sind bisher rar. Ihre Rolle als mögliche "Mischgefäße" bei der genetischen Reassortierung und der Entstehung neuer womöglich hochvirulenter Stämme, die an Säugetiere angepasst sind, wird derzeit diskutiert [121-125]. Schlüsselfaktoren sind diesbezüglich die Oberflächenproteine Hämagglutinin (H) und Neuraminidase (N) von IAV sowie das Vorhandensein und die Verteilung der Wirtszellrezeptoren α -2,3 und α -2,6 Sialinsäure im Atem- oder Magen-Darm-Trakt von Waschbären [120-123,125]. Nach meinem Kenntnisstand gibt es bislang keinen Nachweis von IAV-Fällen bei Waschbären in Europa oder Deutschland. Aus Nordamerika und Asien ist jedoch bekannt, dass Waschbären mit IAV, einschließlich hochpathogener aviärer Influenza (HPAI), infiziert werden und diese auch ausscheiden können [79,122-127]. In den USA (H1, H3, H4, H10 und N2, N6, N7, N8) sowie Japan (H1, H3, H4, H5 und N1, N6, N8) wurden spezifische Antikörper gegen mehrere Subtypen von IAV in Serumproben von Waschbären gefunden [79,123-125,127]. Es gibt zudem Anhaltspunkte für zwischenartliche Infektionen, da bei Waschbären Subtypen belegt wurden, die häufig bei wildlebenden Wasservögeln (H1, H3, H4, H10 und N2, N6, N7, N8) und Geflügel (H5N1) vorkommen [121,122,125].

5.2 Bakterielle Infektionserreger

Folgende ausgewählte Bakterien wurden bei Waschbären direkt oder serologisch nachgewiesen: pathogene *Leptospira* spp. (pL) [36], *Anaplasma* spp. und *Ehrlichia* spp. [71], *Borrelia* spp. [128], *Coxiella burnetii* [129], *Francisella tularensis* [130], *Mycobacterium* spp. [21], *Bartonella* spp. [20], *Mycoplasma* spp. [131] sowie *Listeria* spp., *Salmonella* spp., coagulase-positive *Staphylococcus* spp. und *Yersinia* spp. [132].

Diese Arbeit untersucht das Auftreten von pL und *Anaplasma phagocytophilum* (Ap) in BW, da beide Erreger dort noch nicht bei Waschbären nachgewiesen wurden, in den USA aber wichtige Reservoirwirte darstellen und zoonotisch sind.

5.2.1 Pathogene *Leptospira* spp. (pL)

Die Leptospirose, hervorgerufen durch pL, ist eine weltweit verbreitete Zoonose, die in urbanen und ruralen Gebieten sowohl in weniger industrialisierten als auch in Industrieländern bei Menschen und Tieren vorkommt. Die Krankheit kann tödlich verlaufen und tritt in jüngster Zeit wieder vermehrt auf [133-137]. Grundsätzlich sind die meisten Säugetiere für pL-Infektionen empfänglich, wohingegen der Einfluss auf Vögel und wechselwarme Tiere relativ gering erscheint [135,136,138,139]. Mitunter gibt es abhängig von der geografischen Lage serovarspezifische Wirtspräferenzen, wobei zwischen Erhaltungs- und Zufallswirten differenziert wird [136,137,140]. Waschbären sind insbesondere in den USA wichtige Erhaltungswirte [18,21,72,74,80,133,138,140,141], daher wurden dort bereits einige Übertragungen von Waschbären auf domestizierte (Farm-)Tiere und Menschen dokumentiert [18,21,72,80,133,138,140,141]. Hinsichtlich Europa existieren zwei Veröffentlichungen zu pL bei Waschbären aus Nordostdeutschland [36,104]. Das Bakterium ist in Deutschland in vielen Haus- und Wildtierpopulationen endemisch, während es bei Menschen eher sporadisch und saisonal in den Sommermonaten Infektionen verursacht [113,114,142,143]. Die häufigsten Erhaltungswirte sind dabei Nagetiere, welche infolge der Urbanisierung und der Klimakrise vermehrt auftreten können [139,142,144]. In einer Untersuchung in Bezug auf Süddeutschland wurde bei Nagetieren eine Prävalenz von 5.7% ($N = 736$) registriert [65]. Weitere Wildtiere mit synanthropem Lebensstil in Deutschland, die das Risiko einer Übertragung zwischen Wild-, Zoo- und Haustieren sowie Menschen potenzieren können, sind neben Waschbären Rotfüchse (*Vulpes vulpes*) und Wildschweine (*Sus scrofa*) [21,36,72,142,143]. Im Jahr 2019 lag die Inzidenz in BW (20 Leptospirose-Fälle bei Menschen) und Deutschland bei 0,2 pro 100.000 Ein-

wohner:innen, wobei höhere Prävalenzen aus serologischen Untersuchungen in früheren Jahren auf eine hohe Dunkelziffer hinweisen [114,142]. Im Untersuchungsgebiet gab es 2006 einen größeren Leptospirose-Ausbruch bei Heidelberger Triathlet:innen (BW, Deutschland) [145].

5.2.2 *Anaplasma phagozytophilum* (*Ap*)

Bei *Ap* handelt es sich um ein zoonotisches durch Zecken übertragenes Bakterium. Es kann eine Vielzahl von Wirbeltierarten infizieren und findet sich in weiten Teilen der USA, Asiens und Europas, während es oft einen fokalen Verbreitungscharakter aufweist [9,20,71,146-148]. Wirbeltierwirte sind als Reservoirwirte erforderlich, um den Infektionszyklus von *Ap* aufrechtzuerhalten. Dabei wird von einer Wirtsspezialisierung ausgegangen, da verschiedene Wirtsspezies offenbar anfällig für unterschiedliche genetische *Ap*-Varianten mit variabler Pathogenität sind [71,146-151]. In Nordamerika sind Waschbären bedeutende Reservoir- und Amplifikationswirte für *Ap*, wobei gelegentlich hohe Seroprävalenzen festgestellt werden. Sie können das Bakterium auf kompetente Zeckenstadien übertragen, was die Aufrechterhaltung des Infektionszyklus befördert [21,71]. In Europa gibt es nur eine begrenzte Anzahl genetischer Studien, die sich mit der Rolle von Waschbären im *Ap*-Infektionszyklus beschäftigen: aus Österreich, der Tschechischen Republik, Deutschland, sowie Polen, wo bislang der einzige Nachweis in Europa erfolgte [20,152,153]. Europaweit gibt es Belege von *Ap* bei vielen Haus- und Wildtierarten; je nach *Ap*-Variante können neben Cerviden auch Karnivoren als kompetente Reservoir fungieren [146,148,149,151,154]. Die durch *Ap* verursachte humane granulozytäre Anaplasmosse (HGA) ist die zweithäufigste durch Zecken übertragene Krankheit in den USA [147,150]. Im Vergleich dazu sind die europäischen Fallzahlen der HGA gering. Seit ihrer Erstbeschreibung 1996 sind hier etwa 70 genetisch bestätigte Infektionen dokumentiert, keine davon in Deutschland [150]. Dennoch deuten vorhandene Antikörper gegen *Ap* bei 14 bis 19,5% untersuchter Risikopopulationen wie Waldarbeiter:innen auf Infektionen beim Menschen und eine hohe Dunkelziffer in Deutschland hin [150,151].

5.3 Parasitäre Infektionserreger

Laut Thompson *et al.* [10] ist die Erforschung von Parasiten bei Wildtieren im Rahmen des One-Health-Konzepts aus mehreren Gründen von Wichtigkeit. Zunächst charakterisieren sich Parasiten durch eine breite taxonomische Vielfalt, einschließlich Helminthen, Protozoen und Ektoparasiten. Deshalb und wegen ihrer komplexen Lebenszyklen sind sie eng mit verschiedensten Wirtstieren und Ökosystemstrukturen verknüpft und Teil vielfältiger Raubtier-Beute-Beziehungen. Daraus ergeben sich zahlreiche potenzielle biotische und abiotische Einflussfaktoren, die auf ihre Übertragungswahrscheinlichkeit und Entwicklungszyklen einwirken können. Hinzu kommt die große Bandbreite an End-, Zwischen- und paratenischen Wirtsarten und den damit verbundenen gesundheitlichen Auswirkungen auf Menschen, Tiere und die Ökosysteme, welche längst nicht in Bezug auf alle Parasiten erforscht sind [10]. Insbesondere der parasitäre Austausch bei wildlebenden und domestizierten Karnivoren hat Konsequenzen für die Epidemiologie der parasitären Zoonosen und ist deshalb für die öffentliche Gesundheit von Interesse [155]. Folglich birgt die synanthrope Lebensweise von Waschbären ein potenzielles Infektionsrisiko [19].

Parasiten sind wohl die am eingehendsten untersuchten Erreger bei Waschbären: Bereits seit Anfang des 20. Jahrhunderts werden Darmhelminthen bei Waschbären erforscht, wobei die meisten Studien aus Nordamerika stammen [23,156]. Laut Popiolek *et al.* [23] wurden dort bereits über 30 Helminthenarten beschrieben. In einer globalen Überblicksstudie wurden mindestens 100 verschiedene Helminthenarten aus insgesamt 65 Gattungen bei Waschbären dokumentiert. Sie wurden dabei in häufig belegte "Core-Spezies" und seltener gefundene "Satellitenspezies" eingeteilt [157]. Systematische Untersuchungen von metazoischen Parasiten bei Waschbären in Europa bzw. Deutschland sind selten und meist regional sehr begrenzt [22,36,156]. Lange Zeit wurde angenommen, dass Waschbären in Mitteleuropa und Deutschland im Vergleich zu ihren autochthonen Habitaten eine eingeschränkte metazoische Endoparasitenfauna aufweisen [22,27,153]. Neuere Studien legen hingegen ein vielfältigeres und sich vergrößerndes Helminthenspektrum des Waschbären in diesen Gebieten nahe

[22,158,159]. Der Fokus im Bereich Parasiten liegt in der vorliegenden Arbeit deshalb auf der Untersuchung der Helminthenfauna bei Waschbären in BW. Im Folgenden wird eine Auswahl von Nematoden, Cestoden und Trematoden, die bei Waschbären auftreten können, vorgestellt.

Unter den Nematoden gehören laut Weinstein *et al.* [157] *B. procyonis* und *Physaloptera rara* zu den häufig registrierten "Core-Spezies". Andere parasitologisch oder genetisch nachgewiesene Nematoden sind *Toxocara canis* und *Toxascaris leonina* [160], *Trichinella* spp. [161], *Stongyloides procyonis* [29,158], *Trichuris* und *Capillaria* spp. [22,23,156], *Aonchotheca putorii* und *Hystrichis* spp. [158], *Ancylostomatidae* spp. und *Molineus patens* [162], *Porrocaecum* spp. [22,158], *Synhimantus laticeps* [22] und *Dirofilaria* spp. [155]. Wegen des zoonotischen Potenzials und der teilweise sehr hohen Prävalenzen ist *B. procyonis* unter den Nematoden der am meisten untersuchte Vertreter. *B. procyonis* gehört zur Ordnung Ascaridida und ist innerhalb der Gattung *Baylisascaris* die wohl pathogenste Spezies für Zwischenwirte [163,164]. In Europa wurde *B. procyonis* mit den Waschbären eingeführt und zählt dort zu den neu aufkommenden Helminthen mit zoonotischem Potenzial [58,73,163]. Gemäß Frantz *et al.* [40] ist es wahrscheinlich, dass sich *B. procyonis* in Zukunft auch in bislang *B. procyonis*-freien Waschbärenpopulationen ausbreiten wird. Der Lebenszyklus dieses Spulwurms verläuft fakultativ zweiwirtig, wobei der Waschbär als Endwirt fungiert [163]. In den meisten Fällen infizieren sich juvenile Waschbären durch die Aufnahme von embryonierten Eiern, während sich adulte Tiere indirekt über den Verzehr von infizierten Zwischenwirten anstecken [163,164]. Bisher wurden über 130 Zufalls- und Zwischenwirte (Nagetiere, Vögel, Karnivoren, Primaten) identifiziert, bei denen gelegentlich schwerwiegende klinische Veränderungen auftreten können [164-166]. Das Expositionsrisiko für Menschen ist durch die Anzahl infizierter Waschbären und die Dichte kontaminierter Latrinen determiniert [166,167]. Besonders gefährdet sind Menschen in urbanen Gebieten mit engem Kontakt zu Waschbären, darunter vor allem Kinder, die peroral infektiöse Eier aufnehmen können [166,167].

Zu den am häufigsten konstatierten Cestoden bei Waschbären zählen in den USA *Atriotaenia procyonis* [157,168] und in Europa *Atriotaenia incisa* [22,168]. Andere belegte Cestoden sind *Mesocestoides* spp. [156], *Hydatigera* spp. [169], *Taenia crassiceps* [170], *Taenia pisiformis* [171] und *Spirometra* spp. [172].

Bei Waschbären sind ebenfalls viele Trematoden-Arten dokumentiert. Zu den in Europa nachgewiesenen gehören *Isthmiophora* spp. der Familie Echinostomatidae [162], *Alaria alata* (Diplostomatidea) [173], *Plagiorchis muris* (Plagiorchiidae), *Macroorchis spinulosus* (Nanophytidae), *Consinium teneres* (Dicrocoeliidae) sowie verschiedene *Brachylaima* spp. der Familie Brachylaimidae [22].

6 Untersuchung von Infektionserregern im invasiven, gebietsfremden Waschbären in Baden-Württemberg

Das Spektrum der Erreger, das europäische Waschbären in sich tragen, und somit auch das zoonotische Infektionsrisiko, das von ihnen ausgeht, wird im Vergleich zu nordamerikanischen Waschbären bisher als gering eingeschätzt [21,55]. Es gibt jedoch nur wenige systematische Studien in Bezug auf Deutschland und Ausbreitungsrandgebiete wie BW. Solche Untersuchungen sind jedoch unerlässlich, um die Rolle dieser Tierart bei der Ausbreitung von Infektionserregern und als epidemiologisches Bindeglied zwischen Wild-, Zoo-, Haustieren und Menschen besser verstehen zu können. Daher konzentriert sich die vorliegende Doktorarbeit auf das Vorkommen von Helminthen und die ausgewählten zum Teil vektorübertragenen viralen und bakteriellen Infektionserregern, die der Waschbär bekanntermaßen beherbergen kann, welche aber für BW noch nicht systematisch erforscht wurden.

In der ersten Publikation (**P1**) liegt der Fokus auf vier Viren, CPPV-1, CDV, WNV und IAV, sowie zwei Bakterien, *pL* und *Ap*. Mit Hilfe spezifischer quantitativer Polymerase-Kettenreaktions (qPCR)-Methoden wurden Gewebe- und Blutproben von 102 erlegten wildlebenden Waschbären in BW auf die ausgewählten Erreger hin analysiert.

Die zweite Publikation (**P2**) ermittelt das Vorkommen von Darmhelminthen bei derselben Waschbärenstichprobe aus BW mithilfe genetischer, serologischer und parasitologischer Untersuchungsmethoden.

Die Befunde der beiden Publikationen werden in der Dissertationsschrift hinsichtlich der Bedeutung der Waschbären als epidemiologisches Bindeglied und Teil der Erregerausbreitung in BW diskutiert. Im Sinne des One-Health-Konzepts werden dabei der Klimawandel und die Urbanisierung sowie mögliche Folgen für Ökosysteme und die Biodiversität berücksichtigt.

III Publikationen

- 1 Reinhardt, N. P.; Köster, J.; Thomas, A.; Arnold, J.; Fux, R.; Straubinger, R. K. Bacterial and Viral Pathogens with One Health Relevance in Invasive Raccoons (*Procyon lotor*, Linné 1758) in Southwest Germany. *Pathogens* 2023, 12, 389. <https://doi.org/10.3390/pathogens12030389>

Article

Bacterial and Viral Pathogens with One Health Relevance in Invasive Raccoons (*Procyon lotor*, Linné 1758) in Southwest Germany

Nico P. Reinhardt ^{1,*} , Judith Köster ², Astrid Thomas ¹, Janosch Arnold ³, Robert Fux ⁴ and Reinhard K. Straubinger ¹ 

¹ Bacteriology and Mycology, Institute for Infectious Diseases and Zoonoses, Department of Veterinary Sciences, LMU Munich, 80539 Munich, Germany

² Aulendorf State Veterinary Diagnostic Centre (STUA), 88326 Aulendorf, Germany

³ Wildlife Research Unit, Agricultural Centre Baden-Wuerttemberg (LAZBW), 88326 Aulendorf, Germany

⁴ Virology, Institute for Infectious Diseases and Zoonoses, Department of Veterinary Sciences, LMU Munich, 80539 Munich, Germany

* Correspondence: nico_reinhardt@icloud.com

Abstract: In Europe, raccoons are invasive neozoons with their largest population in Germany. Globally, this mesocarnivore acts as a wildlife reservoir for many (non-)zoonotic (re-)emerging pathogens, but very little epidemiological data is available for southwest Germany. This exploratory study aimed to screen free-ranging raccoons in Baden-Wuerttemberg (BW, Germany) for the occurrence of selected pathogens with One Health relevance. Organ tissue and blood samples collected from 102 animals, obtained by hunters in 2019 and 2020, were subsequently analysed for two bacterial and four viral pathogens using a qPCR approach. Single samples were positive for the carnivore protoparvovirus-1 (7.8%, n = 8), canine distemper virus (6.9%, n = 7), pathogenic *Leptospira* spp. (3.9%, n = 4) and *Anaplasma phagocytophilum* (15.7%, n = 16). West Nile virus and influenza A virus were not detected. Due to their invasive behaviour and synanthropic habit, raccoons may increase the risk of infections for wildlife, domestic animals, zoo animals and humans by acting as a link between them. Therefore, further studies should be initiated to evaluate these risks.

Keywords: *Procyon lotor*; One Health; pathogen pollution; Germany; *Leptospira* spp.; *Anaplasma phagocytophilum*; carnivore protoparvovirus-1; canine distemper virus; West Nile virus; influenza A virus



Citation: Reinhardt, N.P.; Köster, J.; Thomas, A.; Arnold, J.; Fux, R.; Straubinger, R.K. Bacterial and Viral Pathogens with One Health Relevance in Invasive Raccoons (*Procyon lotor*, Linné 1758) in Southwest Germany. *Pathogens* **2023**, *12*, 389. <https://doi.org/10.3390/pathogens12030389>

Academic Editor: Bernard Davoust

Received: 27 January 2023

Revised: 24 February 2023

Accepted: 25 February 2023

Published: 1 March 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Biodiversity loss and the climate crisis weaken the resilience of ecosystems. Additionally, the merging of spatial boundaries between domestic animals, wildlife and humans, as well as microbial and vector adaptation, ultimately results in increasing environmental pollution and the distribution of (non-)zoonotic pathogens, particularly with (re-)emerging infectious diseases (EIDs) [1–4]. EIDs pose a threat to public health as, according to some publications, the majority of them bear a zoonotic potential (60.3%), and most of which derive from wildlife (71.8%) [1,3,4]. For this reason, it is crucial to address these pathogens and their hosts in the view of a One Health perspective [5,6].

One important host is the raccoon, which is a mesocarnivore belonging to the procyonid family, native to North and Central America and increasingly spreading as an invasive alien species (IAS) in Asia and Europe [7,8]. Raccoons have been included on the Union list of IAS of Regulation (EU) No 1143/2014 Art. 19 since 2016. In Germany, raccoons occur in varying population densities in all 16 federal states. There are two main foci of distribution in central and northeast Germany, but they are expected to populate most of the country by the middle of the 21st century [7,8]. As opportunistic generalists, raccoons live in a wide variety of habitats. Their synanthropic lifestyle is especially

important from an epidemiological perspective, because it leads to smaller home ranges and higher population densities due to advantages such as abundant food availability and shelter possibilities [9–11]. Raccoon density in the cities of Kassel and Bad Karlshof reaches 90–110 animals/km² [12]. The number of raccoons being hunted has substantially increased with a focus on northeast Baden-Wuerttemberg (BW), where the hunting bag amounted to 339 in the hunting season 2010/11 and increased to 4015 in 2020/21 [13]. Fischer et al. [7] estimate that the hunting bag data reflect about 10% of the actual population density, which would result in a total number of approximately 40,000 animals in BW. There, according to §7 section 8 of the Hunting and Wildlife Management Act (JWMG), the raccoon is under utilisation management, and consequently their spread needs to be counteracted (§5 section 3 JWMG).

Raccoons combine a wide-ranging distribution pattern with a high ecological damage potential. For example, they have negative interactions (competition, predation, disease transmission) with other wildlife and, being a reservoir for a variety of pathogens, also represent a threat to public and domestic animal health [9,14–16]. The occurrence of pathogens in raccoons has rarely been investigated in Germany, in particular in its southern regions. Therefore, we conducted a study, in which helminths and selected, partly vector-borne (non-)zoonotic and (re-)emerging viral and bacterial pathogens with One Health relevance, which the raccoon is known to host, were investigated. As a part of that survey, here we have focused on four viruses: the carnivore protoparvovirus-1 (CPPV-1) [17–21], canine distemper virus (CDV) [22–24], influenza A (IAV) [25–27] and West Nile virus (WNV) [28–30]; as well as two bacteria, the pathogenic *Leptospira* spp. (pL) [21,31,32] and *Anaplasma phagocytophilum* (*Ap*) [16,33,34]. Using specific qPCR methods, we screened tissue and blood samples of randomly collected free-ranging raccoons in BW for the selected pathogens. This study highlights the occurrence of CDV, CPPV-1, pL and *Ap* in raccoons from BW. The raccoons' synanthropic behaviour as an IAS make investigations of (non-)zoonotic EIDs especially necessary, for which it is susceptible to better understand its role in pathogen pollution and as a link between infections in wild and domestic animals and humans [1,2,4,10,16,34].

2. Results

A total of 30 out of 102 raccoons (28.3%, 95% CI: 20.8–39.3) were positive in qPCR of at least one of the detected four pathogens. Positive results were obtained for CPPV-1 (n = 8, 7.8%, 95% CI: 3.4–14.9), CDV (n = 7, 6.9%, 95% CI: 2.8–13.6), pL (n = 4, 3.9%, 95% CI: 1.1–9.7) and *Ap* (n = 16, 15.7%, 95% CI: 9.2–24.2) (Table 1 and Figure 1b). Neither IAV in lung tissue nor WNV in brain samples could be detected by RT-qPCR, so both are excluded from Table 1 and Figure 1b. Dual infections were seen in five raccoons. Two animals, both from a rural area, were infected with pL and CDV (WB18 (male, adult), WB19 (female, juvenile)). Raccoon WB34 was a female adult raccoon from an urban area with a coinfection with CDV and CPPV-1. Raccoon WB73 (rural, female, juvenile) was positive for *Ap* and pL and one male, urban, adult raccoon (WB91) was positive with *Ap* and CPPV-1. Interestingly, all five coinfections originate from OAK and SHA, which are neighbouring counties (Table 2 and Figure 1b).

The classification into urban and rural sampling communities showed that 66.7% (68/102) of the raccoons originated from urban areas and 33.3% (34/102) from rural areas (Table 1 and Figure 1a). In urban areas, 10.3% (7/68) were hunted on private property. Raccoon WB90 was hunted in the municipality of Essingen (OAK), partly urban according to the Federal Office for Building and Regional Planning (BBSR) [35,36], but since the hunting ground is known to be in a rural area, it was also categorised as rural.

Table 1. Results. The table shows the absolute and relative results with 95% confidence intervals according to the individual categories. The relative frequency describes the proportion of positive results within each category.

Parameters	No.	Positives	No. Pos (%; CI 95%)			
			CPPV-1	CDV	pL	Ap
Total	102	30 (28.3; 20.8–39.3)	8 (7.8; 3.4–14.9)	7 (6.9; 2.8–13.6)	4 (3.9; 1.1–9.7)	16 (15.7; 9.2–24.2)
Years						
2019	33 (32.4; 23.4–42.3)	10 (30.3; 15.6–48.7)	1 (3; 1.9–24.3)	3 (9.1; 1.9–24.3)	2 (6.1; 0.7–20.2)	6 (18.2; 7–35.5)
2020	69 (67.6; 57.7–76.6)	20 (29; 18.7–41.2)	7 (10.1; 4.2–19.8)	4 (5.8; 1.6–14.2)	2 (2.9; 0.4–10.1)	10 (14.5; 7.2–25)
Area						
rural	34 (33.3; 24.3–43.4)	14 (41.2; 24.6–59.3)	0 (0; 0–10.3)	4 (11.8; 3.3–27.5)	3 (8.8; 1.9–23.7)	10 (29.4; 15.1–47.5) §
urban	68 (66.7; 56.6–75.7)	16 (23.5; 14.1–35.4)	8 (11.8; 5.2–21.9)	3 (4.4; 0.9–12.4)	1 (1.5; 0.03–7.9)	6 (8.8; 3.3–18.2) §
Sex						
♀	39 (38.2; 28.8–48.4)	11 (28.2; 15–44.9)	3 (7.7; 1.6–20.9)	4 (10.3; 2.9–24.2)	2 (5.1; 0.6–17.3)	5 (12.8; 4.3–27.4)
♂	63 (61.8; 51.6–71.2)	19 (30.2; 19.2–43)	5 (7.9; 2.6–17.6)	3 (4.8; 1–13.3)	2 (3.2; 0.4–11)	11 (17.5; 9.1–29.1)
Age						
>1 a	56 (54.9; 44.7–64.8)	23 (41.1; 28.2–55.0)	6 (10.7; 4–21.9)	6 (10.7; 4–21.9)	2 (3.6; 0.4–12.3)	12 (21.4; 11.6–34.4)
<1 a	46 (45.1; 35.2–55.3)	7 (15.2; 6.3–28.9)	2 (4.4; 0.5–14.8)	1 (2.2; 0.1–11.5)	2 (4.4; 0.5–14.8)	4 (8.7; 2.4–20.8)
Age-Sex Class						
>1 a, ♀	16 (15.7; 9.2–24.2)	7 (43.8; 19.8–70.1)	2 (12.5; 1.6–38.3)	3 (18.8; 4.1–45.6)	0 (0; 0–20.6)	3 (18.8; 4.1–45.6)
>1 a, ♂	40 (39.2; 29.7–49.4)	16 (40; 24.9–56.7)	4 (10; 2.8–23.7)	3 (7.5; 1.6–20.4)	2 (5; 0.6–16.9)	9 (22.5; 10.8–38.5)
<1 a, ♀	23 (22.5; 14.9–31.9)	4 (17.4; 5–38.8)	1 (4.4; 0.1–21.9)	1 (4.4; 0.1–21.9)	2 (8.7; 1.1–28)	2 (8.7; 1.1–28)
<1 a, ♂	23 (22.5; 14.9–31.9)	3 (13; 2.8–33.6)	1 (4.4; 0.1–21.9)	0 (0; 0–14.8)	0 (0; 0–14.8)	2 (8.7; 1.1–28)

§ significant relationships calculated with Fisher's exact test with a significance level $p \leq 0.025$. a, year; CPPV-1, carnivore protoparvovirus-1; CDV, canine distemper virus; pL, pathogenic *Leptospira* spp.; Ap, *Anaplasma phagocytophilum*.

Table 2. Coinfections of positive pathogens.

Raccoon No.	District	Municipality	Area Type	Sex	Age	CDV	Ap	CPPV-1	pL
WB 18	SHA	Frankenhardt	rural	♂	>1 a	+	-	-	+
WB 19	SHA	Frankenhardt	rural	♀	<1 a	+	-	-	+
WB 34	OAK	Aalen	urban	♀	>1 a	+	-	+	-
WB 73	SHA	Mainhardt	rural	♀	<1 a	-	+	-	+
WB 91	OAK	Aalen	urban	♂	>1 a	-	+	+	-

SHA, Schwäbisch Hall; OAK, Ostalbkreis; a, year; CDV, canine distemper virus; Ap, *Anaplasma phagocytophilum*; CPPV-1, carnivore protoparvovirus-1; pL, pathogenic *Leptospira* spp.; +, positive; -, negative.

At the time of necropsy, 80.4% (82/102) of the animals examined were classified as fresh, 12.7% (13/102) as minimally and 4.9% (5/102) as moderately autolysed. None of the animals collected was severely autolysed. Two raccoon torsos (1.96 %) were mutilated; one intestine and one liver were incomplete due to hunting. In three of the hunted raccoons, the hunters described behavioural abnormalities such as aggressiveness (WB02), ataxia/apathy (WB19) and loss of shyness (WB23).

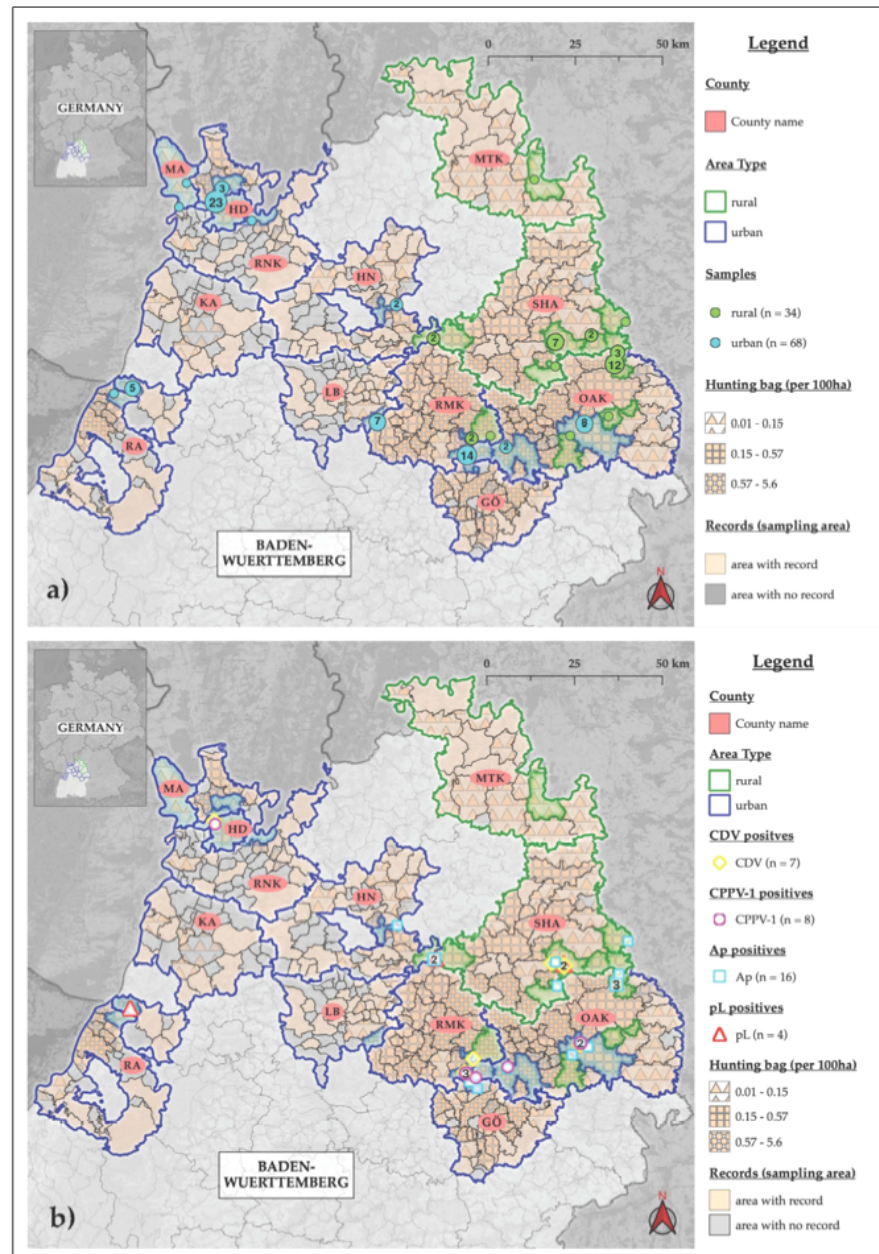


Figure 1. Map of (a) raccoon sampling sites and (b) pathogen locations. The cumulative illustration of raccoon abundance is based on survey records and hunting bag data from 2019 of the Wildlife Research Unit at Agricultural Centre Baden-Wuerttemberg (WFS; LAZBW, Aulendorf, Germany). The hunting bag describes the number of raccoons hunted per 100 ha. MA (Mannheim), HD (Heidelberg), RNK (Rhein-Neckar-Kreis), RA (Rastatt), KA (Kreis Karlsruhe), HN (Kreis Heilbronn), LB (Kreis Ludwigsburg), RMK (Reims-Murr-Kreis), GÖ (Kreis Göppingen), MTK (Main-Tauber-Kreis), SHA (Kreis Schwäbisch Hall), OAK (Ostalbkreis). (b) Canine distemper virus (CDV), carnivore protoparvovirus-1 (CPPV-1), pathogenic *Leptospira* spp. (pL), *Anaplasma phagocytophilum* (Ap).

2.1. Carnivore Protoparvovirus-1

In eight intestine samples, CPPV-1 was detected with Ct-values between 23.2 and 37.6 by qPCR [37]. Five of the CPPV-1-positive animals originated from OAK, two from RMK and one from HD (Figure 1b). Raccoon WB91 (FPV_VP2_Raccoon_Germany), male and adult, with a Ct-value of 23.2, had a dual infection with *Ap* (Ct = 29.51) and came from Wasseraalringen in the municipality of Aalen (OAK). The raccoon WB34 was also tested positive for CDV (Table 2). There were no pathohistological results of the intestine in WB91. All CPPV-1 positive raccoons came from urban areas (Table 1).

The genotype of one intestinal sample positive for CPPV-1 (FPV_VP2_Raccoon_Germany) could be assigned to the FPV-clade (Figure 2). We analysed the first 647 (amino-terminal) nucleotides (nt) of the VP2-gene and detected an amino acid pattern typical for FPV at aa80: lysine; aa93: lysine; and aa103: valine.

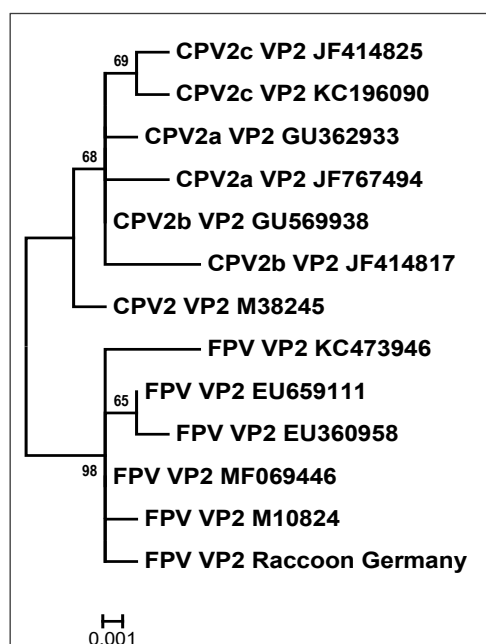


Figure 2. Phylogenetic analysis of FPV_VP2_Raccoon_Germany. ML tree (500 bootstraps) based on the VP2-sequence of the carnivore protoparvovirus-1 (CPPV-1), including reference sequences of the feline panleukopenia virus (FPV) and the canine parvovirus-2 (with subtypes CPV-2a, -2b and -2c). The scale bar indicates nucleotide substitutions per site.

2.2. Canine Distemper Virus

In seven samples out of 102 (6.9%), CDV was detected with a RT-qPCR from brain tissue [38]. Ct-values in the positive samples ranged from 18.4 to 37.4. The positive animals could be assigned to the districts of SHA (n = 3), RMK (n = 2), HD (n = 1) and OAK (n = 1; Figure 1b). All three raccoons from SHA (WB18, WB19, WB93) came from the municipality of Frankenhardt, and in two of them, coinfections with pL were detected (Table 2). With a Ct-value of 18.4, raccoon WB19, a juvenile female raccoon from Frankenhardt (SHA), was described by the hunter as ataxic and lethargic, had a fasting gastrointestinal tract at necropsy and was classified as moderately emaciated (weight: 1.2 kg). Pathohistological examinations of the brain, lungs and liver showed focal submeningeal haemorrhage, minor alveolar pulmonary oedema and a pyogranuloma in the liver. Raccoon WB19 had coinfection with pL (Ct = 31.2). The adult, female raccoon WB34 from Aalen (OAK) with a Ct = 28.5 had a coinfection with CPPV-1 (Ct = 36.9; Table 2).

2.3. Pathogenic *Leptospira* spp.

Using qPCR, which was carried out according to the Adiavet Lepto Real Time Kit (Bio-X, AdiaGene, Rochefort, Belgium), specific fragments of the genome of the seven pL

strains were detected in the liver and kidney samples of four of the 102 raccoons. Three were considered positive (WB08 Ct = 33.3, WB18 Ct = 37.4, WB19 Ct = 31.2), and one raccoon (WB73) was weak positive with a Ct-value of 40.1. Of those four, one came from KA and three from SHA, where three coinfections were detected (WB18, WB19, WB73; Table 2 and Figure 1b). The pathohistological findings for the raccoon WB19 have already been described in Section 2.2. The extractions of the four positive samples from the liver and kidney were re-examined with a different PCR method according to Ferreira et al. [39] to verify them before being sent to Boehringer Ingelheim Animal Health France (Lyon). The initially weak positive raccoon (WB73) could not be confirmed as positive. Ct-values of the positive kidneys (WB08 Ct = 28.09, WB18 Ct = 32.58, WB19 Ct = 26.24) were slightly lower than those from the livers (WB08 Ct = 37.71, WB18 Ct = 34.34, WB19 Ct = 32.81). The confirmed DNA extractions from the three positive raccoons with Ct < 40 were then sent to Boehringer Ingelheim Animal Health France (Lyon) for molecular genetic differentiation of the *Leptospira* serogroups. The detection of pL was confirmed in all three samples, and the genetic differentiation revealed in all three kidney extractions the *Leptospira interrogans* serogroup Australis and in raccoon WB08 and WB18 also serogroup Icterohaemorrhagiae; WB19 was only positive for serogroup Australis. In the liver samples, only WB18 was positive for *L. interrogans* serogroup Icterohaemorrhagiae.

2.4. *Anaplasma phagocytophilum*

Blood and spleen samples of 16 of 102 raccoons tested positive for the *msp2*-gene of *Ap* using a specific qPCR test [40]. Of the 16 samples, 12 were positive for *Ap* in both spleen and blood. Four of the 16 samples were positive in blood only. The Ct-values of the blood samples ranged from 26.6 to 35.2, and those of the spleen samples from 26.4 to 34.4. In all but one (WB74) of the blood samples (mean Ct = 29.59), Ct-values were lower than in the spleen samples (mean Ct = 31.11). *Ap*-positive raccoons originated from OAK (n = 7), SHA (n = 5), GÖ (n = 2) and HN (n = 2) (Figure 1b). Therefore, 75% of the *Ap*-positive raccoons came from OAK and SHA. A significant ($p \leq 0.025$) relationship ($p = 0.01$, OR = 0.24; CI: 0.06–0.81) was observed between a positive result and the area category with Fisher's exact test; therefore, 10 of 16 *Ap*-positive raccoons came from rural areas (Table 1 and Figure 1b). No other significant dependencies could be determined with Fisher's exact test. Using the directional MWU test, we found that raccoons positive for *Ap* (weight: 5.1 kg, length: 67 cm) were significantly heavier and larger (weight: $p = 0.025$, length: $p = 0.004$, significance level $p \leq 0.05$) than negative raccoons (weight: 4.3 kg, length: 57 cm).

3. Discussion

In this study, we found pathogens with One Health relevance in free-ranging raccoons in Baden-Wuerttemberg (BW, Germany). In total, 30 out of 102 raccoons were positive in PCR for at least one of the four detected pathogens. There were positive results for CPPV-1, CDV, pL and *Ap* (Table 1 and Figure 1b). Based on these results, the raccoons' tendency to spread and their synanthropic habits, raccoons may contribute to the environmental pathogen pollution. Therefore, raccoons may increase the risk of infection for wildlife, domestic animals, captive zoo animals and humans by acting as a link between these groups [1,4,7,16,34].

As described in the results, we detected five dual infections that all originated in SHA and OAK counties. This can be explained by a relatively high raccoon density in these areas and, thus, the high risk of infection with specific pathogens, such as *Ap* and CDV (Figure 1b). Coinfections associated with immunosuppression triggered by CDV and *Ap* infections have already been described in the literature, also regarding CDV in raccoons [41–44].

3.1. Method Limitations

The focus of the raccoon acquisition was on the northern half of BW, as this is where the population density and, thus, the hunting numbers are highest (Figure 1). It should be

noted that the spatial and temporal raccoon carcass distribution and submission are subject to bias, as it depends on many complex biological (e.g., raccoon population dynamics) and human-related factors (e.g., the commitment of hunters in the respective areas) [45]. Since the present study aimed to test for the presence of specific pathogens in the BW raccoon population, we limited our sample size to about 100 animals. To acquire precise prevalence and population estimates, the numbers would have to be higher.

As already explained, with a hunting bag of 4015 raccoons during hunting season 2019/2020, the raccoon population was estimated at about 40,000 animals in BW [8,13]. A sample of 102 raccoons therefore represents about 3.3% of the hunting bag and 0.3% of the estimated population in BW. This sample size allows only limited conclusions to be drawn from the actual population structure. The fact that two-thirds of the sampled raccoons originate from urban areas (proportion of urbanised areas of at least 50%) is to be expected considering the dense settlement of the sample area and the higher raccoon densities in urban areas (Figure 1a) [9,11,35]. The proximity of the raccoon's habitats to human settlements is also evident from the fact that 10.3% of the urban raccoons were collected on private property. However, the division into urban and rural is just a tool, as only the hunting community was categorised, but not the spatial use of the individual raccoon. Home range sizes can vary depending on the season, habitat type, area type (urban > rural), sex (male > female) and age (adult > juvenile) [9,14,21].

The age categorisation based mainly on weight is particularly inaccurate, which is why other parameters were also considered. The body weight of raccoons can vary considerably by season depending on the latitude, as they accumulate a thick fat depot during the winter months [46].

It is probable, despite the high sensitivity and specificity of the established PCR methods, that the individual pathogens' prevalences are underrepresented. Factors such as autolysis, tissue sample selection and sampling timing, which depend on pathogenesis and incubation time, may have influenced the detection rate [31,38,40,47–50].

3.2. Carnivores *Protoparvovirus-1*

The CPPV-1 prevalence of 7.8% is within the range of previously published data in carnivores in Germany. In Europe and Germany, there is only one other published case of CPPV-1 in raccoons from Berlin with a prevalence of 7.5% (N = 40), associated haemorrhagic enteritis in the only juvenile, and no apparent intestinal lesions in the two adult raccoons [21]. They did not perform any phylogenetic differentiation. In free-ranging carnivores in Germany, CPV-2-like strains were detected with seroprevalences up to 13% (N = 500) in red foxes (*Vulpes vulpes*) and 6% in raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*; N = 33) [51]. We did not observe typical intestinal changes such as haemorrhagic enteritis or congestion in any of the positive animals in gross necropsy or in raccoon WB91 in pathohistology [21,52].

In one of the positive animals a phylogenetic analysis was performed (WB91, FPV_VP2_Raccoon_Germany) and we were able to analyse the first 647 (amino-terminal) nucleotides of the VP2-gene, where we detected amino acid substitutions typical for FPV [17,20,53]. The VP2-gene is the dominant structural protein and the main factor affecting the host range and virus–host interactions [53]. Our phylogenetic evaluation showed that the discovered sequence FPV_VP2_Raccoon_Germany is almost identical to a sequence described in 2010 in a raccoon from Canada (GenBank MF069446; Figure 2) [18]. Canuti et al. [18] found that the isolated FPV-sequences, including MF069446, most closely matched isolates from domestic cats, other felines and one raccoon from the USA. Therefore, they have suggested that multiple viral strains of FPV must circulate in North America's wildlife. In German cats, FPV-infections account for up to 95% of CPPV-1 infections [20]. CPV-2-like variants (CPV-2, CPV-2a), which are more commonly associated with dogs, were detected more frequently in raccoons in North America compared to FPV [18–20].

Epidemiologically, it is interesting that all positive raccoons came from urban areas (Table 1). We conclude that the density of domestic animals increases with the human

population density. Therefore, urban areas raise the chances of contact with raccoons and cross-species transmission in both directions [54].

3.3. Canine Distemper Virus

The calculated prevalence of 6.9% was lower than in previous studies in Germany, despite the poor comparability due to the use of different methods. In this study, the frontal cortex and brainstem were examined, as the virus can persist there for up to three months, depending on the humoral immune defence, but acute infections could be missed [44,47]. However, acute infections cannot be detected with this tissue material, which is why the actual prevalence may have been higher. In Mecklenburg-Western Pomerania (Germany), CDV (European wildlife lineage) was detected for the first time in Europe in 2007 in 22.7% (N = 22) of the raccoons examined [55,56]. One year later, a prevalence of 14.6% (N = 206) was observed in Lower Saxony [57]. In the first major CDV outbreak among free-ranging raccoons in Europe, 74/97 (76.3%) raccoons tested positive for CDV in Berlin in 2012 and 2013 [24]. Consecutive phylogenetic studies revealed that the isolated strains belong to the Europe lineage of CDV and are closely related to those of German red foxes and a domestic dog from Hungary [24].

The detection of positive raccoons from different parts of northern BW suggests a widespread endemic CDV situation. This is also evident from the data of the Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt (CVUA) Stuttgart and the State Rabies and Epidemiology Centre Freiburg, which examine raccoons for CDV that have been sent in with behavioural or pathological abnormalities [58,59]. In 2015, the first positive raccoon was detected in LB. Since then, the proportion of examined raccoons and the detection rate of CDV increased. In 2018, 10 positive raccoons were observed; two years later, there were 28 positive, and in 2021, there were already 46 positive raccoons observed in BW [58,59]. There has been a clear epidemiological focus on the districts with a high raccoon density (Stuttgart, Esslingen, GÖ, LB, RMK, OAK, SHA) [58,59]. It is conjectured that the positive raccoons were infected by red foxes or other susceptible animals, as CDV is highly transmissible between species, and the endemic areas of the sensitive species overlap in time and space [24,57–59]. Thus, raccoons could be part of a “metareservoir” in BW where CDV infections can be maintained by interacting wildlife reservoir populations [23].

In raccoon WB19, a CDV infection is probably the causative agent due to the low Ct value of 18.3 and the observed characteristic neurological clinical symptoms (ataxia, apathy) [43]. No inclusion bodies were found in the brain histology, which, however, do not always have to be associated with a positive PCR detection [47].

3.4. Pathogenic *Leptospira* spp.

To our knowledge, this is the third detection of pL in raccoons in Germany and Europe. With a prevalence of 3.9% it lies between the first study published by Anheyer-Behmenburg [57] with a prevalence of 1.3% (N = 457, Lower Saxony) and the second by Rentería-Solís [21] with a prevalence of 12.3% (N = 65, Berlin, Mecklenburg-Western Pomerania).

One reason may be that the weak positive-reacting raccoon was not verified with a second PCR method, as described by Ferreira et al. [39], which might have been less sensitive. Another reason might be that this method only identifies four pathogenic *Leptospira* species (*Leptospira interrogans*, *L. kirschneri*, *L. borgpetersenii* and *L. noguchii*), and not seven as with the Adiavet’s test kit (*L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. borgpetersenii*, *L. nugochii*, *L. weilii*, *L. santarosai*, *L. inadai*). Thus, WB73 might have been weak-positive for *L. weilii*, *L. santarosai* or *L. inadai*. The PCR assay according to Ferreira et al. [39] appeared to be more sensitive in the kidney samples of the three positive raccoons than in the liver samples, as the former showed lower Ct-values.

The PCR method used in this study revealed coinfections in two raccoons with the serogroup Icterohaemorrhagiae and Australis, while the third was only infected with serogroup Australis. Coinfections with multiple serovars have been described more frequently in raccoons, but according to our research, this is the first time in German

raccoons, so it could mean a new epidemiological relevance for them as an amplifying host [54]. Rentería-Solís [21] also identified *L. interrogans* serogroup Icterohaemorrhagiae (n = 4, Berlin) and Australis (n = 1, Mecklenburg-Western Pomerania). These documented serogroups are highly virulent and can potentially cause severe infections with various clinical signs in animals and humans [60]. In Europe, serogroup Icterohaemorrhagiae is mainly adapted to rats (*Rattus norvegicus*) and is considered the most common serogroup in Germany, causing 35% of human infections. In comparison, serogroup Australis is responsible for 10% of human cases, with hedgehogs serving as the main host [60]. The prevalence of pL and individual serovars in wildlife strongly depends on the season, area type, host abundance, fauna biodiversity and other biotic and abiotic factors [50].

From Japan but primarily from North America, there are many records of pL, mainly *L. interrogans*, with prevalences of up to 54.8% with a wide range of serogroups having been detected [16,31,32,61]. Raccoons are maintenance hosts which predestines them as sentinels for monitoring epidemiological changes in pL and for designating nationwide and regional high- and low-risk regions [31,32,61,62].

3.5. *Anaplasma phagocytophilum*

According to our research, this is the first detection of *Ap* in raccoons in Germany, with 16 of 102 raccoons (15.69%) testing positive. In subclinically and persistently infected animals, the number of circulating organisms varies intermittently, which is why blood and spleen samples were examined [40,48]. The blood samples seem to be more yielding because Ct-values were lower in all but one blood sample.

There are only a few publications on the role of raccoons in the *Ap* infection cycle in Europe [33,34]. With a prevalence of 1.3% (N = 118), which is markedly lower than what we detected, Hildebrand et al. [34] provided the first molecular detection of *Ap* ecotype I in the European raccoon population from Poland. In comparison, the prevalence of *Ap* in red foxes from Germany has been 8.2% (N = 122), and in neighbouring countries, between 2.7% (N = 111) and 34.48% (N = 29) [33,49]. Four ecotypes of *Ap* occur in Europe, with ecotype I being the most important as it is widely distributed and appears in a broad range of hosts, including humans [63,64]. *Ixodes ricinus* is the primary vector of *Ap* in Europe, with prevalences of less than 1% to 17.4% in Germany and 4.5% in BW [65–67]. We assume that the positive raccoons were infected with *Ap* by *Ixodes ricinus*.

Raccoons and other (meso-)carnivores can serve as sentinels for the spread of *Ap* in the tick population and can hence be considered indicators of the infection risk for domestic animals and humans in the studied areas [33,41,63–65]. Notably, 75% of the *Ap*-positive raccoons came from two districts only (OAK, SHA). Within these districts, however, the distribution is relatively broad. Clusters of three positive raccoons were documented in the municipality of Ellenberg (OAK) and two from Aalen (OAK) (Figure 1b).

In the USA, raccoons have already proven to be an important reservoir and amplifier for *Ap* as they are highly susceptible to the pathogen, can transmit *Ap* to competent tick stages and showed a molecular prevalence of 24.6% [16,33]. Therefore, they could act as propagation hosts, like red foxes, between sylvatic and synanthropic habitats, as they introduce infected ticks into the environment of domestic animals or humans [33,49]. This may lead to increased infestation with and infection of ticks, thus contributing to the pathogenic pollution of *Ap* and other tick-borne pathogens [2,33,42].

We found that raccoons positive for *Ap* were significantly heavier and larger than negative individuals. Most *Ap*-positive animals were adults (12/16; 9/12 males) and males (11/16), both heavier than juveniles or females. Observations in raccoons and canids are consistent with this, where adults are more likely to explore larger geographical areas and consequently are more exposed to higher tick infestations [33,68]. Knowing that *Ap* causes persistent infections, it is reasonable to presume that adults are more likely to carry an infection with *Ap* due to their age. The prevalence rates depend on habitat structure and on the occurrence and availability of typical reservoir hosts or vectors [42,49]. This explains the significant relationship between a positive result and area type; 10 of 16 *Ap*-positive

raccoons came from rural areas (OAK, SHA), where the likelihood of being exposed to ticks and thus infected with *Ap* is higher than in urban areas (Table 1 and Figure 1b).

3.6. Lack of Detection for IAV and WNV

The IAV and WNV assays were performed using an approved and accredited RT-qPCR protocol with described organ samples. None of the two viruses were detected. It should be emphasised that the sample size was too small to extrapolate this statement to the whole BW raccoon population. Both epidemiological and methodical factors influence the test result and can lead to detection failure. An epidemiological factor is that there has been no transmission of the pathogen into the susceptible population under investigation due to the absence of or insufficient opportunities for infection [25–27,30]. Thus, there was no major IAV outbreak in Germany, nor was WNV detected in animals or humans during the sampling period in the sampling region [69–73].

Methodological factors, such as method selection and sample material, which are inconsistent in the few existing molecular studies on IAV and WNV in raccoons, need to be considered. The sample material selected for both IAV (lungs) and WNV (brain) may not be the most yielding tissues, as they only become infected at an advanced stage of infection [26,27]. In raccoons, oral, nasal and faecal shedding is described for both IAV and WNV, which is why oral, nasal and rectal swabs or intestine samples should also be considered as sample probes [25,27,30,74]. The timing of sampling during infection is important; nevertheless, little is known about the pathogenesis of WNV and IAV in raccoons [26,30]. When selecting methods, serological diagnostics should be considered as well for surveillance studies, as IAV- and WNV-exposure might be detected months after infection [28–30].

3.7. Raccoons and Pathogen Pollution

Besides most anthropogenic environmental factors, host- and pathogen-specific factors influence environmental pathogen pollution and epidemiologic dynamics between wildlife species, domestic animals and humans [1]. Changes in ecosystems, in particular human-caused alterations such as urbanisation and climate crisis, may influence the occurrence and spread of pathogens, vectors or reservoir hosts such as raccoons and thus the epidemiology of (non-)zoonotic EIDs [1,2,5,6,16]. Depending on the interacting species and their ecology, the epidemiology of pathogens (*Ap*, *pL*) may vary in terms of their geographical distribution, including specific variants, abundance and host range [1,33,66]. Accordingly, the raccoon may possibly impact the epidemiology of these pathogens in BW [7,13]. Furthermore, raccoons may help pathogens to persist in the environment for a more extended period, giving rise to new and occasionally more virulent variants of pathogens and contributing to epidemic outbreaks with sometimes high mortality events (CDV, CPPV-1) [17,20,22,23,31,32,44,61].

4. Materials and Methods

4.1. Sample Collection

In this study, tissue samples from 102 free-ranging raccoons were analysed. The animals were randomly collected between May 2019 and November 2020 in 27 municipalities of 12 counties in BW: City of Heidelberg (HD) and Mannheim (MA) and following districts Ostalbkreis (OAK; Ellenberg, Westhausen, Aalen, Lorch, Essingen, Schwäbisch Gmünd), Schwäbisch Hall (SHA; Fichtenau, Frankenhardt, Stimpfach, Bühlerzell, Krefßberg, Mainhardt), Rems-Murr-Kreis (RMK; Alfdorf, Plüderhausen), Karlsruhe (KA; Rheinstetten), Ludwigsburg (LB; Remseck am Neckar), Main-Tauber-Kreis (MTK; Weikersheim), Heilbronn (HN; Weinsberg, Wüstenrot), Rhein-Neckar-Kreis (RNK; Schriesheim, Dossenheim, Neckargemünd), Rastatt (RA; Durmersheim), Göppingen (GÖ; Börtlingen, Birenbach). More than 10 raccoons each were collected from four counties (HD, OAK, SHA, RMK), between 5–9 from KA as well as LB and less than five animals each from MTK, GÖ, HN, RNK, MA and RA. Until necropsy, the carcasses were stored at -20°C . No ethical approval was required for this study.

Since the hunting season (according to §10 DVO JWMG 2015, of 25.02.2018) in the sample years for raccoons in BW lasts from August to February, all raccoons were hunted in these months except for one road-killed raccoon in May. In 2019, 32.4% (33/102) of the raccoons were collected from August to December, while in 2020, 67.6% (69/102) of them were collected from January to February and from August to October. Two raccoons were found dead; 100 out of 102 animals were either shot by hunters from a stand (31/100) or caught by a trap and then shot (69/100), according to the current hunting law in BW (§ 41 Section 2 JWMG). The hunters were asked to freeze the collected animals at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ as soon as possible. The municipalities where the hunting sites are located were categorised into rural and urban areas based on the classification of the BBSR [35,36].

4.2. Necropsy

One day before the gross necropsy, executed in the BSL3-laboratory of the Parasitology Unit at the University of Hohenheim under the required safety standards, the carcasses were thawed at $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. To assess the quality of the carcasses, they were classified as fresh, minimally or moderately autolytic. Heavily autolytic animals were excluded.

The weight, length and sex of the animals were recorded, and their age was rated as adult (>1 -year-old) or juvenile (<1 -year-old) based on tooth age eruption and wear, weight and length, reproductive status and hunting history [46,75,76]. Organ samples were collected for molecular studies at necropsy and then rapidly frozen at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. The tissue samples analysed in this study are listed in Table 3. Brain samples of individuals with behavioural abnormalities described by hunters and visually altered organs were placed in formalin 10% and forwarded to the Aulendorf State Veterinary Diagnostic Centre (STUA, Germany) for pathohistological examination.

Table 3. Tested sample materials and used qPCR methods.

Pathogen	Sample Material	qPCR
CDV	brain stem, frontal cortex [44,47]	Elia et al. [38]
CPPV-1	small intestine [53]	Decaro et al. [37]
IAV	lung [26,27]	Virotype [®] Influenza A Kit (Indical)
WNV	brain stem, frontal cortex [77]	Eiden et al. [78]
pL	kidney, liver [39]	Adiavet Lepto Real Time Kit [®] (Bio-X, Adiagene), Ferreira et al. [39]
Ap	blood, spleen [40,48]	Courtney et al. [40]

CDV (canine distemper virus), CPPV-1 (carnivore protoparvovirus-1), IAV (influenza A virus), WNV (West Nile virus), pL (pathogenic *Leptospira* spp.), Ap (*Anaplasma phagocytophilum*).

4.3. RNA and DNA Extraction

At STUA, RNA was extracted from 25 mg of the brain stem and frontal cortex for molecular examinations of WNV and CDV as was the same amount of lung tissue for IAV analyses. DNA was isolated from 25 mg liver and kidney tissue to be tested with qPCR for pL. The DNA or RNA from the respective tissue was extracted according to the manufacturer's instructions of the IndiSpin[®] Pathogen Kit (Indical Bioscience, Leipzig, Germany). Before extracting the RNA, 10 μL of IC RNA (Indical Bioscience, Leipzig, Germany) was added to the sample as an amplification control.

At the Institute for Infectious Diseases and Zoonoses of the LMU Munich, the isolation of DNA from blood, spleen and intestine tissue was carried out according to the manufacturer's instruction of the QIAamp DNA Mini Kit[®] (Qiagen, Hilden, Germany) with a final elution volume of 100 μL . One DNA isolation control (DIC) added with PBS buffer instead of sample material was performed per DNA extraction run. DNA was extracted from blood (200 μL) and spleen tissue ($\sim 0.5\text{ mm}^3$ in volume) for Ap-PCR and from intestinal tissue of the same size for CPPV-1-PCR. The manufacturer's extraction protocol differed for DNA isolation of blood compared to tissue and was additionally adapted as follows. To mechanically digest the tissue samples, they were placed in a Lysing Matrix Tube A

(MP Biomedicals) and mixed with 120 μL (not 100 μL) of PBS buffer, then homogenised using FastPrep-24™ 5G (MP Biomedicals FastPrep® Family) for 40 s at a rotational speed of 6.0 m/s.

4.4. PCR Analysis

Every PCR performed at STUA followed accredited standard operating procedures (SOPs). For molecular detection of an 83-bp long viral RNA fragment within the N-protein gene specific for CDV, a RT-qPCR from the brain tissue (brain stem and frontal cortex) was performed according to the previously described protocol of Elia et al. [38] (Table 3). With this method up to 10^2 copies of RNA can be detected, which indicates a high sensitivity [38]. The same brain samples were tested for the presence of WNV using RT-qPCR according to the method of the Friedrich-Loeffler Institute (FLI) [78] (Table 3). Using primers encoding the 5'-untranslated region (UTR) and the non-structural region NS2A, a differentiation of lineages 1 and 2 of WNV is possible and this sensitive protocol is able to detect 1.1–11 copies of RNA per reaction [78]. The detection of the IAV-genome from the lung tissue by RT qPCR was carried out with the Virotype® Influenza A Kit (Indical; Table 3). We used the qPCR according to the Adiavet Lepto Real Time Kit® (Bio-X, Adiagene, Rochefort, Belgium) to detect specific fragments of the genome (hemolysis-associated Protein 1 (hap-1)) of the seven pL species (*L. interrogans*, *L. borgpetersenii*, *L. weilii*, *L. nugochii*, *L. santarosai*, *L. inadai* and *L. kirschneri*) in the liver and kidney samples (Table 3). Differentiation between the individual species is not possible with this PCR. Therefore, in the case of positive pL results, DNA was extracted from the positive kidney and liver samples as described above for the tissue samples at the Institute for Infectious Diseases and Zoonoses of LMU Munich. To verify the DNA extractions, a qPCR, according to Ferreira et al. [39], was performed before sending them to Boehringer Ingelheim Animal Health France (Lyon; Table 3). The sensitivity of this PCR is estimated by Ferreira et al. [39] to be <10 genome equivalents (GE). There, a PCR procedure was used to genetically differentiate the individual pL samples in eight serogroups (Icterohaemorrhagiae, Australis, Canicola, Autumalis, Pomona, Sejroe, Grippotyphosa, Pyrogenes).

At the Institute for Infectious Diseases and Zoonoses of the LMU Munich, blood and spleen samples were tested for the msp2-gene (77-bp fragment) of *Ap* by qPCR, according to Courtney et al. [40] (Table 3). The sensitivity of this multiplex assay for *Ap* has been shown to be 0.125 infected cells, which is equivalent to approximately <2 copies of single-copy 16S rRNA [40]. In addition, intestinal samples were examined for the VP2-gene (83-bp fragment) of the CPPV-1 to detect FPV and CPV-2 subtypes (CPV-2; CPV-2a, -2b, -2c) by qPCR according to Decaro et al. [37] (Table 3). This method provides precise quantitation between 10^2 and 10^9 copies of standard DNA, which is why it is considered highly sensitive [37]. We adapted both PCR protocols to the Qiagen QuantiNova™ Taq polymerase and performed a triplicate approach for each sample on the LightCycler480® system (Roche). The detection format was a monocolour hydrolysis probe with a FAM-adapted fluorescence channel between 465–510nm. The results were evaluated using the Abs Quant/2nd Derivative Max setting. For samples with a Ct-value ≥ 35 (*Ap*) or ≥ 37 (CPPV-1), the Abs Quant/Fit Points method, in the default setting, was used to calculate the exact Ct-value.

The starting material for the PCR was the extracted RNA or DNA dissolved in a buffer solution or water. Frozen RNA or DNA was thawed shortly before use. The master mix was prepared according to the manufacturer's or author's instructions and was transferred to a PCR reaction tube or 96-well plate. Finally, in a separate room, 5.0 μL (CDV, IAV, WNV, pL, CPPV-1) or 2.5 μL (*Ap*) samples of DNA or RNA isolate and the controls were added. Before the reaction tubes or 96-well plates were placed in the qPCR device, a short mixing and centrifugation step took place.

The RT-/qPCR evaluation was based on the Ct-values obtained in the FAM channel. Samples with a Ct-value of ≤ 39 were evaluated as positive, with a Ct-value of >39 as weak positives. The sample was negative if no fluorescence was measurable in the FAM channel. In a triplicate approach, a sample was positive if at least two of three were positive. A triplicate approach was repeated if one of the three approaches was positive. If only one of the three approaches was positive again, this sample was considered negative.

4.5. Controls

The correctness of the results was verified using several controls. At least one positive control (PC) was included in each PCR run. Successful amplification was indicated by reaching the predefined Ct-value in the FAM channel. For the *Ap* and CPPV-1 PCR assay, we used in-house PCs with preset Ct-values of 26. The PC for CDV was contributed by CVUA Freiburg, the PC for WNV by FLI and the PC for IAV and pL-PCR were included in the test kits. In all PCR runs, the PC must have a Ct-value in the FAM and HEX channels of <35 (according to the manufacturer's instructions). At least one RNA or DNA isolation control (RIC, DIC) and one negative control (NTC) with nucleic acid-free water were performed per PCR run. Furthermore, a master mix control (MMC), in which the master mix was used as a sample, was added to each of the *Ap* and CPPV-1 PCR assays. If no Ct-value was observed in the RIC/DIC, NTC and MMC, cross-contamination was ruled out in the individual steps. In the RNA extraction procedures at STUA, an amplification control IC RNA was added to every sample. If a PCR test shows a positive result, it is not necessary for the amplification control to be positive as well. This is because a high concentration of bacteria or viruses initially present can result in a reduced or absent signal in the internal control, leading to competition. If both results are negative, it is assumed that the reaction was inhibited or the DNA/RNA extraction was deficient, and the resulting RT-/qPCR data will not be evaluated.

4.6. Sequencing

In case of a positive qPCR CPPV-1 result with a Ct-value ≤ 30 , the VP2-segment was amplified for sequencing according to Pérez et al. [79]. DNA already extracted in a buffer from the intestinal samples served as starting material. The PCR assay was adapted to ReadyMix Taq PCR Reaction Mix (Sigma-Aldrich[®], P4600, St. Louis, MO, USA) and performed with two amplification sets overlapping the entire VP2-coding region. We used agarose gel electrophoresis to ensure that the amplifications worked. The PCR products with the respective primers were then submitted to Eurofins Genomics[®] (Ebersberg, Germany) for sequencing. DNASTAR Lasergene[®] and MEGA7[®] softwares were used for the assembly, alignment, and analysis of the sequences. Some publications mention amino acid changes to distinguish between CPPV-1 subtypes [17,53]. A ClustalW algorithm was used for alignment, and a phylogenetic tree (based on the nucleotide sequence of VP2) was constructed using the maximum likelihood method. The reliability of the obtained phylogenetic tree was assessed using the bootstrap method based on 500 pseudoreplicates.

4.7. Statistics and Graphics

We conducted data management and tables with Microsoft[®] Office Excel 16.63. Maps were designed using QGIS 3.22, with the data on raccoon occurrence in each municipality provided by the Wildlife Research Unit at Agricultural Centre Baden-Wuerttemberg (WFS; LAZBW, Aulendorf, Germany). The statistical software R (version 4.1.2) and RStudio (2022.07.2) were used for the following statistical tests. These were only performed from a sample size ≥ 10 due to statistical validity. The prevalence, meaning the proportion of raccoons that were PCR-positive for the pathogens examined, and the 95% Clopper-Pearson confidence intervals were calculated for the entire sample and proportionally for the categories age, sex, age-sex cohort, hunting year and area type (rural vs urban). Whether interdependencies exist between the respective categories and a positive result was tested with Fisher's exact test. In addition, the odds ratios (OR) with 95% confidence

intervals were calculated for significant correlations. The Mann–Whitney U (MWU) test was performed to compare whether the body weight and length values differed between negative and positive results. For the statistical tests, a significance level of $p \leq 0.05$ with a Bonferroni α -adjustment was set, and significant effects are marked with §.

5. Conclusions

In summary, the occurrence of pathogens with One Health relevance has been demonstrated in raccoons from BW. The raccoons may participate in the distribution and thus in the environmental pollution of the detected pathogens. They may be a link between wildlife and domestic and zoo animals as well as humans in BW. We conjecture that raccoons indirectly or directly increase the risk of infection of captive, domestic and wild animals with *Ap*, *pL*, CDV, CPPV 1 and humans with the zoonotic pathogens *Ap* and *pL*.

Consequently, it is recommended in areas with high biodiversity, endangered species and humans to keep raccoons away, decimate or eradicate them to minimise their potential negative impact as IAS and as catalysers in part of pathogen pollution [9,15,57,68]. Furthermore, the four cornerstones of prediction, prevention, diagnosis and intervention are necessary in the sense of the One Health approach. Prevention (e.g., hygiene concept, vaccination program, vector control, raccoon management, public education) is essential to reduce the negative effects of the detected pathogens on human and animal health as well as adverse socio-economic effects [66,80–83].

The presented results underline the importance of wildlife disease surveillance systems which, as part of a One Health approach, take into account the ecology of causative factors such as the impact of biodiversity loss, human impact and the role of invasive species [1,4–6]. It is essential to generate knowledge of the role of wildlife in epidemiology, their spreading tendency as well as the negative impact of (non-)zoonotic EIDs and to develop appropriate management measures [1,2,4–6,21,28,29]. This exploratory study provides the basis for targeted prevalence studies with larger sample sizes within the area of interest to get a better idea of the infection situation and the infection risk of humans and animals concerning the individual pathogens. Furthermore, similar studies in other German regions and European countries would help to understand the differences in the occurrence of the pathogens [21].

Author Contributions: Conceptualization: N.P.R., R.K.S. and J.A.; supervision: R.K.S.; resources: R.K.S., R.F., J.A. and J.K.; methodology: A.T., R.F.; investigation: N.P.R., J.K., R.F. and A.T.; visualization, data curation, project administration, formal analysis and writing—original draft preparation: N.P.R.; writing—review and editing: R.K.S., R.F., J.A., J.K. and A.T. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The datasets generated during and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Acknowledgments: All authors would like to acknowledge the institutes and persons involved for their support and help with this project. Our particular thanks go to the StabLab (LMU) for their help with the statistical evaluation and to all hunters participating in the project and the Federal Hunting Association Baden-Wuerttemberg. My special appreciation goes to the Hanns-Seidel-Foundation e.V., Munich and the Federal Ministry of Education and Research (BMBF) for funding me as a doctoral thesis stipend.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Yon, L.; Duff, J.P.; Agren, E.O.; Erdelyi, K.; Ferroglio, E.; Godfroid, J.; Hars, J.; Hestvik, G.; Horton, D.; Kuiken, T.; et al. Recent Changes in Infectious Diseases in European Wildlife. *J. Wildl. Dis.* **2019**, *55*, 3–43. [CrossRef] [PubMed]
2. Tomassone, L.; Berriatua, E.; De Sousa, R.; Duscher, G.G.; Mihalca, A.D.; Silaghi, C.; Sprong, H.; Zintl, A. Neglected Vector-Borne Zoonoses in Europe: Into the Wild. *Vet. Parasitol.* **2018**, *251*, 17–26. [CrossRef] [PubMed]
3. Vorou, R.M.; Papavassiliou, V.G.; Tsiodras, S. Emerging Zoonoses and Vector-Borne Infections Affecting Humans in Europe. *Epidemiol. Infect.* **2007**, *135*, 1231–1247. [CrossRef] [PubMed]
4. Daszak, P.; Cunningham, A.A.; Hyatt, A.D. Emerging Infectious Diseases of Wildlife—Threats to Biodiversity and Human Health. *Science* **2000**, *287*, 443–449. [CrossRef]
5. Kuiken, T. Implications of Transformative Changes for Research on Emerging Zoonoses. *Ecohealth* **2021**, *18*, 275–279. [CrossRef]
6. Thompson, R.C. Parasite Zoonoses and Wildlife: One Health, Spillover and Human Activity. *Int. J. Parasitol.* **2013**, *43*, 1079–1088. [CrossRef]
7. Fischer, M.L.; Sullivan, M.J.P.; Greiser, G.; Guerrero-Casado, J.; Heddergott, M.; Hohmann, U.; Keuling, O.; Lang, J.; Martin, I.; Michler, F.-U.; et al. Assessing and Predicting the Spread of Non-Native Raccoons in Germany Using Hunting Bag Data and Dispersal Weighted Models. *Biol. Invasions* **2016**, *18*, 57–71. [CrossRef]
8. Fischer, M.L.; Hochkirch, A.; Heddergott, M.; Schulze, C.; Anheyer-Behmenburg, H.E.; Lang, J.; Michler, F.U.; Hohmann, U.; Ansoerge, H.; Hoffmann, L.; et al. Historical Invasion Records Can Be Misleading: Genetic Evidence for Multiple Introductions of Invasive Raccoons (*Procyon lotor*) in Germany. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0125441. [CrossRef]
9. Mazzamuto, M.V.; Panzeri, M.; Bisi, F.; Wauters, L.A.; Preatoni, D.; Martinoli, A. When Management Meets Science: Adaptive Analysis for the Optimization of the Eradication of the Northern Raccoon (*Procyon lotor*). *Biol. Invasions* **2020**, *22*, 3119–3130. [CrossRef]
10. Mackenstedt, U.; Jenkins, D.; Romig, T. The Role of Wildlife in the Transmission of Parasitic Zoonoses in Peri-Urban and Urban Areas. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.* **2015**, *17*, 71–79. [CrossRef]
11. Prange, S.; Gehrt, S.D.; Wiggers, E.P. Influences of Anthropogenic Resources on Raccoon (*Procyon lotor*) Movements and Spatial Distribution. *J. Mamm.* **2004**, *85*, 483–490. [CrossRef]
12. Vos, A.; Ortman, S.; Kretzschmar, A.S.; Köhnemann, B.; Michel, F. The Raccoon (*Procyon lotor*) as Potential Rabies Reservoir Species in Germany: A Risk Assessment. *Berl. Und Münchner Tierärztliche Wochenschr.* **2012**, *125*, 228–235. [CrossRef]
13. Deutscher Jagdverband, E.V. Infografik_Jahresjagdstrecke_Waschbär_2020/2021. *Dtsch. Jagdverband—Handb.* 2022. Available online: https://www.jagdverband.de/sites/default/files/2022-02/2022-01_Infografik_Jahresjagdstrecke_Waschbaer_2020_2021.jpg (accessed on 26 January 2023).
14. Fiderer, C.; Göttert, T.; Zeller, U. Spatial Interrelations between Raccoons (*Procyon lotor*), Red Foxes (*Vulpes vulpes*), and Ground-Nesting Birds in a Special Protection Area of Germany. *Eur. J. Wildl. Res.* **2019**, *65*, 14. [CrossRef]
15. Salgado, I. Is the Raccoon (*Procyon lotor*) out of Control in Europe? *Biodivers Conserv.* **2018**, *27*, 2243–2256. [CrossRef]
16. Beltrán-Beck, B.; García, F.J.; Gortázar, C. Raccoons in Europe: Disease Hazards due to the Establishment of an Invasive Species. *Eur. J. Wildl. Res.* **2012**, *58*, 5–15. [CrossRef]
17. Wünschmann, A.; Lopez-Astacio, R.; Armíén, A.G.; Reed, L.; Parrish, C.R. Parvovirus-Induced Encephalitis in a Juvenile Raccoon. *J. Vet. Diagn. Invest.* **2021**, *33*, 140–143. [CrossRef]
18. Canuti, M.; Britton, A.P.; Graham, S.M.; Lang, A.S. Epidemiology and Molecular Characterization of Protoparvoviruses Infecting Wild Raccoons (*Procyon lotor*) in British Columbia, Canada. *Virus Res.* **2017**, *242*, 85–89. [CrossRef]
19. Allison, A.B.; Kohler, D.J.; Fox, K.A.; Brown, J.D.; Gerhold, R.W.; Shearn-Bochsler, V.I.; Dubovi, E.J.; Parrish, C.R.; Holmes, E.C. Frequent Cross-Species Transmission of Parvoviruses Among Diverse Carnivore Hosts. *J. Virol.* **2013**, *87*, 2342–2347. [CrossRef]
20. Hoelzer, K.; Parrish, C.R. The Emergence of Parvoviruses of Carnivores. *Vet. Res.* **2010**, *41*, 39. [CrossRef]
21. Rentería-Solís, Z. Disease Occurrence in Free-Ranging Raccoons (*Procyon lotor*) from Rural and Urban Populations in North-Eastern Germany. Ph.D. Thesis, Freien Universität Berlin, Berlin, Germany, 2015.
22. Wostenberg, D.J.; Walker, N.; Fox, K.A.; Spraker, T.R.; Piaggio, A.J.; Gilbert, A. Evidence of Two Cocirculating Canine Distemper Virus Strains in Mesocarnivores from Northern Colorado, USA. *J. Wildl. Dis.* **2018**, *54*, 534–543. [CrossRef]
23. Martínez-Gutiérrez, M.; Ruiz-Saenz, J. Diversity of Susceptible Hosts in Canine Distemper Virus Infection: A Systematic Review and Data Synthesis. *BMC Vet. Res.* **2016**, *12*, 78. [CrossRef] [PubMed]
24. Rentería-Solís, Z.; Förster, C.; Aue, A.; Wittstatt, U.; Wibbelt, G.; König, M. Canine Distemper Outbreak in Raccoons Suggests Pathogen Interspecies Transmission Amongst Alien and Native Carnivores in Urban Areas from Germany. *Vet. Microbiol.* **2014**, *174*, 50–59. [CrossRef] [PubMed]
25. Yamaguchi, E.; Fujii, K.; Ogawa, H.; Imai, K. First Detection of Influenza A Virus Genes from Wild Raccoons in Japan. *Virus Genes* **2018**, *54*, 591–595. [CrossRef] [PubMed]
26. Root, J.J.; Bosco-Lauth, A.M.; Bielefeldt-Ohmann, H.; Bowen, R.A. Experimental Infection of Peridomestic Mammals with Emergent H7N9 (A/Anhui/1/2013) Influenza A Virus: Implications for Biosecurity and Wet Markets. *Virology* **2016**, *487*, 242–248. [CrossRef] [PubMed]
27. Hall, J.S.; Bentler, K.T.; Landolt, G.; Elmore, S.A.; Minnis, R.B.; Campbell, T.A.; Barras, S.C.; Root, J.J.; Pilon, J.; Pablonia, K.; et al. Influenza Infection in Wild Raccoons. *Emerg. Infect. Dis.* **2008**, *14*, 1842–1848. [CrossRef]

28. Keller, M.; Peter, N.; Holicki, C.M.; Schantz, A.V.; Ziegler, U.; Eiden, M.; Dorge, D.D.; Vilcinskas, A.; Groschup, M.H.; Klimpel, S. SARS-CoV-2 and West Nile Virus Prevalence Studies in Raccoons and Raccoon Dogs from Germany. *Viruses* **2022**, *14*, 2559. [[CrossRef](#)]
29. Root, J.J.; Bosco-Lauth, A.M. West Nile Virus Associations in Wild Mammals: An Update. *Viruses* **2019**, *11*, 459. [[CrossRef](#)]
30. Root, J.J.; Bentler, K.T.; Nemeth, N.M.; Gidlewski, T.; Spraker, T.R.; Franklin, A.B. Experimental Infection of Raccoons (*Procyon lotor*) with West Nile Virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2010**, *83*, 803–807. [[CrossRef](#)]
31. Straub, M.H.; Church, M.; Glueckert, E.; Foley, J.E. Raccoons (*Procyon lotor*) and Striped Skunks (*Mephitis mephitis*) as Potential Reservoirs of *Leptospira* spp. in California. *Vector Borne Zoonotic Dis.* **2020**, *20*, 418–426. [[CrossRef](#)]
32. Pedersen, K.; Anderson, T.D.; Maison, R.M.; Wiscomb, G.W.; Pipas, M.J.; Sinnett, D.R.; Baroch, J.A.; Gidlewski, T. Leptospira Antibodies Detected in Wildlife in the USA and the US Virgin Islands. *J. Wildl. Dis.* **2018**, *54*, 450–459. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Andre, M.R. Diversity of Anaplasma and Ehrlichia/Neoehrlichia Agents in Terrestrial Wild Carnivores Worldwide: Implications for Human and Domestic Animal Health and Wildlife Conservation. *Front. Vet. Sci.* **2018**, *5*, 293. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Hildebrand, J.; Buńkowska-Gawlik, K.; Adamczyk, M.; Gajda, E.; Merta, D.; Popiołek, M.; Perec-Matysiak, A. The Occurrence of Anaplasmataceae in European Populations of Invasive Carnivores. *Ticks Tick Borne Dis.* **2018**, *9*, 934–937. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Bundesinstitut für Bau-Stadt- und Raumforschung (BBSR). Raumabgrenzungen und Raumtypen des BBSR. Available online: https://www.bbsr.bund.de/BBSR/DE/forschung/raumbeobachtung/Raumabgrenzungen/deutschland/gemeinden/Raumtypen2010_vbg/Raumtypen2010_LageSied.html#doc2826692bodyText2 (accessed on 26 January 2023).
36. Bundesinstitut für Bau-Stadt- und Raumforschung (BBSR). Raumtypen 2010: Besiedelung und Lage. Available online: https://www.bbsr.bund.de/BBSR/DE/forschung/raumbeobachtung/Raumabgrenzungen/deutschland/gemeinden/Raumtypen2010_vbg/raumTypenBesiedlLage_2020.csv?__blob=publicationFile&v=2 (accessed on 26 January 2023).
37. Decaro, N.; Elia, G.; Martella, V.; Desario, C.; Campolo, M.; Trani, L.D.; Tarsitano, E.; Tempesta, M.; Buonavoglia, C. A Real-Time PCR Assay for Rapid Detection and Quantitation of Canine Parvovirus Type 2 in the Feces of Dogs. *Vet. Microbiol.* **2005**, *105*, 19–28. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Elia, G.; Decaro, N.; Martella, V.; Cirone, F.; Lucente, M.S.; Lorusso, E.; Di Trani, L.; Buonavoglia, C. Detection of Canine Distemper Virus in Dogs by Real-Time RT-PCR. *J. Virol. Methods* **2006**, *136*, 171–176. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Ferreira, A.S.; Costa, P.; Rocha, T.; Amaro, A.; Vieira, M.L.; Ahmed, A.; Thompson, G.; Hartskeerl, R.A.; Inácio, J. Direct Detection and Differentiation of Pathogenic *Leptospira* Species Using a Multi-Gene Targeted Real Time PCR Approach. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e112312. [[CrossRef](#)]
40. Courtney, J.W.; Kostelnik, L.M.; Zeidner, N.S.; Massung, R.F. Multiplex Real-Time PCR for Detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi*. *J. Clin. Microbiol.* **2004**, *42*, 3164–3168. [[CrossRef](#)]
41. Sainz, Á.; Roura, X.; Miró, G.; Estrada-Peña, A.; Kohn, B.; Harrus, S.; Solano-Gallego, L. Guideline for Veterinary Practitioners on Canine Ehrlichiosis and Anaplasmosis in Europe. *Parasit Vectors* **2015**, *8*, 01–20. [[CrossRef](#)]
42. Overzier, E.; Pfister, K.; Herb, I.; Mahling, M.; Böck, G., Jr.; Silaghi, C. Detection of Tick-Borne Pathogens in Roe Deer (*Capreolus capreolus*), in Questing Ticks (*Ixodes ricinus*), and in Ticks Infesting Roe Deer in Southern Germany. *Ticks Tick Borne Dis.* **2013**, *4*, 320–328. [[CrossRef](#)]
43. Hamir, A.N. Pathology of Neurologic Disorders of Raccoons (*Procyon lotor*). *J. Vet. Diagn. Invest.* **2011**, *23*, 873–884. [[CrossRef](#)]
44. Williams, E.S. Canine Distemper. In *Infectious Diseases of Wild Mammals*; Williams, E.S., Barker, I.K., Eds.; Iowa State University Press: Ames, IA, USA, 2001; Volume 3, pp. 50–59.
45. Giacinti, J.A.; Pearl, D.L.; Ojkic, D.; Jardine, C.M. Comparison of Two Surveillance Components for Investigating the Epidemiology of Canine Distemper Virus in Raccoons (*Procyon lotor*). *J. Wildl. Dis.* **2021**, *57*, 104–115. [[CrossRef](#)]
46. Michler, F.U. Säugetierkundliche Freilandforschung zur Populationsbiologie des Waschbären (*Procyon lotor* Linnaeus, 1758) in einem naturnahen Tieflandbuchenwald im Müritz-Nationalpark (Mecklenburg-Vorpommern). Ph.D. Thesis, Technische Universität Dresden, Dresden, Germany, 2016.
47. Nemeth, N.M.; Oesterle, P.T.; Campbell, G.D.; Ojkic, D.; Jardine, C.M. Comparison of Reverse-Transcription Real-Time PCR and Immunohistochemistry for the Detection of Canine Distemper Virus Infection in Raccoons in Ontario, Canada. *J. Vet. Diagn. Invest.* **2018**, *30*, 319–323. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Silaghi, C.; Santos, A.S.; Gomes, J.; Christova, I.; Matei, I.A.; Walder, G.; Domingos, A.; Bell-Sakyi, L.; Sprong, H.; von Loewenich, F.D.; et al. Guidelines for the Direct Detection of *Anaplasma* spp. in Diagnosis and Epidemiological Studies. *Vector Borne Zoonotic Dis.* **2017**, *17*, 12–22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Härtwig, V.; von Loewenich, F.D.; Schulze, C.; Straubinger, R.K.; Dausgies, A.; Dyachenko, V. Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in Red Foxes (*Vulpes vulpes*) and Raccoon Dogs (*Nyctereutes procyonoides*) from Brandenburg, Germany. *Ticks Tick Borne Dis.* **2014**, *5*, 277–280. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Levett, P.N. Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.* **2001**, *14*, 296–326. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Frölich, K.; Streich, W.J.; Fickel, J.; Jung, S.; Truyen, U.; Hentschke, J.; Dedek, J.; Prager, D.; Latz, N. Epizootiologic Investigations of Parvovirus Infections in Free-Ranging Carnivores from Germany. *J. Wildl. Dis.* **2005**, *41*, 231–235. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Barker, I.K.; Parrish, C.R. Parvovirus Infections. In *Infectious Diseases of Wild Mammals*, 3rd ed.; Williams, E.S., Barker, I.K., Eds.; Iowa State University Press: Ames, IA, USA, 2001; pp. 131–146.
53. Decaro, N.; Buonavoglia, C. Canine Parvovirus—A Review of Epidemiological and Diagnostic Aspects, with Emphasis on Type 2c. *Vet. Microbiol.* **2012**, *155*, 1–12. [[CrossRef](#)]

54. Junge, R.E.; Bauman, K.; King, M.; Gompper, M.E. A Serologic Assessment of Exposure to Viral Pathogens and *Leptospira* in an Urban Raccoon (*Procyon lotor*) Population Inhabiting a Large Zoological Park. *J. Zoo Wildl. Med.* **2007**, *38*, 18–26. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Nikolin, V.M.; Wibbelt, G.; Michler, F.U.; Wolf, P.; East, M.L. Susceptibility of Carnivore Hosts to Strains of Canine Distemper Virus from Distinct Genetic Lineages. *Vet. Microbiol.* **2012**, *156*, 45–53. [[CrossRef](#)]
56. Michler, F.U.; Köhnemann, B.A.; Roth, M.; Speck, S.; Fickel, J.; Wibbelt, G. Todesursachen sendermarkierter Waschbären (*Procyon lotor* L., 1758) im Müritz-Nationalpark (Mecklenburg-Vorpommern). *Beiträge Jagd Wildforschung* **2009**, *34*, 339–355.
57. Anheyer-Behmenburg, H.E. Untersuchungen zum Vorkommen von Zoonoseerregern und dem kaninen Staupevirus in der Waschbärpopulation Niedersachsen (2011–2013). Ph.D. Thesis, Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover, Germany, 2013.
58. Danner, K.J. State Rabies and Epidemiology Centre Freiburg, Baden-Württemberg, Germany. *Pers. Commun.* **2022**.
59. Blazey, B. Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart, Baden-Württemberg, Germany. *Pers. Commun.* **2022**.
60. Dupouey, J.; Faucher, B.; Edouard, S.; Richet, H.; Kodjo, A.; Drancourt, M.; Davoust, B. Human Leptospirosis: An Emerging Risk in Europe? *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* **2014**, *37*, 77–83. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
61. Grimm, K.; Rivera, N.A.; Fredebaugh-Siller, S.; Weng, H.Y.; Warner, R.E.; Maddox, C.W.; Mateus-Pinilla, N.E. Evidence of *Leptospira* Serovars in Wildlife and Leptospiral DNA in Water Sources in a Natural Area in East-Central Illinois, USA. *J. Wildl. Dis.* **2020**, *56*, 316–327. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Duncan, C.; Krafur, G.; Podell, B.; Baeten, L.A.; LeVan, I.; Charles, B.; Ehrhart, E.J. Leptospirosis and Tularaemia in Raccoons (*Procyon lotor*) of Larimer County, Colorado. *Zoonoses Public Health* **2012**, *59*, 29–34. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Jaarsma, R.I.; Sprong, H.; Takumi, K.; Kazimirova, M.; Silaghi, C.; Mysterud, A.; Rudolf, I.; Beck, R.; Földvári, G.; Tomassone, L.; et al. *Anaplasma Phagocytophilum* Evolves in Geographical and Biotic Niches of Vertebrates and Ticks. *Parasit. Vectors* **2019**, *12*, 328. [[CrossRef](#)]
64. Jahfari, S.; Coipan, E.C.; Fonville, M.; van Leeuwen, A.D.; Hengeveld, P.; Heylen, D.; Heyman, P.; van Maanen, C.; Butler, C.M.; Földvári, G.; et al. Circulation of Four *Anaplasma Phagocytophilum* Ecotypes in Europe. *Parasit. Vectors* **2014**, *7*, 365. [[CrossRef](#)]
65. Müller, M. Untersuchung zur Prävalenz von Frühsommer-Meningoenzephalitis-Viren, von *Borrelia burgdorferi* sensu lato und *Anaplasma phagocytophilum* in Zecken der Art *Ixodes ricinus* in Rheinland-Pfalz und im Saarland (Deutschland). Ph.D. Thesis, Universität des Saarlandes, Homburg/Saar, Germany, 2017.
66. Stuen, S.; Granquist, E.G.; Silaghi, C. *Anaplasma Phagocytophilum*—A Widespread Multi-Host Pathogen with Highly Adaptive Strategies. *Front. Cell Infect. Microbiol.* **2013**, *3*, 31. [[CrossRef](#)]
67. Leonhard, S. Untersuchungen zur Häufigkeit von *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* und *Babesia* spp. in *Ixodes ricinus* aus Bayern und Baden-Württemberg. Ph.D. Thesis, Ludwig-Maximilians-University, München, Germany, 2005.
68. Mitchell, M.A.; Hungerford, L.L.; Nixon, C.; Esker, T.; Sullivan, J.; Koerkenmeier, R.; Dubey, J.P. Serologic Survey for Selected Infectious Disease Agents in Raccoons from Illinois. *J. Wildl. Dis.* **1999**, *35*, 347–355. [[CrossRef](#)]
69. Adlhoch, C.; Fusaro, A.; Kuiken, T.; Niqueux, E.; Staubach, C.; Terregino, C.; Guajardo, I.M.; Baldinelli, F. Avian Influenza Overview November 2019–February 2020. *EFSA J.* **2020**, *18*, 6096. [[CrossRef](#)]
70. Adlhoch, C.; Fusaro, A.; Kuiken, T.; Smietanka, K.; Staubach, C.; Guajardo, M.; Baldinelli, F. Avian influenza Overview August–November 2019. *EFSA J.* **2019**, *17*, e05988. [[CrossRef](#)]
71. Adlhoch, C.; Fusaro, A.; Gonzales, J.L.; Kuiken, T.; Marangon, S.; Niqueux, E.; Staubach, C.; Terregino, C.; Baldinelli, F. Avian Influenza Overview August–December 2020. *EFSA J.* **2020**, *18*, e06379. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
72. Robert-Koch-Institute. *Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2019*; Robert-Koch-Institute: Berlin, Germany, 2020.
73. Robert-Koch-Institute. *Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2020*; Robert-Koch-Institute: Berlin, Germany, 2021.
74. Root, J.J.; Bentler, K.T.; Shriner, S.A.; Mooers, N.L.; VanDalen, K.K.; Sullivan, H.J.; Franklin, A.B. Ecological Routes of Avian Influenza Virus Transmission to a Common Mesopredator: An Experimental Evaluation of Alternatives. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e102964. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Fiero, B.C.; Verts, B.J. Comparison of Techniques for Estimating Age of Raccoons. *J. Mamm.* **1986**, *67*, 392–395. [[CrossRef](#)]
76. Grau, G.A.; Sanderson, G.C.; Rogers, J.P. Age Determination of Raccoons. *J. Wildl. Manag.* **1970**, *34*, 364–372. [[CrossRef](#)]
77. Root, J.J. West Nile virus associations in wild mammals: A synthesis. *Arch. Virol.* **2013**, *158*, 735–752. [[CrossRef](#)]
78. Eiden, M.; Vina-Rodriguez, A.; Hoffmann, B.; Ziegler, U.; Groschup, M.H. Two New Real-Time Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction Assays with Unique Target Sites for the Specific and Sensitive Detection of Lineages 1 and 2 West Nile Virus Strains. *J. Vet. Diagn. Invest.* **2010**, *22*, 748–753. [[CrossRef](#)]
79. Pérez, R.; Bianchi, P.; Calleros, L.; Francia, L.; Hernández, M.; Maya, L.; Panzera, Y.; Sosa, K.; Zoller, S. Recent Spreading of a Divergent Canine Parvovirus Type 2a (CPV-2a) Strain in a CPV-2c Homogenous Population. *Vet. Microbiol.* **2012**, *155*, 214–219. [[CrossRef](#)]
80. Nau, L.H.; Emirhar, D.; Obiegala, A.; Mylius, M.; Runge, M.; Jacob, J.; Bier, N.; Nöckler, K.; Imholt, C.; Below, D.; et al. Leptospirosis in Germany: Current Knowledge on Pathogen Species, Reservoir Hosts, and Disease in Humans and Animals. *Bundesgesundheitsblatt Gesundh. Gesundh.* **2019**, *62*, 1510–1521. [[CrossRef](#)]
81. Guglielmini, J.; Bourhy, P.; Schiettekatte, O.; Zinini, F.; Brisse, S.; Picardeau, M. Genus-Wide *Leptospira* Core Genome Multilocus Sequence Typing for Strain Taxonomy and Global Surveillance. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2019**, *13*, e0008673. [[CrossRef](#)]

-
82. Durski, K.N.; Jancloes, M.; Chowdhary, T.; Bertherat, E. A Global, Multi-Disciplinary, Multi-Sectorial Initiative to Combat Leptospirosis: Global Leptospirosis Environmental Action Network (GLEAN). *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2014**, *11*, 6000–6008. [[CrossRef](#)]
83. Hartskeerl, R.A.; Collares-Pereira, M.; Ellis, W.A. Emergence, Control and Re-emerging Leptospirosis: Dynamics of Infection in the Changing World. *Clin. Microbiol. Infect.* **2011**, *17*, 494–501. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

- 2 Reinhardt, N. P.; Wassermann, M.; Härle, J.; Romig, T.; Kurzrock, L.; Arnold, J.; Großmann, E.; Mackenstedt, U.; Straubinger, R. K. Helminths in Invasive Raccoons (*Procyon lotor*) from Southwest Germany. *Pathogens* 2023, 12, 919. <https://doi.org/10.3390/pathogens12070919>

Article

Helminths in Invasive Raccoons (*Procyon lotor*) from Southwest Germany

Nico P. Reinhardt ^{1,*} , Marion Wassermann ² , Jessica Härle ², Thomas Romig ², Lina Kurzrock ³, Janosch Arnold ⁴ , Ernst Großmann ⁵, Ute Mackenstedt ² and Reinhard K. Straubinger ¹ 

¹ Bacteriology and Mycology, Institute for Infectious Diseases and Zoonoses, Department of Veterinary Sciences, LMU Munich, 85764 Oberschleißheim, Germany; r.straubinger@lmu.de

² Parasitology Unit, Institute of Biology, University of Hohenheim, 70599 Stuttgart, Germany; marion.wassermann@uni-hohenheim.de (M.W.); jessica.haerle@yahoo.de (J.H.); thomas.romig@uni-hohenheim.de (T.R.); mackenstedt@uni-hohenheim.de (U.M.)

³ IDEXX Laboratories, Vet Med Labor GmbH, 70806 Kornwestheim, Germany; lina-kurzrock@idexx.com

⁴ Wildlife Research Unit, Agricultural Centre Baden-Wuerttemberg (LAZBW), 88326 Aulendorf, Germany; janosch.arnold@lazbw.bwl.de

⁵ Aulendorf State Veterinary Diagnostic Centre (STUA), 88326 Aulendorf, Germany; ernst.grossmann@stuaau.bwl.de

* Correspondence: nico_reinhardt@icloud.com

Abstract: As hosts of numerous zoonotic pathogens, the role of raccoons needs to be considered in the One Health context. Raccoons progressively expand their range as invasive alien species in Europe. This study aimed to investigate the intestinal helminth fauna of raccoons in Baden-Wuerttemberg, Germany, as no such screening had ever been conducted there. In total, we obtained 102 animals from hunters in 2019 and 2020. Intestinal helminths were retrieved using the SSCT (segmented sedimentation and counting technique) and identified morphologically and by PCR-based Sanger sequencing. Fecal samples were assessed using the ELISA PetChek™ IP assay (IDEXX, Germany) and flotation technique. The artificial digestion method was employed for analyzing muscle tissue. We detected species of four nematode genera (*Baylisascaris procyonis*, *Toxocara canis*, *Capillaria* spp., and *Trichuris* spp.), three cestode genera (*Atriotaenia* cf. *incisa/procyonis*, *Taenia martis*, and *Mesocestoides* spp.), and three trematode genera (*Isthmiophora hortensis/melis*, *Plagiorchis muris*, and *Brachylaima* spp.). *Echinococcus* spp. and *Trichinella* spp. were not found. The invasive behavior and synanthropic habits of raccoons may increase the infection risk with these helminths in wildlife, domestic and zoo animals, and humans by serving as a connecting link. Therefore, it is crucial to initiate additional studies assessing these risks.

Keywords: nematodes; cestodes; trematodes; *Baylisascaris procyonis*; pathogen pollution; One Health



Citation: Reinhardt, N.P.; Wassermann, M.; Härle, J.; Romig, T.; Kurzrock, L.; Arnold, J.; Großmann, E.; Mackenstedt, U.; Straubinger, R.K. Helminths in Invasive Raccoons (*Procyon lotor*) from Southwest Germany. *Pathogens* **2023**, *12*, 919. <https://doi.org/10.3390/pathogens12070919>

Academic Editors: Wei Liu, Xi Zhang and Yisong Liu

Received: 14 June 2023

Revised: 2 July 2023

Accepted: 6 July 2023

Published: 8 July 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Ecosystems and life on earth, in general, are severely threatened by human-induced alterations that have led to a global climate crisis and the beginning of the sixth mass extinction event [1,2]. The convergence of both events leads to mutually adverse effects for One Health, partly attributable to the escalating environmental pollution and distribution of (non-)zoonotic pathogens [3–6]. The environment, wildlife, humans, and their domesticated animals are intricately interconnected through their diverse roles in maintaining and transmitting parasitic infectious diseases [2,5,7]. Considering the bidirectional transmission of parasites, with a predominant flow from wildlife to domestic animals, and the reverse direction, it is imperative to view at these pathogens and their respective hosts from a One Health perspective [5,7,8].

The raccoon, an extensively discussed mesocarnivore in this context, is recognized as a host of numerous pathogens and progressively expands its range as an invasive alien

species (IAS) in Asia and Europe [9–14]. Since 2016, raccoons have been listed as IAS on the Union list of the Regulation (EU) No 1143/2014. In Germany, raccoons are found in different population densities across all 16 federal states, with two primary distribution areas in central and northeastern Germany. By the mid-21st century, raccoons are anticipated to populate most of the country [12,13]. The hunting bag of raccoons, especially in the northeastern area of Baden-Wuerttemberg (BW), has increased considerably. The number of hunted raccoons during the 2010/11 hunting season was 339, while in 2020/21, this figure had increased to 4015 [15]. According to Fischer et al. [12], the hunting bag data represents roughly 10% of the population. Based on this estimate, the total number of raccoons in BW is approximately 40,000. Genetic analyses have revealed that the raccoon population in BW primarily originates from Hessian raccoons, with some contribution from populations in the Harz and Rhineland-Palatinate regions [13,16,17].

Raccoons, being opportunistic generalists, inhabit diverse environments, frequently favoring locations close to water resources [18–20]. From an epidemiological standpoint, their synanthropic lifestyle holds particular significance as it contributes to reduced territorial ranges and increased population densities. This is primarily attributed to the benefits of abundant food resources and diverse shelter options [10,19,21,22]. Overall, raccoons can negatively impact native wildlife species by competing with and preying on them. Furthermore, raccoons pose a threat to the health of wildlife, domestic animals, and the public as reservoirs for various pathogens [14,21,23,24]. Raccoons defecate in specific places called latrines, which play a crucial epidemiological role, particularly in the life cycles of parasites, as many wild mammals and birds frequently visit and feed on undigested seeds found in raccoon feces [25,26]. Individual latrines are often used by various raccoons, which can increase the risk of intraspecies transmission [26]. The habitual proximity of latrines to humans and domestic animals poses an infection risk, particularly in urban areas [14,25,27]. Spatial overlaps of distinct species may enable pathogens to increase their abundance, broaden their host range and expand their geographic range [28].

Due to the synanthropic behavior of raccoons as an IAS, it is important to conduct investigations on infectious pathogens, particularly helminths. Raccoons have been extensively studied for their parasite infestations in their native range, with at least 100 different species of helminths from 65 distinct genera being documented globally [10,29]. A recently published study suggests that raccoons in Germany may also harbor a diverse range of metazoan parasites [10]. Furthermore, the occurrence and epidemiology of parasites can vary regionally due to different environmental factors [10,30]. However, only studies with limited oversight on parasite occurrence in raccoons in Germany, particularly in the southern regions, are available so far. Hence, we conducted a study to investigate the presence of intestinal helminths in raccoons of BW, considering that raccoons are significant hosts for various zoonotic helminths [7,14,16,31]. Such studies are necessary to better understand the raccoons' role in pathogen transmission and its potential as an epidemiological link between infections in wild animals, domestic animals, and humans [3,6,7,9,14,19].

2. Materials and Methods

2.1. Sample Collection

We collected 102 free-ranging raccoons to analyze them for intestinal helminths. The collection of animals was between August 2019 and November 2020 during the hunting season for raccoons in BW (§10 DVO JWMG 2015, of 25 February 2018), except for one individual that had already been road-killed in May. The sampling area covered 27 municipalities in 12 counties in the northern part of BW. These counties included the City of Heidelberg (HD) and Mannheim (MA) as well as the districts Ostalbkreis (OAK; Ellenberg, Westhausen, Aalen, Lorch, Essingen, Schwäbisch Gmünd), Schwäbisch Hall (SHA; Fichtenaun, Frankenhardt, Stimpfach, Bühlerzell, Kreßberg, Mainhardt), Rems-Murr-Kreis (RMK; Alfdorf, Plüderhausen), Karlsruhe (KA; Rheinstetten), Ludwigsburg (LB; Remseck am Neckar), Main-Tauber-Kreis (MTK; Weikersheim), Heilbronn (HN; Weinsberg, Wüstenrot), Rhein-Neckar-Kreis (RNK; Schriesheim, Dossenheim, Neckargemünd), Rastatt (RA; Durm-

ersheim), Göppingen (GÖ; Börtlingen, Birenbach) (Figure 1). More than ten raccoons were collected in each of four counties (HD, OAK, SHA, RMK), five to nine from KA and LB, and less than five animals each from MTK, GÖ, HN, RNK, MA, and RA. The municipalities in which the hunting sites are located were classified as rural or urban areas based on the Federal Office for Building and Regional Planning (BBSR) classification [32,33]. The carcasses were stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until necropsy. No ethical approval was required for this study.

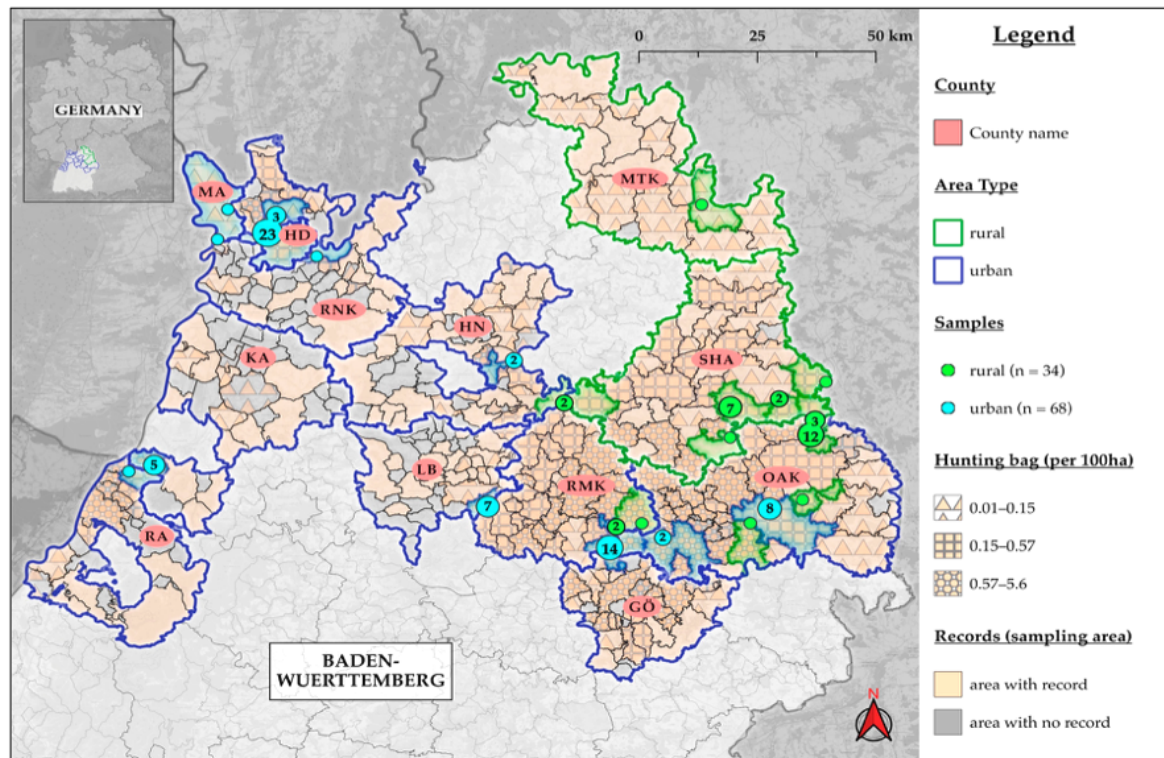


Figure 1. Map of raccoon sampling sites [9]. The illustration depicting the cumulative areas where raccoons were observed (records) based on survey records and hunting bag data of 2019 obtained from the Wildlife Research Unit at Agricultural Centre Baden-Wuerttemberg (LAZBW, Aulendorf, Germany). The hunting bag describes the number of raccoons hunted per 100 ha. MA (Mannheim), HD (Heidelberg), RNK (Rhein-Neckar-Kreis), RA (Rastatt), KA (Kreis Karlsruhe), HN (Kreis Heilbronn), LB (Kreis Ludwigsburg), RMK (Reims-Murr-Kreis), GÖ (Kreis Göppingen), MTK (Main-Tauber-Kreis), SHA (Kreis Schwäbisch Hall), OAK (Ostalbkreis).

2.2. Necropsy

The necropsy of the carcasses was executed under BSL3 conditions at the Parasitology Unit of the University of Hohenheim. We evaluated the carcasses as fresh, minimally, or moderately autolytic. Heavily autolytic raccoons or incomplete animals were excluded. The animals' weight, length, and sex were documented. Their age was determined as either adult (>1 -year-old) or juvenile (<1 -year-old) based on various factors such as tooth development and wear, weight and length, reproductive status, and hunting date [9].

We removed the small intestine and opened it longitudinally. Macroscopically visible helminths were collected and preselected in nematodes, cestodes, and trematodes. The smaller helminths were extracted by the segmented sedimentation and counting technique (SSCT) and detected by microscopy [34]. Nematodes and cestodes were stored in distilled water and then rapidly frozen at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Trematodes were preserved in 80% ethanol. Fecal samples from the rectum were collected and stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ for five days and subsequently transferred to $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. The diaphragm pillar samples of the 101 dissected raccoons were examined for *Trichinella* spp. during necropsy by the compression method.

Additionally, from a randomly selected 52 out of 101 raccoons, muscle samples of about 5 to 10 g of the diaphragm pillar and upper foreleg were collected and stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ for further examination by the artificial digestion method at Aulendorf State Veterinary Diagnostic Centre (STUA, Germany, Aulendorf).

2.3. Parasitic Examinations

We identified nematode and cestode species by morphological molecular methods, whereas trematodes were assigned to a species exclusively based on morphology.

For morphological assessment and species identification, the trematodes were stained using Malzacher stain [35]. The prefixed trematodes were placed in alcoholic borax carmine, according to Grenacher, for 10 to 15 min, which stained the organs red. The stain was removed, and distilled water was applied to the trematodes for a differentiation step. As soon as the parenchyma was still slightly pink and the organs were red, the distilled water was removed, and astral blue was added. The predefined exposure time of ten minutes proved to be too long for small trematodes and was reduced to four minutes. The subsequent differentiation step also took longer and was adjusted in time to 15 to 20 min. Once the blue color had faded, the process continued. The stained objects were then dehydrated in an ascending ethanol series (50%, 70%, 90%, 95%, and 100%) for 10 min each. Trematodes were then placed in wintergreen oil, a methyl salicylic acid ester, for 30 min to make them more transparent. Finally, the trematodes were transferred on a slide into the inclusion medium, resin (Entellan[®] new). After at least two days of hardening, the objects were measured and characterized according to Schell, S.C. [36] and Seo et al. [37] using photo-binoculars (ZEISS Axio Imager 2; Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Germany).

At STUA Aulendorf, 3 to 5 g of the collected feces per raccoon were tested for parasite eggs and larvae using the in-house flotation method followed by microscopical examination. A zinc chloride/saline solution ($\text{ZnCl}_2/\text{NaCl}$) with a density of 1.35 g/mL was used for processing. Furthermore, 3–6 g per raccoon of the collected 52 muscle samples (diaphragm pillar, upper foreleg) were examined for *Trichinella* spp. at STUA Aulendorf using the artificial digestion methods according to the EU Regulation 2015/1375. To increase the test's sensitivity, the samples were digested for 60 min and then sedimented for 40 min in the first step and 105 min in the second step. Then, 12 mL of sediment were diluted with 10 mL of water and examined for *Trichinella* spp. using the trichinoscope at 40–100 times magnification. In addition, 67 randomly selected fecal samples were tested for ascarids, hookworms, and whipworms using the ELISA-based PetChek[™] IP test kit (IDEXX, Kornwestheim, Germany) [38].

The intensity of infection, based on the number of parasite stadia found by visual examination during necropsy, was divided into three infestation groups: minor (≤ 5 cestodes, ≤ 5 nematodes, ≤ 5 trematodes), moderate (≤ 30 cestodes, ≤ 15 nematodes, ≤ 10 trematodes), and heavy infestation (>30 cestodes, >15 nematodes, >10 trematodes).

2.4. Nematode and Cestode Identification by PCR

2.4.1. Sample Preparation

Small pieces of tissue ($0.3\text{--}0.5\text{ mm}^3$) from each of the collected nematodes and cestodes were transferred to 200 μL PCR tubes containing 20–25 μL of 0.02 M NaOH and heated to $99\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 15 min [39]. The resulting lysate could be used directly as a template for the subsequent PCR assays.

2.4.2. DNA Amplification and Sequencing

For species identification, the complete or partial mitochondrial (mt) NADH dehydrogenase subunit-1 (*nad1*) of the nematode and cestode samples were analyzed, and in the case of cestodes, an additional fragment of the mt cytochrome-c-oxidase subunit-1 (*cox1*). Nested PCRs were carried out with all samples; the primer combinations can be seen in Table 1.

Table 1. PCR primers used to detect Cestodes and Nematodes.

Target Gene	Primer	Primer-Sequence	PCR Product Length	
Cestodes ¹				
<i>nad1</i>	first PCR	<i>nad1</i> Forward <i>nad1</i> Reverse	5'-TGATGATTTGTCTAGTC-3' 5'-TTCTTGAAGTTAACAGC-3'	~990 bp
	nested PCR	<i>nad1</i> Fornest <i>nad1</i> Revnest	5'-GATTTGTCTAGTCATAGATG-3' 5'-CTTGAAGTTAACAGCATCACC-3'	~980 bp
<i>cox1</i>	first PCR	<i>cox1H</i> Forward <i>cox1H</i> Reverse	5'-WATAAAGGTTTRTTATTTGCTATG-3' 5'-ATCHAWTAAGCATGATGCAAAAAGG-3'	~930 bp
	nested PCR	<i>cox1H</i> Fornest <i>cox1H</i> Revnest	5'-TATGTTTTCAATAGTBTGTTTAGG-3' 5'-CATGATGCAAAAAGGCCAAAWAAACC-3'	~890 bp
Nematodes ²				
<i>nad1</i>	first PCR	Toxo Forward Toxo Reverse	5'-ATTGCTTTTATTACTTTGTATGAGC-3' 5'-GCAAATAAATTACCAACAAACTC-3'	~480 bp
	nested PCR	Toxo Fornest Toxo Revnest	5'-CCTAATAAGGTTAGTTTTAT-3' 5'-AAAAACAAAATATGTTAACATG-3'	~380 bp

¹ Dumendiak, S., unpublished; ² Wassermann, M., unpublished. Fornest, forward primers for nested PCR; Revnest, reverse primers for nested PCR.

The reaction volume for each sample was 25 µL for the first PCR and 50 µL for the nested PCR. The reaction mixtures consisted of 10 mM Tris–HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 200 µM of each dNTP, 0.2 µM of each forward and reverse primer, and Taq polymerase (0.625 U for the first PCR, 1.25 U for nested PCR). As a template for the first PCR, 1 µL of the lysate was added to the reaction mixture, and for the nested, 1 µL of the primary PCR product was added. The PCRs were performed with an initial denaturation step at 95 °C (5 min), followed by 35 cycles of denaturation at 95 °C (30 s), annealing at 50–55 °C (30 s), elongation at 72 °C (1 min), and a final elongation step at 72 °C (5 min).

PCR results were detected on a 1.5% agarose gel stained with GelRed™. PCR products were purified with the High Pure PCR Purification Kit (Roche, Mannheim, Germany) according to the manufacturer's instructions and sent to Microsynth Seqlab GmbH (Göttingen, Germany) for sequencing. The electropherograms obtained by Sanger sequencing were analyzed using GENTle (Cologne, Germany) [40]. Sequences were compared with reference entries in the NCBI GenBank for species identification using the NCBI basic local alignment search tool (BLAST).

2.5. Statistics and Graphics

Microsoft® Office Excel 16.63 was utilized for data management, graphics, and tables. QGIS 3.22 was used to create maps based on data on the occurrence of raccoons in each municipality provided by the Wildlife Research Center of the Agricultural Center Baden-Württemberg (WFS; LAZBW, Aulendorf, Germany). Statistical analyses were carried out using R (version 4.1.2) and RStudio (1 March 2023), but only for sample sizes ≥ 10 to ensure statistical validity. The prevalence of helminths in raccoons was calculated for the entire sample, as well as proportionally for age, sex, age–sex cohort, hunting year, and area type (rural vs. urban), along with the 95% Clopper–Pearson confidence intervals. Fisher's exact test was used to determine any dependencies between the categories and a positive result for significant correlations. Differences in infestation levels within the category types (sex, age, area type) were calculated with the Kruskal–Wallis rank sum test. The Mann–Whitney U (MWU) test was used to compare body weight and length values between negative and positive results. A significance level of $p \leq 0.05$ with a Bonferroni α adjustment was set for the statistical tests, and any significant effects are denoted with an asterisk (*).

3. Results

We found that 72.3% of the 101 raccoons ($n = 73$; 95% CI: 62.5–80.7) were positive for at least one helminth parasite in the examinations performed (Table 2). Cestodes represented the most common helminth group with 46.5% positive raccoons ($n = 47$; 95% CI: 36.5–56.7), ahead of nematodes with 31.7% ($n = 32$; 95% CI: 22.8–41.7) and trematodes with 15.8% positive individuals ($n = 16$; 95% CI: 9.3–24.4). Helminths detected in at least four raccoons are listed in Table 2. During the necropsy, 102 animals were examined, of which 80.4% ($n = 82$) were determined to be fresh, 12.7% ($n = 13$) were classified as minimally autolytic, and 5.9% ($n = 6$) were moderately autolytic. None of the collected animals was found to be heavily autolytic. The intestine of raccoon WB40 (male, adult, rural, Krefßberg, SHA) was incomplete due to hunting. Therefore, this raccoon was excluded from this study. This individual was examined exclusively by flotation; no parasites were found. When the sampled communities were classified as either urban or rural, it was found that 67.3% ($n = 68$) of the 101 raccoons were from urban areas, while 32.7% ($n = 33$) were from rural areas (Table 2 and Figure 1). Although detailed morphometric data were collected during the necropsy, they will not be further discussed since no significant correlation with parasite infection was identified.

3.1. Nematodes

Nematodes were detected and identified in the intestines of 31.7% of 101 raccoons by the SSCT following PCR, the flotation technique, and PetChek™ IP (IDEXX, Kornwestheim, Germany). Of these, 29 raccoons (28.7%; 95% CI: 20.1–38.6) were infected with *Baylisascaris* (*B.*) *procyonis*, one of them also with *Toxocara* (*T.*) *canis* (0.99%; 95% CI: 0.03–5.4) (Figure 2). Additionally, one raccoon with *Capillaria* spp. (0.99%; 95% CI: 0.03–5.4) and two with *Trichuris* spp. (1.98%; 95% CI: 0.2–7) were found.

By visual examination during necropsy and the SSCT, nematodes were identified in 29 raccoons. For each of the 29 infected raccoons, at least one of the examined nematodes could be assigned to a parasite species by sequencing. *Baylisascaris procyonis* was found in 28 animals and *T. canis* in one individual (WB64, male, adult, urban, Remseck am Neckar, LB). Ascarid eggs found in the *T. canis*-positive raccoon (WB64) were identified as *B. procyonis* by sequencing. Hence, raccoon WB64 had a dual infection with *T. canis* and *B. procyonis*. All *nad1* fragments showed 100% identity to the *B. procyonis* sequence JF951366 [41], except for the one nematode of WB64 (195 bp), which showed 99% similarity to a reference sequence from *T. canis* MN635719 [42].

Flotation detected ascarid eggs in ten raccoons that were also positive for other *B. procyonis* stadia. A single infection with *Capillaria* spp. was recorded exclusively in the flotation for WB67 (male, adult, urban, HD). Moreover, 24 of the 67 raccoons tested for ascarids with PetChek™ IP ELISA (IDEXX, Kornwestheim, Germany) were also positive for *B. procyonis* in the PCR assays. Only 8 of the 24 *B. procyonis*-positive raccoons were thus confirmed in the ELISA. In addition, *Trichuris* spp. were detected in two raccoons exclusively by PetChek™ IP ELISA (IDEXX, Kornwestheim, Germany). One of these (WB19, rural) was a juvenile female raccoon from Frankenhardt, SHA, and the other was a juvenile male individual from Lorch, OAK (WB96, urban).

No *Trichinella* spp. were found in the examinations using the artificial digestion or compression method. No significant dependencies of the tested categories with Fisher's exact test between the positive and negative nematode groups could be found.

Table 2. Results. The table shows the absolute and relative results with 95% confidence intervals according to the individual categories. The relative frequency describes the proportion of positive results within each category.

Parameters	Raccoons (n)	Helminth Positives	Nematodes	<i>B. procyonis</i>	Cestodes	<i>A. cf. incisulprocyonis</i>	Trematodes	<i>I. hortensis/melis</i>	% (n, CI 95%)	
Total	101	72.3 (73; 62.5–80.7)	31.7 (32; 22.8–41.7)	28.7 (29; 20.1–38.6)	46.5 (47; 36.5–56.7)	43.6 (44; 33.7–53.8)	15.8 (16; 9.3–24.4)	4 (4; 1.1–9.8)		
Years										
2019	32.7 (33; 23.7–42.7)	69.7 (23; 51.3–84.4)	24.2 (8; 11.1–42.3)	21.2 (7; 9.0–38.9)	48.5 (16; 30.8–66.5)	45.5 (15; 28.1–63.6)	18.2 (6; 7.0–35.5)	6.1 (2; 0.7–20.2)		
2020	67.3 (68; 57.3–76.3)	73.5 (50; 61.4–83.5)	35.3 (24; 23.7–47.2)	32.4 (22; 21.5–44.8)	45.6 (31; 33.5–58.1)	42.6 (29; 30.7–55.2)	14.7 (10; 7.3–25.4)	2.9 (2; 0.4–10.2)		
Area										
rural	32.7 (33; 23.7–42.7)	75.8 (25; 55.6–87.1)	27.3 (9; 13.3–45.5)	24.2 (8; 11.1–42.3)	63.6 (21; 45.1–79.6) *	57.6 (19; 39.2–74.5) *	12.1 (4; 3.4–28.2)	3 (1; 0.1–15.8)		
urban	67.3 (68; 57.3–76.3)	70.6 (48; 58.3–81.0)	33.8 (23; 22.8–46.3)	30.9 (21; 20.2–43.3)	38.2 (26; 26.7–50.8) *	36.8 (25; 25.4–49.3) *	17.6 (12; 9.5–28.8)	4.4 (3; 0.9–12.4)		
Sex										
♀	38.6 (39; 29.1–48.8)	69.2 (27; 52.4–83.0)	25.6 (10; 13.0–42.1)	23.1 (9; 11.1–39.9)	51.3 (20; 34.8–67.6)	51.3 (20; 34.8–67.6)	15.4 (6; 5.9–30.5)	0 (0; 0–9.0)		
♂	61.4 (62; 51.2–70.9)	74.2 (46; 61.5–84.5)	35.5 (22; 23.7–48.7)	32.3 (20; 20.9–45.3)	43.5 (27; 31.0–56.7)	38.7 (24; 26.6–51.9)	16.1 (10; 8.0–27.7)	6.5 (4; 1.8–15.7)		
Age										
>1 a	54.5 (55; 44.2–64.4)	80.0 (44; 67.0–89.6)	34.5 (19; 22.2–48.6)	32.7 (18; 20.7–46.7)	58.2 (32; 44.1–71.3)	52.7 (29; 38.8–66.3)	14.5 (8; 6.5–26.7)	3.6 (2; 0.4–12.5)		
<1 a	45.5 (46; 35.6–55.8)	63.0 (29; 47.5–76.8)	28.3 (13; 16.0–43.5)	23.9 (11; 12.6–38.8)	32.6 (15; 19.5–48.0)	32.6 (15; 19.5–48.0)	17.4 (8; 7.8–31.4)	4.4 (2; 0.5–14.8)		
Age-Sex Class										
>1 a + ♀	15.8 (16; 9.3–24.4)	81.2 (13; 54.4–96.0)	31.2 (5; 11.0–58.7)	31.2 (5; 11.0–58.7)	68.8 (11; 41.3–89.0)	68.8 (11; 41.3–89.0)	12.5 (2; 1.6–38.3)	0 (0; 0–20.6)		
>1 a + ♂	38.6 (39; 29.1–48.8)	79.5 (31; 61.5–89.2)	35.9 (14; 21.2–52.8)	33.3 (13; 19.1–50.2)	53.8 (21; 37.2–69.9)	46.2 (18; 30.1–62.8)	15.4 (6; 5.9–30.5)	5.1 (2; 0.6–17.3)		
<1 a + ♀	22.8 (23; 15.0–32.2)	60.9 (14; 38.5–80.3)	21.7 (5; 7.5–43.7)	17.4 (4; 5.0–38.8)	39.1 (9; 19.7–61.5)	39.1 (9; 19.7–61.5)	17.4 (4; 5.0–38.8)	0 (0; 0–14.8)		
<1 a + ♂	22.8 (23; 15.0–32.2)	65.2 (15; 41.7–83.6)	34.8 (8; 16.4–57.3)	30.4 (7; 13.2–52.9)	26.1 (6; 10.2–48.8)	26.1 (6; 10.2–48.8)	17.4 (4; 5.0–38.8)	8.7 (2; 1.1–28.0)		

* significant relationships calculated with Fisher's exact test with a significance level of $p \leq 0.025$. a, year. *B. procyonis*, *Baylisascaris procyonis*; *A. cf. incisulprocyonis*, *Atriolema cf. incisulprocyonis*; *I. hortensis/melis*, *Isthminophora hortensis/melis*; ♀, female; ♂, male.

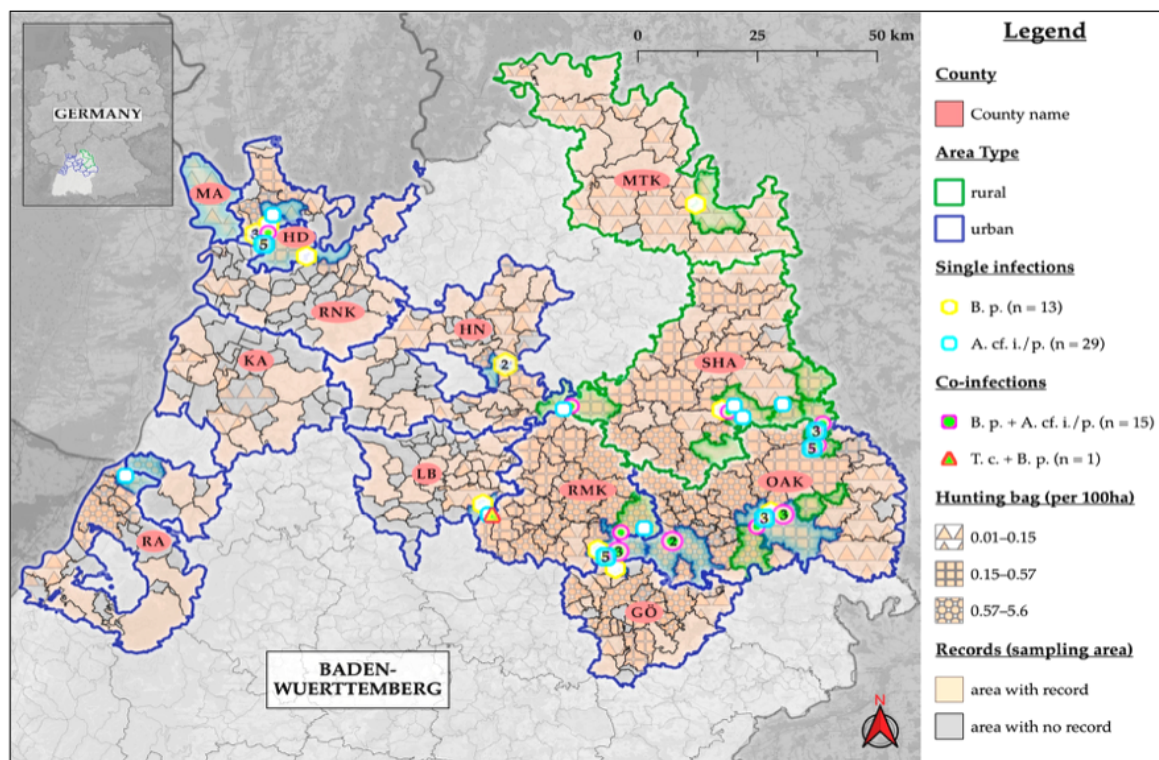


Figure 2. Map of helminth locations. The illustration depicting the cumulative areas where raccoons were observed (records) based on survey records and hunting bag data of 2019 obtained from the Wildlife Research Unit at Agricultural Centre Baden-Wuerttemberg (LAZBW, Aulendorf, Germany). The hunting bag describes the number of raccoons hunted per 100 ha. MA (Mannheim), HD (Heidelberg), RNK (Rhein-Neckar-Kreis), RA (Rastatt), KA (Kreis Karlsruhe), HN (Kreis Heilbronn), LB (Kreis Ludwigsburg), RMK (Rems-Murr-Kreis), GÖ (Kreis Göppingen), MTK (Main-Tauber-Kreis), SHA (Kreis Schwäbisch Hall), OAK (Ostalbkreis). *B. p.*, *Baylisascaris procyonis*; *A. cf. i./p.*, *Atriotaeonia cf. incisa/procyonis*; *T. c.*, *Toxocara canis*.

3.2. Cestodes

A total of 46.5% cestode-positive raccoons were exclusively detected by visual examination during necropsy and the SSCT (Table 2). The cestodes were determined based on morphological characteristics, and to verify these we used the described PCR tests with subsequent sequencing. Of the 60 cestode specimens analyzed via sequencing, 38 yielded sequences that could be evaluated.

We detected *Atriotaeonia (A.) cf. incisa/procyonis* in 43.6% ($n = 44$; 95% CI: 33.7–53.8) of the 101 examined raccoons (Table 2 and Figure 2). The morphological examination allowed the identification of the cestodes as *Atriotaeonia* spp. This was performed using written descriptions of the morphology of *Atriotaeonia* spp., such as the characteristics of the scoleces [43]. No cestode other than *A. incisa* or *A. procyonis*, which resembles this genus, is known to infect raccoons. Of the 38 yielded gene sequences, 36 were identical to each other, including those of the morphologically determined cestodes. Consequently, all 36 identical sequences were assigned to either *A. incisa* or *A. procyonis*. The comparison of the most frequently encountered sequences with the references in the NCBI GenBank did not allow species identification. The approximately 730 bp-long *cox1* gene fragment showed the highest similarity with 82.8% to a *Dipylidium caninum* sequence (NC021145). Therefore, the complete *nad1* gene was also analyzed from some of these samples. This 900 bp-long sequence had the highest match of 87.9% with *Taenia crassiceps* (NC002547). Since genetic determination was not successful and it is almost impossible to distinguish morphologically between *A. procyonis* and *A. incisa*, the name *A. cf. incisa/procyonis* is used here [43]. The complete *nad1* and partial *cox1* gene *A. cf. incisa/procyonis* gene sequences

were submitted to the NCBI GenBank under the Accession Numbers OR001745 for *nad1* and OR039311 for *cox1*. Cestodes in the total and *A. cf. incisa/procyonis*-positive raccoons originated more frequently from rural than urban areas with a significance of $p = 0.02$. No other significant dependencies of the tested categories with Fisher's exact test between the positive and negative cestode groups could be found.

Taenia (T.) martis was found in 1.98% ($n = 2$; 95% CI: 0.2–7) of the 101 raccoons, of which WB37 (juvenile, male, urban, Aalen, OAK) was also infected with *A. cf. incisa/procyonis*. The other *T. martis*-positive raccoon was a male adult individual from a rural area (Bühlerzell, SHA; WB30). Species identification was performed by molecular means. Small fragments of the *cox1* (118 bp) and *nad1* (51 bp) genes were obtained. They were 100% congruent with the reference sequence of *T. martis* AB731758 [39]. Although the fragments were short, both could thus be clearly assigned to this species. Furthermore, we found *Mesocestoides* spp. in one (0.99%; 95% CI: 0.03–5.4) of the *A. cf. incisa/procyonis*-positive raccoons (WB93, female, adult, rural, SHA, Frankenhardt). Four scoleces were isolated from this raccoon and could be identified as *Mesocestoides* spp. based on their size and characteristic morphology. Neither the nested PCR with the *cox1* nor the *nad1* primers yielded evaluable results. Cestodes from two male adult raccoons (WB18 (rural, Frankenhardt, SHA) and WB94 (urban, Lorch, OAK)) could not be attributed morphologically or genetically to a specific species. No *Echinococcus* spp. were detected by the SSCT.

3.3. Trematodes

Trematodes were detected in 15.8% of the raccoons ($n = 16$; 95% CI: 9.3–24.4) by the SSCT ($n = 14$) and flotation ($n = 2$). Adult trematodes of half of the 14 positive raccoons were morphologically assigned to a genus or specific species, while this was not possible for the other 7 due to the poor condition of the worms. Two trematode infections were exclusively detected through egg flotation (WB52 and WB75), and the causative species, therefore, were not determined. The trematodes of 4% of the examined raccoons ($n = 4$; 95% CI: 1.1–9.8) were assigned to *Isthmiophora (I.) hortensis/melis*. Without genetic differentiation, *I. melis* and *I. hortensis* cannot be distinguished from each other. Two raccoons were male and adult (WB08, WB100) and two were male juvenile individuals (WB09, WB102; Table 2). Raccoons WB08 and WB09 originated from KA (Rheinstetten) and WB100 (Ellenberg), and WB102 (Lorch) from OAK. The latter two raccoons had a heavy infestation of *I. hortensis/melis*, with 30 individuals each. Raccoon WB10 (male, adult, urban) from Rheinstetten, KA was infected with *Plagiorchis muris* (0.99%; 95% CI: 0.03–5.4). In addition, *Brachylaima* spp. were detected in 1.98% of raccoons ($n = 2$; 95% CI: 0.2–7). One individual originated from Aalen, OAK (male, juvenile, urban, WB36) and the other animal from Weinsberg, HN (female, adult, urban, WB74). No significant dependencies of the tested categories with Fisher's exact test between the positive and negative trematode groups could be found.

3.4. Intensity of Infestation and Co-Infections

Based on visual examination during necropsy and the SSCT, the infestation levels of the individual helminths could be determined (Figure 3). Thus, of the 29 raccoons infested with nematodes, 65.5% had minor ($n = 19$; 95% CI: 45.7–82.1), 31% had moderate ($n = 9$; 95% CI: 15.3–50.8), and 3.4% had a heavy infestation ($n = 1$; 95% CI: 0.1–17.8). Of the 47 cestode-positive raccoons, 51.1% were minorly ($n = 24$; 95% CI: 36.1–65.9), 25.5% were moderately ($n = 12$; 95% CI: 13.9–40.3), and 23.4% were heavily infested ($n = 11$; 95% CI: 12.3–38.0). Of the 14 raccoons with trematodes, 78.6% had a minor infestation ($n = 13$; 95% CI: 49.2–95.3), 7.1% were moderately ($n = 1$; 95% CI: 0.2–33.9), and 14.3% were heavily infested ($n = 2$; 95% CI: 1.8–42.8) (Figure 3). No significant differences in infestation levels within the categories (sex, age, area type) were seen with the Kruskal–Wallis rank sum test.

Co-infections were detected in 32.9% of the 73 positive raccoons ($n = 24$; 95% CI: 22.3–44.9) (Table 3). The largest proportion, 21.9% of the positive raccoons ($n = 16$; 95% CI: 13.1–33.1), had a dual infection with nematodes and cestodes (Table 3). In two cases each, we found dual infections with nematodes and cestodes and with cestodes and trematodes.

One raccoon, WB36 (female, juvenile, urban, Aalen, OAK), had a triple infection with all three parasite groups (Table 3).

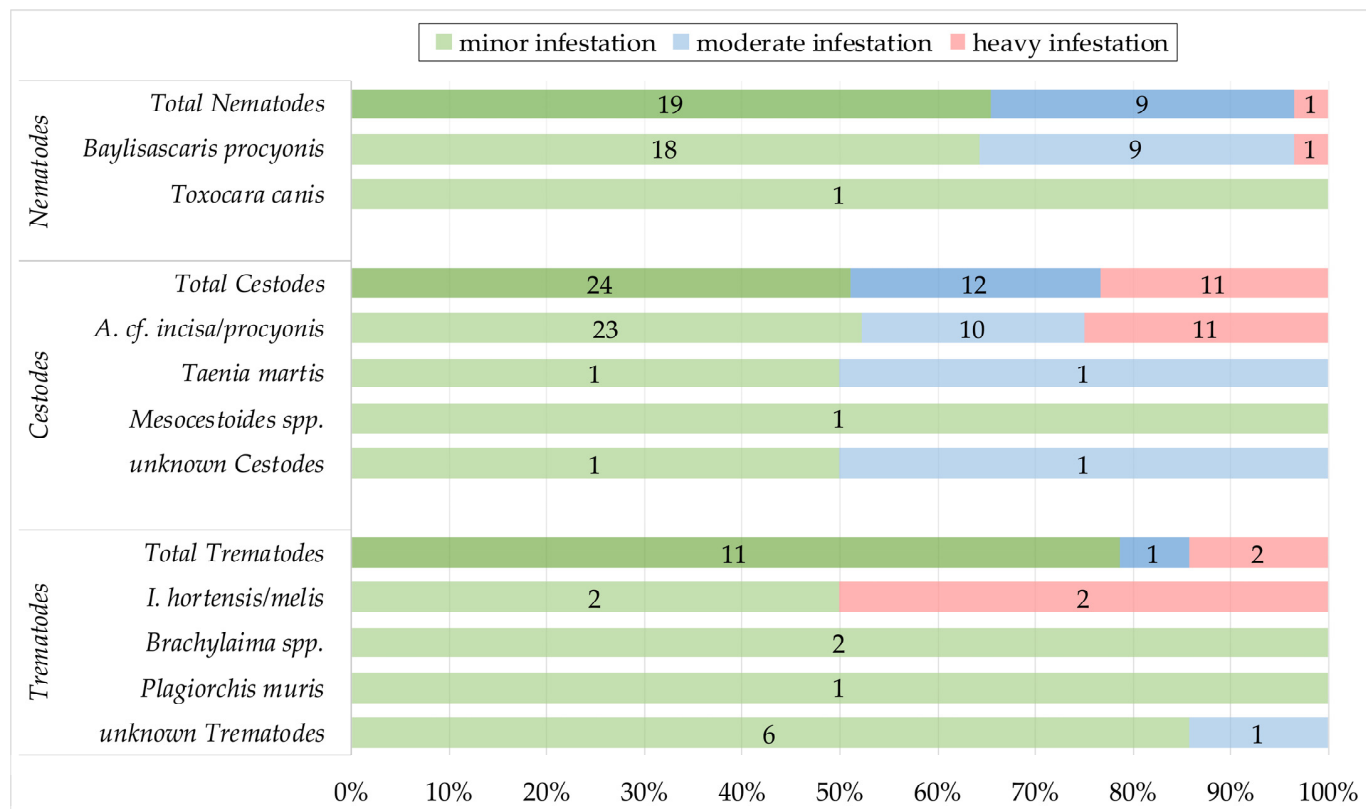


Figure 3. Infestation intensity of helminths based on morphological examination. The numbers represent raccoon counts per infestation level. *A. cf. incisa/procyonis*, *Atriotenia cf. incisa/procyonis*; *I. hortensis/melis*, *Isthmiophora hortensis/melis*.

Table 3. Co-infections of nematodes, cestodes, and trematodes. This table shows the absolute and relative co-infection results with 95% confidence intervals for the individual categories. The relative frequency describes the proportion of co-infections within the positive raccoons of each category.

Parameters	n Positives	% (n Positives, CI 95%)				
		Coinfections	Nem/Cest	Nem/Trem	Cest/Trem	Nem/Cest/Trem
Total	73	32.9 (24; 22.3–44.9)	21.9 (16; 13.1–33.1)	2.7 (2; 0.3–9.5)	2.7 (2; 0.3–9.5)	1.4 (1; 0–7.4)
Years						
2019	23	34.8 (8; 16.4–57.3)	17.4 (4; 5.0–38.8)	0 (0; 0–14.8)	4.3 (1; 0.1–21.9)	4.3 (1; 0.1–21.9)
2020	50	32 (16; 19.5–46.7)	24 (12; 13.1–38.2)	4 (2; 0.5–13.7)	2 (1; 0.1–10.6)	0 (0; 0–7.1)
Area						
rural	25	40 (10; 21.1–61.3)	28 (7; 12.1–49.4)	0 (0; 0–13.7)	5.9 (2; 0.7–19.7)	0 (0; 0–13.7)
urban	48	29.2 (14; 17.0–44.1)	18.8 (9; 9.0–32.6)	4.2 (2; 0.5–14.3)	0 (0; 0–5.3)	2.1 (1; 0.1–11.1)
Sex						
♀	27	33.3 (9; 16.5–54.0)	25.9 (7; 11.1–46.3)	3.7 (1; 0.1–19.0)	3.7 (1; 0.1–19.0)	0 (0; 0–12.8)
♂	46	32.6 (15; 19.5–48.0)	19.6 (9; 9.4–33.9)	2.2 (1; 0.1–11.5)	2.2 (1; 0.1–11.5)	2.2 (1; 0.1–11.5)
Age						
>1 a	44	36.4 (16; 22.4–52.2)	27.3 (12; 15.0–42.8)	4.5 (2; 0.6–15.5)	2.3 (1; 0.1–12.0)	0 (0; 0–8.0)
<1 a	29	27.6 (8; 12.7–47.2)	13.8 (4; 3.9–31.7)	0 (0; 0–11.9)	3.4 (1; 0.1–17.8)	3.4 (1; 0.1–17.8)
Age–Sex Class						
>1 a + ♀	13	38.5 (5; 13.9–68.4)	30.8 (4; 9.1–61.4)	7.7 (1; 0.2–36.0)	0 (0; 0–24.7)	0 (0; 0–24.7)
>1 a + ♂	31	35.5 (11; 19.2–54.6)	25.8 (8; 11.9–44.6)	3.2 (1; 0.1–16.7)	3.2 (1; 0.1–16.7)	0 (0; 0–11.2)
<1 a + ♀	14	28.6 (4; 8.4–58.1)	21.4 (3; 4.7–50.8)	0 (0; 0–23.2)	7.1 (1; 0.2–33.9)	0 (0; 0–23.2)
<1 a + ♂	15	26.7 (4; 7.8–55.1)	6.7 (1; 0.2–31.9)	0 (0; 0–21.8)	0 (0; 0–21.8)	6.7 (1; 0.2–31.9)

Nem, nematodes; Cest, cestodes; Trem, trematodes; a, year; ♀, female; ♂, male.

4. Discussion

This study aimed to systematically investigate the occurrence of helminths of raccoons in BW, as no such screening had been carried out in the southwestern region of Germany. We found that 72.3% of 101 free-ranging raccoons were positive for at least one helminth parasite in the examinations performed (Table 2). Among the helminths detected, there were positive results for species of four nematode genera (*B. procyonis*, *T. canis*, *Capillaria* spp., and *Trichuris* spp.), three cestode genera (*A. cf. incisa/procyonis*, *T. martis* and *Mesocestoides* spp.), and three trematode genera (*I. hortensis/melis*, *Plagiorchis muris*, and *Brachylaima* spp.). The detected parasite diversity and presence of six potentially zoonotic helminths are relevant considering the One Health aspect. According to our findings, the raccoons' propensity for spreading and synanthropic habits may lead to environmental pollution in BW with pathogens, including helminths [9]. Consequently, raccoons may serve as a transmission link between various animal groups, including wildlife, domestic and zoo animals, and humans, thereby elevating the risk of infection [3,6,12,14].

4.1. Methodological Limitations

The acquisition of raccoons was exclusively conducted in the northern half of BW, where the population density and hunting activity are highest (Figure 1). Therefore, our results are not representative of the entire region of southwestern Germany. The spatial and temporal distribution of raccoon carcasses and their submission may be biased due to complex biological factors (e.g., raccoon population dynamics) and human-related factors (e.g., hunters' commitment in respective areas) [44]. To provide an overview of helminths in the raccoon population of BW, we restricted our sample size to approximately 100 animals. Based on a hunting bag of 4015 raccoons during the 2019/2020 hunting season, the estimated raccoon population in BW is estimated to be 40,000 animals [13,15]. With a sample size of 101 raccoons, only 3.3% of the hunting bag and 0.3% of the estimated population in BW were represented [9]. Higher numbers are required for accurate prevalence and population estimates. Two-thirds of the sampled raccoons were from urban areas, which is not surprising given the high raccoon densities in such areas and the densely populated sample area (Figure 1) [9]. The categorization of raccoons into urban and rural areas is a simplified classification, as it only considers the hunting community and not the individual raccoon's spatial usage [9]. Home range sizes can vary based on factors such as season, habitat and area type (urban > rural), sex (male > female), and age (adult > juvenile) [21,23].

Helminth prevalence may be underestimated due to the natural decomposition processes of intestinal parasites. The freezing and thawing of the carcasses and samples may have damaged or even destroyed less persistent parasites such as flukes, small tapeworms [45], and some *Trichinella* spp. [46], leading to an underestimation of the overall infestation rate. For some cestodes and trematodes, the genera were determined exclusively by morphological and parasitological examinations. In this context, it should be mentioned that these are not completely reliable, and a genetic identification is preferred. To detect intestinal nematodes in raccoons, we used a combination of three methodological approaches (visual examination/SSCT, flotation, and ELISA-based PetChekTM IP) to obtain the most accurate picture and prevalence of the nematode fauna [8,47,48], of which the ELISA test was only performed in 67 of the 101 raccoons. The intestinal collection of nematodes is the gold standard to obtain reliable prevalence values, including prepatent infections [8,48]. Prepatent infections, however, are not detected in fecal egg flotations, which can lead to an underestimation of the true prevalence [8,27,48]. In addition, male-only infections, insufficient fecal material, irregular shedding, and fluctuating amounts of eggs, as is the case in many intestinal helminths, e.g., *Baylisascaris* spp., can lead to false-negative results in the flotation [8,27]. Of the *B. procyonis*-positive raccoons by visual examination and the SSCT, only 35.7% (10/28) were also positive by egg flotation; thus, 64.3% of the positive samples remained undetected. The species of ascarid eggs in the flotation was not corroborated by PCR in the samples with *B. procyonis* individuals detected by visual examination and the SSCT.

The ELISA-based PetChek™ IP assay detects antigens of (pre-)patent stadia of ascarids, hookworms, and whipworms in feces; however, it has not yet been validated for detecting *Baylisascaris* spp. [8,38]. The eight raccoons positive for ascarids detected by this ELISA were also positive for *B. procyonis* in the PCR assays. Thus, it is reasonable to assume that the ELISA is able to identify *B. procyonis*. However, 16 samples with *B. procyonis* could not be confirmed by this ELISA.

Hence, it is evident that the selection of methods can significantly impact the prevalence, which must be considered when evaluating them.

4.2. Nematodes

4.2.1. *Baylisascaris procyonis*

Baylisascaris procyonis was found in 28.7% of 101 examined raccoons, making it the second most prevalent helminth species in this study. Previously reported prevalence values for *B. procyonis* in Germany vary significantly, ranging from 0% to 95% depending on the geographical region [10,16,25,49,50]. Raccoon populations in central Germany, including urban areas, especially exhibit remarkably high prevalence rates [10,25,49]. Prevalence rates in neighboring countries show considerable differences but tend to be lower than those in Germany [18,47,51,52]. The prevalence variations of *B. procyonis* in endemic areas are influenced by the migrated raccoons from founder populations, with additional ecological or geographical factors potentially playing a role [16,50]. The population growth and spatial expansion led to the mixing of founder populations and consequently to the spread of *B. procyonis* [17,30]. It is described that in BW, raccoons from the Hesse, Harz, and Rhineland-Palatinate regions had mixed, with a high prevalence of *B. procyonis* reported in Hessian and Harz raccoons [13,16,17,53]. Given that the raccoon population is in the early stages of spreading in BW, it can be assumed that *B. procyonis* prevalence rates will continue to increase. A total of 64.3% of the 28 raccoons that tested positive in the visual examinations and SSCT showed a mild infestation, 32.1% had a moderate infestation, and a heavy infection was observed in only 3.7% of the raccoons (Figure 3). These results contradict previous studies from Germany, which often reported heavy or moderate infestations [10,25]. However, it should be noted that the categorization criteria for infestation severity may differ between studies. Although many publications identified influencing factors, such as age, sex, land use, area type or season [8,20,22,54–56], this could not be detected in the present study.

The genus *Baylisascaris* comprises ten species, with *B. procyonis* being considered the most pathogenic in intermediate and accidental hosts [22,25]. *Baylisascaris procyonis* is an emerging zoonotic pathogen with an indirect life cycle involving raccoons as the final hosts, typically resulting in subclinical infections [2,57–59]. In addition, there are more than 130 intermediate or accidental hosts (rodents, birds, domestic animals, wild carnivores, primates, and humans) of this parasite, which can occasionally develop severe clinical signs resulting from visceral, ocular, or neural *larva migrans* syndrome [27,57,58]. Raccoons infected with *B. procyonis* can excrete over 200,000 EPG (eggs per gram of feces), which become infectious after 14 days and can remain infective in the environment for years under suitable moisture conditions [25,55,57,58]. Raccoons defecating on communal latrines, which are visited by various potential intermediate hosts and are an essential and persistent source of *B. procyonis* infections, lead to environmental contamination with this parasite [25–27]. Furthermore, it should be noted that domestic dogs not only serve as intermediate hosts for *B. procyonis* but can also act as alternative final hosts [4,8,27,58]. Therefore, in areas with high *B. procyonis* prevalence, dogs may pose a potential public health risk and may extend the range of environmental contamination [5,8,58]. Additionally, it should be noted that *B. procyonis* can negatively impact the populations of potentially endangered intermediate hosts, contributing to biodiversity loss [5,8,25,27,53,58]. In many zoos, *B. procyonis* infections are of increasing concern for various animal species [52,60,61]. The exposure to *B. procyonis* in zoological facilities appears to be real in BW, as indicated by the detection of *B. procyonis* eggs in the latrines of one out of six raccoon enclosures

tested using the flotation method (Reinhardt, N. P.; unpublished). Zoological institutions in raccoon distribution areas should be aware of the presence of *B. procyonis* and implement prevention measures accordingly [25,52,60,61]. *Baylisascaris procyonis*, with its potential to cause severe or fatal infections, particularly in children, poses a public health risk [27] that is underestimated in Germany, according to Peter et al. [10]. Nevertheless, cases of Baylisascariasis in humans are rare both in Europe and North America [27,58]. However, serological investigations indicate that subclinical infections may frequently occur in adults in *B. procyonis* areas, suggesting many unreported cases [27,62].

In summary, *B. procyonis* poses a potential One Health threat as it can have a negative health impact on humans and a variety of domestic, zoo, and wildlife species [4,8,27,58,59,61]. In a preventive approach, high raccoon densities should be considered a risk factor; therefore, identifying *B. procyonis* risk areas is highly beneficial [16,27].

4.2.2. *Toxocara canis*, *Capillaria* spp. and *Trichuris* spp.

We detected *T. canis* in the intestine of one raccoon, which is the second description of this nematode in raccoons and the first detection by PCR and Sanger sequencing. Davidson et al. [63] morphologically identified eggs of *Toxocara* spp. and *Toxascaris* spp. in the feces of two Norwegian raccoons. The ascarid eggs collected from the *T. canis*-positive raccoon in the flotation were examined using PCR, revealing the presence of *B. procyonis* and no positive result for *T. canis* eggs. This could be attributed to a non-patent *T. canis* infection or the absence of *T. canis* eggs in the sample used for the flotation and PCR analysis. Consequently, the raccoon's status as a final host for *T. canis* could not be confirmed with certainty. Nevertheless, the possibility should be considered that raccoons occurring in close proximity to domestic dogs or red foxes (*Vulpes vulpes*) may be involved in disseminating *T. canis*. In dogs, *T. canis* is one of the most common intestinal parasites and is also pathogenic to humans [64]. Fecal examinations in Germany revealed a prevalence of 6.1% in dogs (N = 24,677), with a higher prevalence observed in animals up to six months, being twice as high [65]. In German red foxes, prevalence rates of 43.8% (N = 80) have been reported, making it one of the most commonly detected endoparasites in this species [11]. An infection with *Toxocara* spp. in intermediate hosts follows a nearly equivalent course to *Baylisascaris* spp., although the latter more frequently leads to severe or fatal neural damage [25,27]. Toxocariasis is the most common helminthic zoonosis in industrialized countries, with a human seroprevalence of 6.2% in Europe and 4.8% in Germany [27,64,66]. Peak values of 32.7% were recorded in Ireland and 27.4% in France [66].

We detected eggs of *Capillaria* spp. in one raccoon and *Trichuris* spp. using the ELISA PetChek™ IP assay (IDEXX, Kornwestheim, Germany) in two raccoons' fecal samples. Both genera have been previously detected in raccoons in Germany, albeit with low prevalence [10,31,47].

No *Trichinella* spp. were found in this study. In Germany, several investigations have been conducted on *Trichinella* spp. in raccoons, but only immunological detection in meat juice has been successful [10,67,68]. This nematode is globally distributed and is regularly found in carnivores and wild boars in Germany [67–69]. *Trichinella* spp. have been detected in raccoons in Europe, North America, and Japan [67,68].

4.3. *Cestodes*

In this study, *A. cf. incisa/procyonis* was the most commonly detected helminth, with a prevalence of 43.6% among the 101 examined raccoons. The species allocation is uncertain. In total, five species of *Atriotaenia* have been described, four from American procyonids, mustelids, and bats [70]. Relevant here are *A. procyonis* from North American raccoons and *A. incisa* from European badgers. Both species are morphologically indistinguishable and possibly conspecific [43]. In the absence of any gene sequence data prior to our study, we are not in a position to decide whether the taxon we found in our raccoons had been translocated from North America with its host (as with *B. procyonis*), or whether the indigenous badger parasite described as *A. incisa* has expanded its host range to raccoons.

Genetic data from North America and Europe will be necessary to draw a conclusion from this. The parasite burden in the affected raccoons is higher compared to all the other parasites found, with 25% of the 44 positive raccoons ($n = 11$; 95% CI: 13.2–40.3) being heavily infected and 22.7% ($n = 10$; 95% CI: 11.5–37.8) moderately infected (Figure 3). These high parasite burdens are consistent with previous investigations in Germany [43]. In Europe, *Atriotaenia* spp. has been repeatedly detected in raccoons, with the recent prevalence ranging from 12.0% ($N = 175$) in Germany to 19.7% ($N = 234$) in Poland [10,18]. In comparison, the prevalence detected here is more than twice as high. The high prevalence and infestation rates found in this and previous studies in Germany suggest that raccoons are important hosts of this parasite [10]. Significantly higher prevalence rates of up to 86.9% ($N = 35$) have been reported from raccoons in North America [29,71,72]. There have been relatively few studies on *A. cf. incisa/procyonis*, so little is known about its life cycle and pathogenicity [73]. Cyclophyllidean cestodes require intermediate hosts for their development, in the case of *Atriotaenia* sp. most probably coprophagous beetles [72]. Due to raccoons consuming beetles throughout the year, the likelihood of infection is relatively high [20]. Statistically, it was determined that a significantly higher proportion of *A. cf. incisa/procyonis*-positive raccoons originated from rural areas. This could be associated with a presumed higher abundance of intermediate hosts in rural areas and the increased utilization of anthropogenic food sources by raccoons in urban areas, which can decrease the diversity of parasites with indirect life cycles [71,74].

We identified *T. martis* for the first time in raccoons. *Taenia martis* is widely distributed in Europe and commonly infects the intestines of various species of Mustelidae [75,76]. In southern Germany, prevalence rates of *T. martis* were found to be 36% ($N = 47$) in stone martens (*Martes foina*) and 48% ($N = 437$) in muskrats (*Ondatra zibethicus*) [77]. Whether raccoons could be a new possible final host of *T. martis* with patent infections is unclear since both individuals were immature and only about 3 cm long. However, the fact that the parasite was found in two raccoons from different counties (SHA, OAK) may indicate a broader distribution in the raccoon population of BW. Other taeniids such as *Hydatigera* sp., *T. crassiceps*, and *T. pisiformis* have already been detected in raccoons [71,78,79]. *Taenia martis* is considered an emerging infectious pathogen because it causes eye and brain infections in humans and can induce severe to fatal infections in nonhuman primates [75,76,79]. It should be noted that out of four described human cases worldwide, three have occurred in Germany [79].

Mesocestoides spp. could only be detected at the genus level in one raccoon in this study. The accurate species identification of *Mesocestoides* spp. is difficult due to taxonomic uncertainties within this genus and should, at best, be performed both morphologically and molecularly [80]. In German raccoons, a prevalence of 2.6% ($N = 234$) to 3.5% ($N = 762$) has been described so far [10,50]. In comparison, a study from Poland showed that a higher prevalence of 67% ($N = 55$) can occur [47]. This may indicate that raccoons could likely be final hosts of *Mesocestoides* spp. This genus is distributed worldwide in various carnivorous final hosts and, in individual cases, can also be transmitted to humans [79,80]. Common second intermediate hosts are small mammals, birds, reptiles, and amphibians [47,80], which are also essential sources of feed for raccoons [20].

Comparing the prevalence of the cestode genera found, it should be noted that cestodes using small mammals as intermediate hosts (*T. martis*, *Mesocestoides* spp.) are much less common. Another important zoonotic parasite with such a heteroxenous life cycle, *Echinococcus* spp., was not detected. By now, no *Echinococcus* sp. has been described in raccoons, either in North America or elsewhere. Considering the high prevalence of *Echinococcus multilocularis* in red foxes in our study area, the involvement of raccoons in the life cycle of this parasite appears to be negligible [19,81].

4.4. Trematodes

Raccoons have been found to harbor numerous species of trematodes. The use of water-rich environments makes infections with digenetic trematodes likely because raccoons in

these habitats may feed on insects, amphibians, mollusks, and fish, all of which are known intermediate hosts of trematodes [20,82]. The low number of trematode infections observed in this study is consistent with the low infection rates in Hessian and Bavarian raccoons, reported by Peter et al. [10]. Several explanations exist, such as the possibility that raccoons serve only as accidental hosts or that trematodes pass through their digestive tract without maturing. Differences in habitat use, such as less use of or access to water-rich areas and thus less contact with potentially infected intermediate hosts, may also play a role. In addition, there are methodological limitations, as described earlier, since flukes quickly decompose through freezing and thawing processes, rendering them undetectable.

Among the examined raccoons, 4% were found to harbor the species *I. hortensis/melis*. In this project, the species *I. melis* and *I. hortensis* were grouped due to their close morphological resemblance, making it impossible to differentiate them without using genetic techniques [83]. Morphologically identifying *Isthmiophora* spp. is challenging because they can vary in morphology within and between species depending on the host [84]. Unlike other representatives in the Echinostomatidae family, *Isthmiophora* spp. exclusively infest mammals' intestinal tract during their adult phase [85]. So far, over 30 species of vertebrates, including humans, have been identified as final hosts [84,85]. Both *I. melis* and *I. hortensis* have been found in the intestines of raccoons, wild boars (*Sus scrofa*), raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*), and other wild animals [84,85]. In central Europe, the prevalence of *Isthmiophora* spp. infections in raccoons has been reported to range from 4.8% (N = 62; Czechia) to 50.3% (N = 175; Germany and Poland) [18].

In 1% of the examined raccoons, another potentially human pathogenic trematode species, *Plagiorchis muris*, commonly found in freshwater ecosystems across Europe, was identified based on its morphology [86]. *Plagiorchis muris* has previously been detected in raccoons, including in Germany, with a prevalence of 0.9% (N = 234) [10,78,86]. This parasite is typically found in the small intestine of rodents, birds, reptiles, insectivores, and omnivores [87]. Although human infections have been described, the risk for humans is minimal due to the trophic transmission primarily through raw fish [87].

Morphologically, *Brachylaima* spp. were also identified in almost 2% of the raccoons. This genus has been frequently described in raccoons, with a prevalence of 3.8% (N = 234) in central Germany [10,82].

5. Conclusions

In summary, according to our findings, the raccoons' propensity for spreading and synanthropic habits may lead to environmental pollution in BW with pathogens, including helminths [9]. Consequently, raccoons may serve as a transmission link between various animal groups, including wildlife, domestic and zoo animals, and humans, thereby elevating the risk of helminthic infections [3,6,12,14]. The detection of the parasite variety and abundance of potentially zoonotic helminths, including *B. procyonis*, *T. canis*, *T. martis*, *Mesocestoides* spp., *Plagiorchis muris*, and *I. hortensis/melis* are relevant considering One Health aspects. The relatively low infestation levels with individual helminths and the co-infections of various helminth groups, compared to the main distribution areas of raccoons in Germany, provide evidence for the raccoon's early stage of spread in BW [10,49]. Despite this, the present study shows a relatively high diversity of helminth fauna in raccoons from BW, indicating an existing interaction in the life cycles of these helminths in BW. Anthropogenic alterations, along with host- and pathogen-specific factors, influence the dynamics of environmental pathogen pollution and helminthic transmissions among wildlife species, domestic animals, and humans [3,6,9]. Urbanization and the climate crisis, in particular, can have a significant impact on the epidemiology of helminths, such as *B. procyonis*, and the occurrence and spread of intermediate or final hosts, such as raccoons [2,4,5,19,22,88]. As raccoons continue to expand their population in BW, they are likely to integrate into new distribution areas and serve as new hosts for native parasites and pathogens [9,10,12,15,18].

Therefore, in regions with high biodiversity, endangered species, and human populations, it could be advisable to implement measures to deter, control, or eradicate raccoons

to minimize their potential negative impact as IAS and their contribution to pathogen pollution [9,21,24]. However, in this regard, it should be considered that increasing mortality through hunting will raise the turnover rates of the population and disease transmission due to high offspring rates or migrating raccoons, which may be counterproductive [20]. Additionally, in alignment with the One Health approach, the four fundamental elements of prediction, prevention, diagnosis, and intervention are imperative [4]. Prevention measures (e.g., hygiene concepts, public education, anthelmintic management in pets, baiting programs, and raccoon management) are essential to mitigate the negative impact of helminth infections in raccoons on both human and animal health [2,8,25,82]. The regular removal of latrines and heat-based sterilization methods of the surroundings should be employed in raccoon-inhabited areas to minimize environmental contamination with helminth eggs [8,25,27].

Our results highlight the importance of wildlife disease surveillance systems as part of a One Health approach [2,3,5,6,9,54]. Exploring risk factors in wildlife final and intermediate hosts and the environment will provide a better understanding of the epidemiology of helminths, the role of wildlife, and the potential negative consequences of infectious pathogens [4,54]. This exploratory study provides the framework for selective prevalence studies with larger sample sizes, latrine monitoring, or research on intermediate hosts in the study area to obtain a more profound insight into the infection situation, environmental contamination, e.g., with *B. procyonis*, and infection risk for humans and animals with helminths. Moreover, similar studies in other parts of Germany and Europe would improve our understanding of the differences in the occurrence of helminths in raccoons.

Author Contributions: Conceptualization: N.P.R., R.K.S., U.M. and J.A.; supervision: R.K.S. and U.M.; resources: R.K.S., U.M., E.G. and L.K.; validation: M.W., T.R. and E.G.; methodology: M.W., T.R., E.G. and L.K.; investigation: N.P.R., J.H., M.W. and L.K.; visualization, data curation, project administration, formal analysis and writing—original draft preparation: N.P.R.; writing—review and editing: R.K.S., U.M., M.W., T.R., J.H., E.G., J.A. and L.K. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The datasets generated during and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Acknowledgments: All authors would like to acknowledge the institutes and persons involved for their support and help with this project. Our particular thanks go to the StabLab (LMU) for their help with the statistical evaluation and to all hunters participating in the project and the Federal Hunting Association Baden-Wuerttemberg. We thank Norbert Peter for his opinion on some photographs of ill-preserved trematodes. My special appreciation goes to the Hanns-Seidel-Foundation e.V., Munich, and the Federal Ministry of Education and Research (BMBF) for funding me as a doctoral thesis stipend.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Dirzo, R.; Ceballos, G.; Ehrlich, P.R. Circling the drain: The extinction crisis and the future of humanity. *Philos. Trans. R. Soc. B.* **2022**, *377*, 20210378. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Gordon, C.A.; McManus, D.P.; Jones, M.K.; Gray, D.J.; Gobert, G.N. The Increase of Exotic Zoonotic Helminth Infections: The Impact of Urbanization, Climate Change and Globalization. *Adv. Parasitol.* **2016**, *91*, 311–397. [[CrossRef](#)]
3. Yon, L.; Duff, J.P.; Agren, E.O.; Erdelyi, K.; Ferroglio, E.; Godfroid, J.; Hars, J.; Hestvik, G.; Horton, D.; Kuiken, T.; et al. Recent Changes in Infectious Diseases in European Wildlife. *J. Wildl. Dis.* **2019**, *55*, 3–43. [[CrossRef](#)]
4. Louis, M.E. *Baylisascaris procyonis*, a Zoonotic Threat Requiring an Integrated One Health Approach. Master's Thesis, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA, 2020.

5. Thompson, R.C. Parasite zoonoses and wildlife: One health, spillover and human activity. *Int. J. Parasitol.* **2013**, *43*, 1079–1088. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Daszak, P.; Cunningham, A.A.; Hyatt, A.D. Emerging Infectious Diseases of Wildlife—Threats to Biodiversity and Human Health. *Science* **2000**, *287*, 443–449. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Otranto, D.; Deplazes, P. Zoonotic nematodes of wild carnivores. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.* **2019**, *9*, 370–383. [[CrossRef](#)]
8. Sapp, S.G.H. *Baylisascaris procyonis* Infection Dynamics and Transmission among Wildlife, Domestic Animal, and Human Hosts. Ph.D. Thesis, University of Georgia, Athens, GA, USA, 2018.
9. Reinhardt, N.P.; Köster, J.; Thomas, A.; Arnold, J.; Fux, R.; Straubinger, R.K. Bacterial and Viral Pathogens with One Health Relevance in Invasive Raccoons (*Procyon lotor*, Linne 1758) in Southwest Germany. *Pathogens* **2023**, *12*, 389. [[CrossRef](#)]
10. Peter, N.; Dörge, D.D.; Cunze, S.; Schantz, A.V.; Skaljic, A.; Rueckert, S.; Klimpel, S. Raccoons contraband—The metazoan parasite fauna of free-ranging raccoons in central Europe. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.* **2023**, *20*, 79–88. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Waindok, P.; Raue, K.; Grilo, M.L.; Siebert, U.; Strube, C. Predators in northern Germany are reservoirs for parasites of One Health concern. *Parasitol. Res.* **2021**, *120*, 4229–4239. [[CrossRef](#)]
12. Fischer, M.L.; Sullivan, M.J.P.; Greiser, G.; Guerrero-Casado, J.; Heddergott, M.; Hohmann, U.; Keuling, O.; Lang, J.; Martin, I.; Michler, F.-U.; et al. Assessing and predicting the spread of non-native raccoons in Germany using hunting bag data and dispersal weighted models. *Biol. Invasions* **2016**, *18*, 57–71. [[CrossRef](#)]
13. Fischer, M.L.; Hochkirch, A.; Heddergott, M.; Schulze, C.; Anheyer-Behmenburg, H.E.; Lang, J.; Michler, F.U.; Hohmann, U.; Ansoorge, H.; Hoffmann, L.; et al. Historical Invasion Records Can Be Misleading: Genetic Evidence for Multiple Introductions of Invasive Raccoons (*Procyon lotor*) in Germany. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0125441. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Beltrán-Beck, B.; García, F.J.; Gortázar, C. Raccoons in Europe: Disease hazards due to the establishment of an invasive species. *Eur. J. Wildl. Res.* **2012**, *58*, 5–15. [[CrossRef](#)]
15. Deutscher Jagdverband, e.V. Infografik_Jahresjagdstrecke_Waschbär_2020/2021. Available online: https://www.jagdverband.de/sites/default/files/2022-02/2022-01_Infografik_Jahresjagdstrecke_Waschbaer_2020_2021.jpg (accessed on 14 June 2023).
16. Heddergott, M.; Steinbach, P.; Schwarz, S.; Anheyer-Behmenburg, H.E.; Sutor, A.; Schliephake, A.; Jeschke, D.; Striese, M.; Müller, F.; Meyer-Kayser, E.; et al. Geographic Distribution of Raccoon Roundworm, *Baylisascaris procyonis*, Germany and Luxembourg. *Emerg. Infect. Dis.* **2020**, *26*, 821–823. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Fischer, M.L.; Salgado, I.; Beninde, J.; Klein, R.; Frantz, A.C.; Heddergott, M.; Cullingham, C.I.; Kyle, C.J.; Hochkirch, A.; Leung, B. Multiple founder effects are followed by range expansion and admixture during the invasion process of the raccoon (*Procyon lotor*) in Europe. *Divers. Distrib.* **2017**, *23*, 409–420. [[CrossRef](#)]
18. Biedrzycka, A.; Popiolek, M.; Zalewski, A. Host-parasite interactions in non-native invasive species are dependent on the levels of standing genetic variation at the immune locus. *BMC Evol. Biol.* **2020**, *20*, 43. [[CrossRef](#)]
19. Mackenstedt, U.; Jenkins, D.; Romig, T. The role of wildlife in the transmission of parasitic zoonoses in peri-urban and urban areas. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.* **2015**, *17*, 71–79. [[CrossRef](#)]
20. Michler, B.A. Koproskopische Untersuchungen zum Nahrungsspektrum des Waschbären *Procyon lotor* (Linné, 1758) im Müritznationalpark (Mecklenburg-Vorpommern) unter spezieller Berücksichtigung des Artenschutzes und des Endoparasitenbefalls. Ph.D. Thesis, Technische Universität Dresden, Dresden, Germany, 2017.
21. Mazzamuto, M.V.; Panzeri, M.; Bisi, F.; Wauters, L.A.; Preatoni, D.; Martinoli, A. When management meets science: Adaptive analysis for the optimization of the eradication of the Northern raccoon (*Procyon lotor*). *Biol. Invasions* **2020**, *22*, 3119–3130. [[CrossRef](#)]
22. French, S.K.; Pearl, D.L.; Peregrine, A.S.; Jardine, C.M. *Baylisascaris procyonis* infection in raccoons: A review of demographic and environmental factors influencing parasite carriage. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.* **2019**, *16*, 100275. [[CrossRef](#)]
23. Fiderer, C.; Göttert, T.; Zeller, U. Spatial interrelations between raccoons (*Procyon lotor*), red foxes (*Vulpes vulpes*), and ground-nesting birds in a Special Protection Area of Germany. *Eur. J. Wildl. Res.* **2019**, *65*, 14. [[CrossRef](#)]
24. Salgado, I. Is the raccoon (*Procyon lotor*) out of control in Europe? *Biodivers Conserv.* **2018**, *27*, 2243–2256. [[CrossRef](#)]
25. Bauer, C. Baylisascariosis—Infections of animals and humans with ‘unusual’ roundworms. *Vet. Parasitol.* **2013**, *193*, 404–412. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Hirsch, B.T.; Prange, S.; Hauver, S.A.; Gehrt, S.D. Patterns of latrine use by raccoons (*Procyon lotor*) and implication for *Baylisascaris procyonis* transmission. *J. Wildl. Dis.* **2014**, *50*, 243–249. [[CrossRef](#)]
27. Graeff-Teixeira, C.; Morassutti, A.L.; Kazacos, K.R. Update on Baylisascariasis, a Highly Pathogenic Zoonotic Infection. *Clin. Microbiol. Rev.* **2016**, *29*, 375–399. [[CrossRef](#)]
28. Barbet, A.F.; Al-Khedery, B.; Stuenkel, S.; Granquist, E.G.; Felsheim, R.F.; Munderloh, U.G. An emerging tick-borne disease of humans is caused by a subset of strains with conserved genome structure. *Pathogens* **2013**, *2*, 544–555. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Weinstein, S.B.; van Wert, J.C.; Kinsella, M.; Tkach, V.V.; Lafferty, K.D. Infection at an ecotone: Cross-system foraging increases satellite parasites but decreases core parasites in raccoons. *Ecology* **2019**, *100*, e02808. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Duscher, T.; Hodžić, A.; Glawischnig, W.; Duscher, G.G. The Raccoon Dog (*Nyctereutes procyonoides*) and the Raccoon (*Procyon lotor*)—their Role and Impact of Maintaining and Transmitting Zoonotic Diseases in Austria, Central Europe. *Parasitol. Res.* **2017**, *116*, 1411–1416. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

31. Popiolek, M.; Szczesna-Staskiewicz, J.; Bartoszewicz, M.; Okarma, H.; Smalec, B.; Zalewski, A. Helminth Parasites of an Introduced Invasive Carnivore Species, the Raccoon (*Procyon lotor* L.), From the Warta Mouth National Park (Poland). *J. Parasitol.* **2011**, *97*, 357–360. [CrossRef]
32. Bundesinstitut für Bau-Stadt-und Raumforschung (BBSR). Raumabgrenzungen und Raumtypen des BBSR. Available online: https://www.bbsr.bund.de/BBSR/DE/forschung/raumbeobachtung/Raumabgrenzungen/deutschland/gemeinden/Raumtypen2010_vbg/Raumtypen2010_LageSied.html#doc2826692bodyText2 (accessed on 14 June 2023).
33. Bundesinstitut für Bau-Stadt-und Raumforschung (BBSR). Raumtypen 2010: Besiedelung und Lage. Available online: https://www.bbsr.bund.de/BBSR/DE/forschung/raumbeobachtung/Raumabgrenzungen/deutschland/gemeinden/Raumtypen2010_vbg/raumTypenBesiedlLage_2020.csv?__blob=publicationFile&v=2 (accessed on 14 June 2023).
34. Umhang, G.; Woronoff-Rhen, N.; Combes, B.; Boué, F. Segmental Sedimentation and Counting Technique (SSCT): An adaptable method for qualitative diagnosis of *Echinococcus multilocularis* in fox intestines. *Exp. Parasitol.* **2011**, *128*, 57–60. [CrossRef]
35. Malzacher, P. Eine neue Färbung für zoologische Totalpräparate: Astrablau-Boraxkarmin. *Mikrokosmos* **1972**, *61*, 181–182.
36. Schell, S.C. *How to Know the Trematodes*; William, C., Ed.; Brown Company Publishers: Dubuque, IA, USA, 1970.
37. Seo, S.B.; Rim, H.J.; Lee, C.W. Studies on the Parasitic Helminths of Korea: I. Trematodes of Rodents. *Korean J. Parasitol.* **1964**, *2*, 20–26. [CrossRef]
38. Elsemore, D.A.; Geng, J.; Cote, J.; Hanna, R.; Lucio-Forster, A.; Bowman, D.D. Enzyme-linked immunosorbent assays for coproantigen detection of *Ancylostoma caninum* and *Toxocara canis* in dogs and *Toxocara cati* in cats. *J. Vet. Diagn. Investig.* **2017**, *29*, 645–653. [CrossRef] [PubMed]
39. Nakao, M.; Lavikainen, A.; Yanagida, T.; Ito, A. Phylogenetic systematics of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taeniidae). *Int. J. Parasitol.* **2013**, *43*, 1017–1029. [CrossRef] [PubMed]
40. Manske, M. GENtle, a Free Multi-Purpose Molecular Biology Tool. Ph.D. Thesis, University of Cologne, Cologne, Germany, 2006.
41. Xie, Y.; Zhang, Z.; Niu, L.; Wang, Q.; Wang, C.; Lan, J.; Deng, J.; Fu, Y.; Nie, H.; Yan, N.; et al. The Mitochondrial Genome of *Baylisascaris procyonis*. *PLoS ONE* **2011**, *6*, e27066. [CrossRef] [PubMed]
42. Inegbenosun, C.U.; Isaac, C.; Anika, F.U.; Aihebholoria, O.P. Prevalence of intestinal parasites in animal hosts and potential implications to animal and human health in Edo, Nigeria. *J. Vet. Sci.* **2023**, *24*, e8. [CrossRef] [PubMed]
43. Priemer, J.; Lux, E. *Atriotaeenia incisa* (Cestoda), a parasite of the badger, *Meles meles*, and the raccoon, *Procyon lotor*, in Brandenburg, Germany. *Can. J. Zool.* **1994**, *72*, 1848–1853. [CrossRef]
44. Giacinti, J.A.; Pearl, D.L.; Ojkic, D.; Jardine, C.M. Comparison of Two Surveillance Components for Investigating the Epidemiology of Canine Distemper Virus in Raccoons (*Procyon lotor*). *J. Wildl. Dis.* **2021**, *57*, 104–115. [CrossRef]
45. Munscher, E.C. Physical and Health Assessment of a Population of Raccoon (*Procyon lotor*) in Northeastern Florida. Master Thesis, University of North Florida, Jacksonville, FL, USA, 2006.
46. Pozio, E. Factors affecting the flow among domestic, synanthropic and sylvatic cycles of *Trichinella*. *Vet. Parasitol.* **2000**, *93*, 241–262. [CrossRef]
47. Karamon, J.; Kochanowski, M.; Cencek, T.; Bartoszewicz, M.; Kusyk, P. Gastrointestinal helminths of raccoons (*Procyon lotor*) in western Poland (Lubuskie province)—with particular regard to *Baylisascaris procyonis*. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* **2014**, *58*, 547–552. [CrossRef]
48. Page, L.K.; Gehrt, S.D.; Titcombe, K.K.; Robinson, N.P. Measuring prevalence of raccoon roundworm (*Baylisascaris procyonis*): A comparison of common techniques. *Wildl. Soc. Bull.* **2005**, *33*, 1406–1412. [CrossRef]
49. Rentería-Solís, Z.; Birka, S.; Schmäsche, R.; Król, N.; Obiegala, A. First detection of *Baylisascaris procyonis* in wild raccoons (*Procyon lotor*) from Leipzig, Saxony, Eastern Germany. *Parasitol. Res.* **2018**, *117*, 3289–3292. [CrossRef]
50. Schwarz, S.; Sutor, A.; Mattis, R.; Conraths, F.J. The raccoon roundworm (*Baylisascaris procyonis*)—No zoonotic risk for Brandenburg? *Berl. Und Münchener Tierärztliche Wochenschr.* **2015**, *128*, 34–38.
51. Duscher, G.G.; Frantz, A.C.; Kuebber-Heiss, A.; Fuehrer, H.P.; Heddergott, M. A potential zoonotic threat: First detection of *Baylisascaris procyonis* in a wild raccoon from Austria. *Transbound. Emerg. Dis.* **2020**, *00*, 1–4. [CrossRef] [PubMed]
52. Al-Sabi, M.N.S.; Chriél, M.; Hansen, M.S.; Enemark, H.L. *Baylisascaris procyonis* in wild raccoons (*Procyon lotor*) in Denmark. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.* **2015**, *1–2*, 55–58. [CrossRef] [PubMed]
53. Osten-Sacken, N.; Heddergott, M.; Schleimer, A.; Anheyer-Behmenburg, H.E.; Runge, M.; Horsburgh, G.J.; Camp, L.; Nadler, S.A.; Frantz, A.C. Similar yet different: Co-analysis of the genetic diversity and structure of an invasive nematode parasite and its invasive mammalian host. *Int. J. Parasitol.* **2018**, *48*, 233–243. [CrossRef] [PubMed]
54. French, S.K.; Pearl, D.L.; Shirose, L.; Peregrine, A.S.; Jardine, C.M. Demographic and Environmental Factors Associated with *Baylisascaris procyonis* Infection of Raccoons (*Procyon lotor*) in Ontario, Canada. *J. Wildl. Dis.* **2020**, *56*, 328–337. [CrossRef] [PubMed]
55. Weinstein, S.B. *Baylisascaris procyonis* Demography and Egg Production in a California Raccoon Population. *J. Parasitol.* **2016**, *102*, 622–628. [CrossRef]
56. Jardine, C.M.; Pearl, D.L.; Puskas, K.; Campbell, D.G.; Shirose, L.; Peregrine, A.S. The impact of land use, season, age, and sex on the prevalence and intensity of *Baylisascaris procyonis* infections in raccoons (*Procyon lotor*) from Ontario, Canada. *J. Wildl. Dis.* **2014**, *50*, 784–791. [CrossRef]

57. Kazacos, K.R. *Baylisascaris procyonis* and Related Species. In *Parasitic Diseases of Wild Mammals*; Samuel, W.M., Pybus, M.J., Kocan, A.A., Eds.; Iowa State University Press: Ames, IA, USA, 2001; Volume 2, pp. 301–341.
58. Kazacos, K.R.; Jelicks, L.A.; Tanowitz, H.B. *Baylisascaris larva migrans*. *Handb. Clin. Neurol.* **2013**, *114*, 251–262. [[CrossRef](#)]
59. Sorvillo, F.; Ash, L.R.; Berlin, O.G.W.; Morse, S.A. *Baylisascaris procyonis*: An Emerging Helminthic Zoonosis. *Emerg. Infect. Dis.* **2002**, *8*, 355–359. [[CrossRef](#)]
60. Zimmerman, D.M.; Dangoudoubiyam, S.; Kazacos, K.R. Serological Diagnosis of *Baylisascaris procyonis* in Primates Using a Human Elisa Test. *J. Zoo. Wildl. Med.* **2019**, *50*, 414–420. [[CrossRef](#)]
61. Louis, M.M.; Minter, L.J.; Flowers, J.R.; Stoskopf, M.K.; Kennedy-Stoskopf, S. Raccoon roundworm prevalence (*Baylisascaris procyonis*) at the North Carolina Zoo, USA. *PeerJ* **2020**, *8*, e9426. [[CrossRef](#)]
62. Weinstein, S.B.; Lake, C.M.; Chastain, H.M.; Fisk, D.; Handali, S.; Kahn, P.L.; Montgomery, S.P.; Wilkins, P.P.; Kuris, A.M.; Lafferty, K.D. Seroprevalence of *Baylisascaris procyonis* Infection among Humans, Santa Barbara County, California, USA, 2014–2016. *Emerg. Infect. Dis.* **2017**, *23*, 1397–1399. [[CrossRef](#)]
63. Davidson, R.K.; Oines, O.; Hamnes, I.S.; Schulze, J.E. Illegal Wildlife Imports More than Just Animals—*Baylisascaris procyonis* in Raccoons (*Procyon lotor*) in Norway. *J. Wildl. Dis.* **2013**, *49*, 986–990. [[CrossRef](#)]
64. Chen, J.; Liu, Q.; Liu, G.H.; Zheng, W.B.; Hong, S.J.; Sugiyama, H.; Zhu, X.Q.; Elsheikha, H.M. Toxocariasis: A silent threat with a progressive public health impact. *Infect. Dis. Poverty* **2018**, *7*, 59. [[CrossRef](#)]
65. Barutzki, D.; Schaper, R. Results of Parasitological Examinations of Faecal Samples from Cats and Dogs in Germany between 2003 and 2010. *Parasitol. Res.* **2011**, *109*, 45–60. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Strube, C.; Raulf, M.K.; Springer, A.; Waindok, P.; Auer, H. Seroprevalence of human toxocarosis in Europe: A review and meta-analysis. *Adv. Parasitol.* **2020**, *109*, 375–418. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Cybulska, A.; Kornacka, A.; Popiołek, M.; Bień-Kalinowska, J.; Moskwa, B. Use of meat juice from raccoons (*Procyon lotor*) collected from Central Europe for immunological detection of *Trichinella* spp. *Vet. Parasitol.* **2020**, *297*, 109066. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
68. Stope, M. Wild raccoons in Germany as a reservoir for zoonotic Agents. *Eur. J. Wildl. Res.* **2019**, *65*, 94. [[CrossRef](#)]
69. Mayer-Scholl, A.; Reckinger, S.; Schulze, C.; Nöckler, K. Study on the occurrence of *Trichinella* spp. in raccoon dogs in Brandenburg, Germany. *Vet. Parasitol.* **2016**, *231*, 102–105. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
70. Gomez-Puerta, L.A.; Ticona, D.S.; Lopez-Urbina, M.T.; Gonzalez, A.E. A new species of *Atriotaeonia* (Cestoda: Anoplocephalidae) from the hog-nosed skunk *Conepatus chinga* (Carnivora: Mephitidae) in Peru. *J. Parasitol.* **2012**, *98*, 806–809. [[CrossRef](#)]
71. Kelley, S.W.; Horner, N.V. The Prevalence of Cestodes in Raccoons (*Procyon lotor*) from North-Central Texas. *Comp. Parasitol.* **2008**, *75*, 292–298. [[CrossRef](#)]
72. Gallati, W.W. Life History, Morphology and Taxonomy of *Atriotaeonia* (*Ershovia*) *procyonis* (Cestoda: Linstowiidae), a Parasite of the Raccoon. *J. Parasitol.* **1959**, *45*, 363–377. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
73. Torres, J.; Miquel, J.; Motjé, M. Helminth parasites of the eurasian badger (*Meles meles* L.) in Spain: A biogeographic approach. *Parasitol. Res.* **2001**, *87*, 259–263. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Monello, R.; Gommer, M. Effects of resource availability and social aggregation on the species richness of raccoon endoparasite infracommunities. *Oikos* **2011**, *120*, 1427–1433. [[CrossRef](#)]
75. Brunet, J.; Benoild, A.; Kremer, S.; Dalvit, C.; Lefebvre, N.; Hansmann, Y.; Chenard, M.P.; Mathieu, B.; Grimm, F.; Deplazes, P.; et al. First case of human cerebral *Taenia martis* cysticercosis. *J. Clin. Microbiol.* **2015**, *53*, 2756–2759. [[CrossRef](#)]
76. Brunet, J.; Pesson, B.; Chermette, R.; Regnard, P.; Grimm, F.; Deplazes, P.; Ferreira, X.; Sabou, M.; Pfaff, A.W.; Abou-Bacar, A.; et al. First case of peritoneal cysticercosis in a non-human primate host (*Macaca tonkeana*) due to *Taenia martis*. *Parasites Vectors* **2014**, *7*, 422. [[CrossRef](#)]
77. Frank, B.; Zeyhle, E. Larval cestodes in muskrats (*Ondatra zibethicus*). *Nachr. Dtsch. Pflanzenschutzd.* **1981**, *33*, 166–170.
78. Matoba, Y.; Yamada, D.; Asano, M.; Oku, Y.; Kitaura, K.; Yagi, K.; Tenora, F.; Asakawa, M. Parasitic helminths from feral raccoons (*Procyon lotor*) in Japan. *Helminthologia* **2006**, *43*, 139–146. [[CrossRef](#)]
79. Deplazes, P.; Eichenberger, R.M.; Grimm, F. Wildlife-transmitted *Taenia* and *Versteria* cysticercosis and coenurosis in humans and other primates. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.* **2019**, *9*, 342–358. [[CrossRef](#)]
80. Varcasia, A.; Sanna, D.; Casu, M.; Lahmar, S.; Dessì, G.; Pipia, A.P.; Tamponi, C.; Gaglio, G.; Hrckova, G.; Otranto, D.; et al. Species delimitation based on mtDNA genes suggests the occurrence of new species of *Mesocestoides* in the Mediterranean region. *Parasit. Vectors* **2018**, *11*, 619. [[CrossRef](#)]
81. Schmidberger, J.; Kratzer, W.; Stark, K.; Gruner, B.; Echinococcosis Working, G. Alveolar echinococcosis in Germany, 1992–2016. An update based on the newly established national AE database. *Infection* **2018**, *46*, 197–206. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
82. Ching, H.L.; Leighton, B.J.; Stephen, C. Intestinal parasites of raccoons (*Procyon lotor*) from southwest British Columbia. *Can. J. Vet. Res.* **2000**, *64*, 107–111. [[PubMed](#)]
83. Kostadinova, A.; Gibson, D.I. *Isthmiophora* Lühe, 1909 and *Euparyphium* Dietz, 1909 (Digenea: Echinostomatidae) re-defined, with comments on their nominal species. *Syst. Parasitol.* **2002**, *52*, 205–217. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
84. Hildebrand, J.; Adamczyk, M.; Laskowski, Z.; Zalesny, G. Host-dependent morphology of *Isthmiophora melis* (Schrank, 1788) Luhe, 1909 (Digenea, Echinostomatinae)—Morphological variation vs. molecular stability. *Parasit. Vectors* **2015**, *8*, 481. [[CrossRef](#)]

85. Choe, S.; Na, K.J.; Kim, Y.; Jeong, D.H.; Yang, J.J.; Eom, K.S. Infections of Two *Isthmiophora* Species (Digenea: Echinostomatidae) in Wild Mammals from Republic of Korea with Their Morphological Descriptions. *Korean J. Parasitol.* **2019**, *57*, 647–656. [[CrossRef](#)]
86. Romeo, C.; Cafiso, A.; Fesce, E.; Martinez-Rondan, F.J.; Panzeri, M.; Martinoli, A.; Cappai, N.; Defilippis, G.; Ferrari, N. Lost and found: Helminths infecting invasive raccoons introduced to Italy. *Parasitol. Int.* **2021**, *83*, 102354. [[CrossRef](#)]
87. Hong, S.J.; Woo, H.-C.; Chai, J.-Y. A Human Case of *Plagiorchis muris* (Tanabe, 1922: Digenea) Infection in the Republic of Korea: Freshwater Fish as a Possible Source of Infection. *J. Parasitol.* **1996**, *82*, 647–649. [[CrossRef](#)]
88. Jenkins, E.J.; Schurer, J.M.; Gesy, K.M. Old problems on a new playing field: Helminth zoonoses transmitted among dogs, wildlife, and people in a changing northern climate. *Vet. Parasitol.* **2011**, *182*, 54–69. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

IV Diskussion

Die durchgeführten Untersuchungen ergaben das Vorkommen verschiedener viraler, bakterieller und parasitärer Krankheitserreger bei Waschbären aus BW. Die Befunde und die schnell wachsende Waschbärenpopulation in städtischen und ländlichen Gebieten legen nahe, dass diese Tierart auch in Ausbreitungsrandgebieten wie BW ein Risiko für die öffentliche Gesundheit, Wild- sowie Haus- und Zootiere darstellen kann. Die hier vorgestellten Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit von Überwachungssystemen für Wildtierkrankheiten. Diese sollten gemäß des One-Health-Konzepts die verursachenden Faktoren berücksichtigen und negative Einflüsse auf Ökosysteme, Wild-, Haus-, Zootiere und Menschen miteinbeziehen.

1 Epidemiologische Bedeutung der Waschbären

1.1 Waschbären als epidemiologisches Bindeglied zwischen Wild-, Zoo-, Haustieren und Menschen

Wie ausgeführt, stellt die Einbringung neuer Krankheitserreger in nicht-immune Populationen eine zusätzliche und ernsthafte Bedrohung für gefährdete Wildtiere dar [4,5]. Dabei sind Überschneidungen von ökologischen Nischen verschiedener Arten bei der zwischenartlichen Erregerausbreitung maßgeblich [4,5,8,9,11,57]. Für Wildtiere erhöht sich durch die Präsenz von Waschbären in BW das Übertragungsrisiko der nachgewiesenen Erreger, welche mitunter populationsdynamische Relevanz haben können (CPPV-1, CDV, *B. procyonis*; siehe **P1** und **P2**).

IAS wie Waschbären und Marderhunde (*Nyctereutes procyonoides*) sowie andere synanthrope Raubtiere wie Rotfüchse, Steinmarder (*Martes foina*) oder der Europäische Dachs (*Meles meles*) haben sich erfolgreich an die städtische Umwelt angepasst [19,58]. Die Ergebnisse aus den beiden Publikationen verdeutlichen, dass mit den Waschbären in BW nun ein weiteres Risiko für Spillover- und Spillback- Infektionen mit den nachgewiesenen Erregern besteht. Sie können als Erregerreservoir als epidemiologisches Bindeglied zwischen Wild-, Zoo- und Haustiere auftreten. Zootiere sind gefährdet durch hohe Populationsdichten von Waschbären in der Nähe zoologischer

Gärten und das breite Wirtsspektrum einiger der gefundenen Erreger (CDV, CPPV, pL, *Ap*, *B. procyonis*, *Taenia martis*; siehe **P1** und **P2**). So wurde beschrieben, dass Waschbären empfängliche Zootiere mit CDV und CPPV-1 anstecken können [60,80,174]. *Taenia martis* ist bekannt dafür, bei in Menschenobhut gehaltenen Cercopithecidae und Lemuridae schwere bis tödliche Infektionen hervorzurufen (siehe **P2**) [175]. Von Waschbären übertragene *B. procyonis* haben ebenfalls zu einer Vielzahl von Todesfällen bei verschiedenen Zootierarten geführt (siehe **P2**). Deutschland verfügt über eine hohe Dichte an zoologischen Gärten und Wildparks, wie schon das Untersuchungsgebiet und daran angrenzende Gemeinden zeigen. In unmittelbarer Nähe eines Beprobungsgebiets, aus dem 23 Waschbären stammten, befindet sich der Zoo Heidelberg (siehe **P1** und **P2**). Einige jener Waschbären wurden positiv auf CDV, CPPV-1 und *B. procyonis* getestet, weshalb das Ansteckungsrisiko für die im Zoo Heidelberg gehaltenen empfänglichen Tierarten hoch scheint.

In urbanen bzw. besiedelten ruralen Gebieten wie dem Beprobungsgebiet der vorliegenden Arbeit, das mit einem Anteil urbaner Gemeinden von 55.5% (15/27) dicht besiedelt ist (siehe **P1** und **P2**), kann es auf unterschiedlichsten Interaktionsebenen, etwa durch Nahrungskonkurrenz (z. B. geteilte Futterstellen), zu Kontakt zwischen synanthropen Waschbären und domestizierten Tieren kommen. Angenommen, die Anzahl von Haustieren steigt mit zunehmender Bevölkerungsdichte an, so nimmt die Wahrscheinlichkeit von Interaktionen mit Waschbären und damit von speziesübergreifenden Erregerübertragungen zu, wobei alle vier Erreger aus **P1** und die meisten nachgewiesenen Helminthen aus **P2** (*B. procyonis*, *Toxocara canis*, *Capillaria* spp. *Trichuris* spp., *Taenia martis*, *Mesocestoides* spp., *Isthmiophora hortensis/melis*, *Plagiorchis muris*) Haustiere infizieren können (siehe **P1** und **P2**). In ruralen Gebieten hingegen kann die Nutzung von Unterschlupfmöglichkeiten und Nahrungsquellen auf beispielsweise Bauernhöfen durch Waschbären ebenfalls zu engem Kontakt mit Menschen und domestizierten Tieren führen. Folglich besteht auch in diesen Gebieten die Möglichkeit von speziesübergreifenden Ansteckungen durch Waschbären (siehe **P1** und **P2**). Bekanntermaßen übertragen Waschbären pL auf Menschen, Haus- und Nutztiere

[176,177]. Haushunde können sowohl Zwischenwirte als auch alternative Endwirte von *B. procyonis* sein (siehe **P2**). In Gebieten mit hoher *B. procyonis*-Prävalenz können Hunde daher an der Umweltkontamination mit diesem Erreger beteiligt sein und somit ein potenzielles Risiko für die öffentliche Gesundheit darstellen (siehe **P2**). Umgekehrt wurde in der **P2** *Toxocara canis* bei einem Waschbären nachgewiesen, weshalb eine Beteiligung von Waschbären an der Ausbreitung dieses Nematoden nicht auszuschließen ist.

Häufig sind Infektionen mit zoonotischen Erregern bei Menschen durch Wildtiere eine Folge von anthropogenen Einflüssen, die bereits im **Kapitel II.4** erläutert wurden. Insbesondere in städtischen und vorstädtischen Gebieten hat sich die Kontakthäufigkeit zwischen Wildtieren und Menschen von sporadischen Begegnungen zu einem dauerhaften gemeinsamen Lebensraum verändert [5,19,58,80]. Synanthrope Wildtierwirte, die immer häufiger in städtischen Gebieten vorkommen, können zoonotische Erreger in sich tragen [19,21,36,142,143]. Mit dem Nachweis von potenziell zoonotischen Erregern bei den untersuchten Waschbären (*pL*, *Ap*, zoonotische Helminthen) steigt folglich auch das Infektionsrisiko für den Menschen in BW (siehe **P1** und **P2**). Dabei kann die Präsenz von Haustieren einen erheblichen Einfluss auf den Erregerdruck beim Menschen haben [19].

Waschbären können also in den komplexen Infektionszyklen der nachgewiesenen Erreger als epidemiologisches Bindeglied zwischen der sylvathischen und synanthropen Umwelt, also zwischen Wildtieren und Menschen, Haus- sowie Zootieren, fungieren. Deshalb ist anzunehmen, dass mit dem weiteren Anstieg der Populationsdichten von Waschbären und der damit erhöhten Interaktionswahrscheinlichkeit indirekt oder direkt eine wachsende Ansteckungsgefahr für Tiere mit *Ap*, *pL*, CDV, CPPV-1 und den Helminthen einhergeht. Gleichzeitig könnte auch das Infektionsrisiko für Menschen mit den zoonotischen Helminthen sowie mit *Ap* und *pL* zunehmen (siehe **P1** und **P2**).

1.2 Waschbären und die Erregerausbreitung

Die Epidemiologie der Infektionserreger wird mitunter durch die interagierenden Arten, deren ökologische Merkmale und die Wirt-Erreger-Kontaktraten bestimmt. Dies führt zu Variationen in der geografischen Verteilung, Prävalenz und dem Spektrum der betroffenen Wirte [4,19,59,71,178,179]. Hinzu kommt, dass laut Weinstein *et al.* [157] neuartige Wirtsinteraktionen sowie die Diversität von Wirtstieren etwa die Parasitenvielfalt in einem Ökosystem fördern können. In diesem Zusammenhang könnten Waschbären als epidemiologisches Bindeglied und durch ihre expansive Tendenz entscheidend bei der geografischen Ausbreitung von Erregern sein (siehe **P1** und **P2**). Diese Möglichkeit wird im Folgenden anhand verschiedener Einflussfaktoren sowie in Bezug auf die untersuchten bzw. nachgewiesenen Erreger diskutiert.

Zunächst sind hinsichtlich der habituellen Nähe zu Haus- und Zootieren sowie Menschen die Latrinen der Waschbären als Teil der Umweltkontamination mit Erregern zu erwähnen. Sie können die Erregerübertragung und -ausbreitung (CPPV-1, WNV, *B. procyonis*, *Toxocara canis*, *Mesocestoides* spp.) direkt oder indirekt befördern, da viele wildlebende Säugetiere und Vögel regelmäßig die unverdauten Sämereien im Kot als Nahrungsquelle nutzen (siehe **P1** und **P2**).

Waschbären können je nach Erreger vielfältige epidemiologische Funktionen besetzen, wobei diese für BW noch nicht ausreichend erforscht sind. Für einige der nachgewiesenen Helminthenarten (*Toxocara canis*, *Taenia martis*, Trematoden) ist noch nicht klar, ob Waschbären End- oder Zufallswirte darstellen (siehe **P2**). Des Weiteren können die Tiere als Erhaltungswirte (CDV, CPPV-1, pL, Ap), Transportwirte (Ap) oder als Teil eines „Metareservoirs“ (CDV) agieren (siehe **P1**). In Infektionszyklen können Waschbären als zusätzliche Wirte bzw. Verstärker (CDV, CPPV-1, pL, Ap) daran partizipieren, dass Krankheitserreger über einen längeren Zeitraum in der Umwelt persistieren (siehe **P1**). Diskutiert wird ebenfalls die Rolle der Waschbären als „Mischgefäß“ (IAV) oder Teil der Erregerevolution (CPPV-1), durch die sie zur Entstehung neuer virulenterer Varianten von Krankheitserregern beitragen können (siehe **P1**).

IAS wie Waschbären können neue Erreger in etablierte Ökosysteme einbringen und zu ihrer Umweltpersistenz führen. Mit der Einführung von Waschbären in Europa verbreitete sich zum Beispiel *B. procyonis* [39]. Gemäß konservativen Schätzungen könnte ein einziger Waschbär pro Jahr eine Fläche von etwa 0,03 Hektar mit *B. procyonis*-Eiern kontaminieren [34]. Wie in **P2** bereits erläutert, kann dieser Nematode aufgrund seiner *Larva migrans* diverse negative Konsequenzen für die Tierwelt und den Naturschutz haben, wie etwa den Rückgang der Populationen von wildlebenden Zwischen- oder Zufallswirten [14,40,163,165,166,180,181]. Beispiele hierfür sind die Weißfußmaus (*Peromyscus leucopus*) in Illinois, bei der 5% der Todesfälle auf den Spulwurm des Waschbären zurückzuführen waren, und der Bestandsrückgang der Allegheny-Buschratte (*Neotoma magister*) in Virginia [163,181].

P1 und **P2** beschreiben Waschbären in BW als neue Träger endemischer Erreger (CDV, CPPV-1, pL, Ap, Helminthen mit Ausnahme von *B. procyonis*), weshalb sie deren Epidemiologie beeinflussen könnten. Wichtig hierbei ist ihre Position als epidemiologisches Bindeglied zwischen sylvathischen und synanthropen Lebensräumen. Ähnlich wie andere synanthrope Säugetiere, könnte der Waschbär so die Ausbreitung von pL und Ap unterstützen [8,28,71,72,143,182]. Als Reservoir und Transportwirt bringt er möglicherweise mit Ap und anderen zeckenübertragbaren Krankheiten infizierte Zecken in die synanthrope Umgebung ein [71,154]. Wie erwähnt, kann er das Expositionsrisiko mit CDV und CPPV-1 nicht nur für Haus- und Zootiere, sondern auch für Wildtiere potenzieren. Dies hatte etwa in Kalifornien (USA) für den Bestand gefährdeter Arten wie den Kalifornischen Insel-Graufuchs (*Urocyon littoralis catalinae*) verheerende Auswirkungen [183]. Auch in Deutschland teilen Waschbären ihren Lebensraum mit geschützten bzw. gefährdeten und für CPPV-1 und CDV anfälligen Arten, weswegen der mögliche negative Einfluss auf diese Populationen diskutiert werden sollte (siehe **P1**) [76,90,100]. Darunter fallen beispielsweise der Wolf (*Canis lupus*), Eurasischer Luchs (*Lynx lynx*), Europäische Nerz (*Mustela lutreola*), Fischotter (*Lutra lutra*), Seehund (*Phoca vitulina*), die Europäische Wildkatze (*Felis silvestris*) und Kegelrobbe (*Halichoerus grypus*).

Die niedrigen Prävalenzraten einzelner Helminthen und der anderen Infektionserreger in **P1** und **P2** im Vergleich zu den Hauptverbreitungsgebieten des Waschbären in Deutschland sowie seiner autochthonen Heimat deuten auf das frühe Ausbreitungsstadium der Waschbären in BW hin. Gleichwohl es mit deren fortschreitender räumlichen Expansion wahrscheinlich ist, dass sie auch in den neuen Gebieten epidemiologisch relevant werden könnten [[16,22,38,44,162](#)].

1.3 Weitere Einflussfaktoren der Erregerausbreitung

Zusätzlich zu den bereits genannten wirtsabhängigen Aspekten beeinflussen vor allem erregerspezifische und anthropogene Faktoren die Ausbreitung von Erregern und deren Übertragungsdynamik zwischen Wild-, Zoo- und Haustieren sowie Menschen [[4,5](#)].

1.3.1 Erregerspezifische Faktoren

Erregerspezifische Faktoren sind ausschlaggebend bei der zwischenartlichen Erregerübertragung und -ausbreitung. Dazu gehören ein breites Wirtsspektrum (CDV, CPPV-1, pL, *Ap*, *B. procyonis*, *Toxocara canis*, *Capillaria* spp., *Trichuris* spp., *Taenia martis*, *Mesocestoides* spp., *Isthmiophora hortensis/melis*, *Plagiorchis muris*), eine ausgeprägte Infektiosität zwischen verschiedenen Tierarten (CDV, CPPV-1) und eine massive Erregerausscheidung, verbunden mit einer hohen Tenazität (pL, CPPV-1, *B. procyonis*, *Toxocara canis*; siehe **P1** und **P2**). Das CPPV-1 wird über Kontakt mit Körperflüssigkeiten oder Fäkalien eines infizierten Tieres übertragen [[85,92](#)]. Aufgrund der geringen minimalen Infektionsdosis könnten auch Haustiere und abiotische Vektoren (z. B. Kleidung) zur Ausbreitung dieses Erregers und folglich zur Erhöhung des Infektionsrisikos beitragen [[86,92](#)]. Hohe Mutationsraten und eine schnelle Anpassungsfähigkeit (CPPV, CDV, *Ap*) führen zu neuen Erregervarianten, die die Epidemiologie verändern können [[84,85,90,150,179,184](#)]. In subklinisch infizierten Waschbären, die gleichzeitig mit mehreren CDV-Stämmen koinfiziert sind, kann es zu genetischen Rekombinationen kommen, die womöglich einen Wechsel der Wirtsklasse begünstigen [[4,98,185](#)].

Die immunsuppressiven Fähigkeiten von CDV und *Ap* fördern Koinfektionen und somit die Erregerausbreitung (siehe **P1**).

1.3.2 Anthropogene Faktoren

Im Rahmen des One-Health-Konzepts werden die Auswirkungen anthropogener Veränderungen wie die Klimakrise und Urbanisierung auf die Erregerausbreitung diskutiert. Wie in **Kapitel II.4** geschildert, können sie zunehmend das Auftreten und die Verbreitung von Wirtspopulationen und Erregern, also auch die Epidemiologie der untersuchten Erreger bestimmen (siehe **P1** und **P2**).

Die Klimakrise führt zu einem Anstieg der globalen Durchschnittstemperaturen, welcher der geografischen und saisonalen Verbreitung von Vektoren (z. B. Zecken und Stechmücken) und Zwischenwirten (z. B. Nagetiere) in Europa einem Wandel unterzieht [4,66]. In Zentraleuropa verschiebt sich beispielsweise das Zeckenvorkommen in höhere geographische Lagen und resultiert in eine verlängerte saisonale Zeckenaktivität [59]. Dies kann im Falle von *Ixodes ricinus* die Ausbreitung von zeckenübertragenen Erregern wie *Ap* nach sich ziehen. Die Klimaveränderungen haben außerdem bessere Reproduktionsbedingungen für bestimmte Mückenarten und kürzere virale Replikationszyklen, beispielsweise für WNV, zur Folge. Dadurch erscheinen vermehrt mitunter (sub-)tropische virale mückenübertragbare Viren in Deutschland [4,66,112,186]. Teile des Beprobungsgebiets (Heidelberg, Mannheim, Rhein-Neckar-Kreis; siehe **P1** und **P2**) wie die Oberrheinische Tiefebene weisen mit ihren klimatischen Bedingungen und dem Auftreten von WNV-übertragenden Mückenarten (*Aedes* spp., *Culex* spp. und *Anopheles* spp.) bereits heutzutage die Voraussetzungen für ein endemisches Vorkommen dieses Virus auf [187,188]. Der Anstieg von Leptospirose-Fällen beim Menschen wird ebenfalls in Verbindung mit der Klimakrise gebracht. Letztere kann das Überleben von pL in der Umwelt beeinflussen, was diese Ökosysteme als passive Reservoirs epidemiologisch relevant macht [142,182,189]. Die Klimakrise hat auch Auswirkungen auf die Epidemiologie von Helminthen [190]. Durch sie kann die präparasitische Überlebensrate steigen und die Ei- und Larvenentwicklung

von Nematoden wie *B. procyonis* oder *Toxocara canis* beschleunigt, aber bei zu trockenem Klima auch negativ beeinflusst werden [19,58,191,192]. Ein durch wärmere Durchschnittstemperaturen bedingtes größeres Nahrungsangebot (z. B. in Mastjahren) führt unter Umständen zu sich verdichtenden Nagetierpopulationen [65,144]. Als Zwischen- oder Erhaltungswirte könnten diese zu einem höheren Erregerdruck von pL [144,182,193] und Helminthen mit indirektem Lebenszyklus (*B. procyonis*, *Toxocara canis*, *Taenia martis*, *Mesocestoides* spp.) für Waschbären beitragen (siehe P2).

Die Urbanisierung und Fragmentierung der Landschaften ergeben eine Konvergenz der Lebensräume von Menschen, Haus- und Wildtieren. Wie beschrieben, befördert dies die Entwicklung synanthroper Wildtierspezies wie Waschbären, die an der Erregerausbreitung partizipieren können (siehe P1 und P2) [19,143,194,195]. Dass die Urbanisierung die Epidemiologie von Erregern bestimmt, verdeutlicht die Studie von Krücken *et al.* [195], welche bei Nagetieren in städtischen Gebieten eine höhere Prävalenz von *Toxocara* spp. festgestellt hat als in Tieren aus stadtnahen Regionen. Neben den offensichtlichen positiven Auswirkungen tragen Grünflächen in städtischen Gebieten ebenfalls zur Ausbreitung und Häufigkeit von Vektoren (Stechmücken, Zecken) bei und erhöhen somit das Infektionsrisiko (WNV, *Ap*) von Menschen und Tieren durch diese Vektoren [8,19,196].

2 Waschbärenmanagement

2.1 Allgemeine Maßnahmen

Wie erläutert, ist es Gegenstand aktueller Forschung, in welchem Ausmaß Waschbären ein Gesundheitsrisiko für Menschen, Tiere und Ökosysteme darstellen können. Wegen ihres hohen Populationswachstums, der Ausdehnung ihres Verbreitungsgebiets und neuer Einführungen gelten sie in Europa als kaum mehr steuerbar [24]. Aus diesem Grund ist festzustellen, dass Waschbären Teil der europäischen und deutschen Fauna bleiben werden, woraus ein dringender Bedarf an nachhaltigen und gezielten Managementstrategien für diese Tierart erwächst [16,24,37]. IAS stellen im Management allerdings eine besondere Herausforderung dar, weil neben artspezifischen und

ökologischen Mechanismen auch anthropogene Aktivitäten die Invasionserfolge einer Art bestimmen [28,45].

Grundsätzliche praxisbewährte Managementempfehlungen für Waschbären geben Michler *et al.* [26]. Ein gesetzlich vorgegebener Maßnahmenkatalog ist im Management- und Maßnahmenblatt der VO (EU) Nr. 1143/2014 zu finden. Laut diesem ist es grundsätzlich verboten, die gelisteten IAS weiter einzuführen, zu halten, zu züchten, zu transportieren, zu erwerben, zu verwenden, zu tauschen und freizusetzen. In BW fallen Waschbären unter das Nutzungsmanagement (§ 7 Absatz 8 JWMG). Es ist nicht erlaubt, sie zu hegen, und es besteht die Verpflichtung, Maßnahmen gegen ihre Ausbreitung zu ergreifen, wie es §5 Absatz 3 Satz 3 des JWMG bestimmt. Zudem konzentriert sich das bisher verfolgte Management zu sehr auf die Bejagung, welche die Expansion dieser Tierart jedoch nicht eindämmen konnte und bei etablierten IAS wie Waschbären erst angewendet werden sollte, wenn sie zweifelsfrei erhebliche Schäden verursachen [26,32]. Die Jagd und die damit einhergehende erhöhte Sterblichkeitsrate kann ganz entgegengesetzt zum eigentlichen Ziel sogar zu einem Anstieg der Reproduktions- und Austauschraten in der Population führen [27]. Deswegen sind regionalspezifische, evidenzbasierte Managementmaßnahmen, welche regelmäßig auf ihre Effektivität überprüft und nötigenfalls angepasst werden, erforderlich [26].

Für Waschbären empfiehlt sich ein sogenanntes „post-establishment“-Management, welches das langfristige Ziel verfolgen sollte, die Populationsgröße auf ein Minimum zu reduzieren, das Verbreitungsgebiet einzugrenzen und gefährdete Arten, Lebensräume und Ressourcen zu schützen. Dieses ist aber im Vergleich zur Prävention von Einführungsereignissen und der Etablierung von IAS viel kostspieliger, was seine Umsetzung erschwert [24,45,49].

2.2 Erregermanagement

Im Folgenden wird das Erregermanagement bei Waschbären anschließend an die in den beiden Publikationen bereits angedeuteten Maßnahmen ausgeführt, das dazu dient, ihre potenziell negativen Auswirkungen als IAS und als Katalysatoren bei der

Ausbreitung von Krankheitserregern zu minimieren (siehe **P1** und **P2**). Eine Bejagung der Tiere erscheint, da sie wie erwähnt die Reproduktions- und Austauschraten in der Population steigern und damit insbesondere aufgrund einer größeren Anzahl an nicht-immunen anfälligen Jungtieren zu einer kontraproduktiven Zunahme von Krankheitsübertragungen führen kann, auch in diesem Zusammenhang nicht immer passend [27].

Ein effektives Erregermanagement müsste sich an den vier Eckpfeilern Vorhersage, Prävention, Diagnose und Intervention im Sinne des One-Health-Konzepts orientieren (siehe **P1** und **P2**). Vorhersagen über mögliche Infektionsrisiken zu treffen, ist aufgrund der dargestellten ineinandergreifenden dynamischen wirts- und erregerspezifischen sowie anthropogenen Faktoren sehr schwierig [134,136,142]. Essentiell ist deshalb ein gezieltes und kontinuierliches Überwachungssystem in Bezug auf Wildtiererreger, um das Verständnis ihrer Ökologie und Epidemiologie zu verbessern [10,12,19,58,71,166,191]. Wesentlich ist dabei die Früherkennung epidemiologischer Veränderungen und die nachfolgende Entwicklung oder Anpassung evidenzbasierender Managementstrategien.

Bei der Prävention handelt es sich vermutlich um die wichtigste Managementstrategie. Darunter fallen die öffentliche Gesundheitsaufklärung, Hygienekonzepte, das allgemeine Waschbärenmanagement, Impf- und Köderprogramme für Waschbären, Impfungen und Parasitenbekämpfung bei domestizierten Tieren und die Vektorenkontrolle (siehe **P1** und **P2**). Konkret ist es ratsam, den Kontakt zwischen Haus- sowie Zootieren und synanthropen Spezies wie Waschbären zu minimieren. Dies kann durch eine konsequente Reduzierung anthropogener Nahrungsquellen und Unterschlupfmöglichkeiten, die zu hohen Populationsdichten von Waschbären in Wohngebieten beitragen, erreicht werden [165,197]. Zusätzlich sollte die Bevölkerung in Gebieten mit hoher Waschbärendichte informiert werden, wie Latrinen identifiziert werden können [163,198]. Latrinen als epidemiologische Einheit, sollten regelmäßig entfernt und die Umgebung mit hitzebasierten Methoden (> 62°C Temperatur) dekonta-

miniert werden [163,166,180]. Dabei ist auf ausreichende Handhygiene und das Tragen von Handschuhen sowie Gesichtsmasken zu achten. Es ist überdies notwendig, ein Bewusstsein für Waschbär-assoziierte Erreger und die damit verbundenen Risiken sowohl in der Öffentlichkeit als auch bei Fachleuten im Gesundheitswesen zu schaffen. Dies gewährleistet die Entwicklung optimaler Präventionsansätze, eine schnelle und gezielte Diagnosestellung, adäquate Behandlungsmöglichkeiten, und somit die bestmögliche Gesundheitsvorsorge und -versorgung.

Bekämpfungsstrategien wie Köderprogramme sollten auf der Grundlage von Überwachungsanalysen (Latrinen, Waschbären) durchgeführt werden, um Umweltkontaminationen und Infektionsrisiken insbesondere in städtischen Räumen kleinzuhalten [26,33,166,199,200]. Eine regelmäßige parasitologische Diagnostik mit eventuell anschließender anthelminthischer Behandlung von Haustieren sollte vollzogen werden, um den Infektionsdruck zu reduzieren. Die gängigen Anthelminthika wirken normalerweise, jedoch sollte eine langfristige Überwachung von Resistenzbildungen erfolgen [58,163,200]. Des Weiteren sollten die von der „Ständigen Impfkommission Veterinär“ (StIKo Vet) empfohlenen Impfungen bei domestizierten Tieren regelmäßig stattfinden, um fatale Erkrankungen durch CDV, CPPV und pL zu verhindern [201].

In Regionen mit hoher Waschbärendichte sind jene Präventionsmaßnahmen, die als Teil des Tiergesundheitsmanagements gesehen werden sollten, ebenfalls für zoologische Gärten und Wildparks dringend zu empfehlen (siehe **P1** und **P2**). Mit *B. procyonis* kontaminierte Gehege sollten durch Entfernung von Bodenmaterial und Hitzesterilisation saniert werden. Kontaminierte Einstreu und Futtermaterialien (Heu, Stroh, Laub) sind sorgfältig zu entfernen und zu entsorgen (z. B. durch Verbrennung) [163,164,202]. Die konsequente und systematische Verwirklichung jener Erregermanagementstrategien scheitert in Deutschland bislang an der mangelnden Bereitstellung finanzieller Ressourcen durch den Bund oder die Länder.

V Schlussbemerkung

Aufgrund des Bevölkerungswachstums und der zunehmenden menschlichen Landnutzung gehören gegenwärtig und zukünftig gesundheitsrelevante Wildtier-Mensch-Interaktionen zur Tagesordnung, wie die SARS-CoV-2-Pandemie der letzten Jahre vorgeführt hat. Daher ist ein grundlegendes Verständnis der Rolle, die Wildtiere in der Epidemiologie mitunter zoonotischer Infektionserreger spielen, zentral, um die Ausbreitung dieser Krankheitserreger einzudämmen. Dies stellt trotz weltweiter Verbesserungen in den Bereichen Vorhersage, Prävention, Diagnose und Intervention eine große Herausforderung dar [6,9].

Aus den beiden in dieser Arbeit vorgestellten Publikationen geht hervor, dass Waschbären in BW von bakteriellen, viralen und parasitären Krankheitserregern mit teilweise zoonotischem Potenzial befallen sind. Deshalb kann angenommen werden, dass diese Tierart in den Infektionszyklen der nachgewiesenen Erreger von Bedeutung ist. Als epidemiologisches Bindeglied zwischen Wild-, Zoo-, Haustieren und Menschen können Waschbären indirekt oder direkt das Expositionsrisiko der genannten Entitäten mit den nachgewiesenen Erregern potenzieren. Wirts- und erregerspezifische sowie anthropogene Faktoren könnten dabei die Ausbreitung dieser Erreger durch Waschbären fördern. Da der Waschbär in BW noch am Anfang seiner räumlichen Verbreitung steht, werden diese Risiken mit zunehmender Ausdehnung und Durchmischung von Waschbärenpopulationen außerdem voraussichtlich weiter ansteigen (siehe **P1** und **P2**). Wie genau Waschbären jedoch in die jeweiligen Infektionszyklen der nachgewiesenen Erreger eingreifen und welche konkreten gesundheitlichen Folgen für Ökosysteme, Tiere und Menschen zu erwarten sind, stellt ein Forschungsdesiderat dar.

Die Ergebnisse der vorliegenden Dissertation unterstreichen das Erfordernis kontinuierlicher und systematischer Überwachungsprogramme von Wildtiererregern als Teil des One-Health-Konzepts. Sie sind ein Ausgangspunkt für erregerspezifische Prävalenzstudien mit größerem Stichprobenumfang im Untersuchungsgebiet. Darüber hinaus würden ähnlich aufgebaute Forschungen in anderen deutschen Regionen und

europäischen Ländern helfen, das Auftreten der Erreger im gesamten Verbreitungsgebiet des Waschbären zu verstehen. Somit würde sich ein besseres Bild der Infektionslage und des Ansteckungsrisikos für Menschen und Tiere ergeben, aus dem man dann adäquate Managementstrategien ableiten könnte. Ein solcher Ansatz besteht in dem im Aufbau begriffenen und zur EUROMAMMALS gehörenden europäischen Forschungszusammenschluss EURORACCOON, der sich interdisziplinär mit allen Aspekten der Waschbärenökologie und -infektiologie zu befassen beabsichtigt.

Eine wirksame und rechtzeitige Reaktion auf endemische und neu auftretende mitunter zoonotische Wildtierpathogene ist nur möglich, wenn potenzielle Wirte und Reservoir, insbesondere IAS wie der Waschbär, Vektoren und Wildtiererreger routinemäßig überwacht werden. Dabei sollten tiefgreifende Umweltveränderungen wie die Klimakrise und der Biodiversitätsverlust bedacht werden, wie es das interdisziplinäre One-Health-Konzept vorschlägt. Diesen sich verschärfenden menschengemachten Umweltkrisen (Biodiversitätsverlust, Klimakrise, Pandemien) können nachhaltig geschützte biodiverse und ausreichend große Ökosysteme entgegenwirken [64,203]. Es wäre sinnvoll, Flächen, die 30–70% der verschiedenen Ökosysteme an Land und Wasser umfassen, als „globales Sicherheitsnetz“ zu renaturieren [203,204]. In den *Montrealer Global Biodiversity Frameworks* (2022) haben sich rund 200 Staaten geeinigt, mindestens 30% der weltweiten Land- und Meeresflächen bis 2030 unter Schutz zu stellen [205]. Konsequente, zeitnahe und rechtsbindende nationale Umsetzungen solcher Abkommen sind essentiell für ein gesundes Leben aller auf diesem Planeten.

VI Zusammenfassung

Explorative Untersuchung von Infektionserregern im invasiven, gebietsfremden Waschbären in Baden-Württemberg, Deutschland

Invasive, gebietsfremde Arten (IAS) und die Ausbreitung von Krankheitserregern gehören zu den zentralen Gefahren für die Biodiversität. In Europa stellen Waschbären eine kombinierte Bedrohung dar, da sie sowohl zu den IAS zählen als auch Wildtierreservoir für viele Krankheitserreger sind. Besonders in Deutschland, wo die größte Waschbärenpopulation außerhalb der USA vorzufinden ist, sind epidemiologische Erregeruntersuchungen aufgrund deren synanthropen Verhaltens von großer Bedeutung. Bisher gibt es nur wenige systematische Untersuchungen zum Vorkommen von Krankheitserregern bei Waschbären in Deutschland, vor allem in Ausbreitungsrandgebieten wie Baden-Württemberg (BW). Daher konzentriert sich die vorliegende Doktorarbeit auf das Vorkommen von Helminthen und ausgewählten zum Teil vektorübertragenen viralen und bakteriellen Infektionserregern in BW, die Waschbären bekanntermaßen beherbergen können.

In der ersten Publikation dieser Dissertation liegt der Fokus auf vier Viren (carnivores Protoparvovirus-1, canines Staupevirus, West-Nil-Virus und Influenza-A-Virus) sowie auf zwei Bakterien (pathogene *Leptospira* spp. und *Anaplasma phagocytophilum*). Mit Hilfe spezifischer quantitativer Polymerase-Kettenreaktionen (qPCR)-Methoden wurden Gewebe- und Blutproben von 102 in den Jahren 2019 und 2020 erlegten wildlebenden Waschbären in BW auf die ausgewählten Erreger hin untersucht. Dabei waren einzelne Proben positiv auf das carnivore Protoparvovirus-1 (7.8%, $n = 8$), canine Staupevirus (6.9%, $n = 7$), pathogene *Leptospira* spp. (3.9%, $n = 4$) und *Anaplasma phagocytophilum* (15.7%, $n = 16$). Das West-Nil-Virus und Influenza-A-Virus wurden nicht nachgewiesen.

Die zweite Publikation der vorliegenden Arbeit ermittelt das Vorkommen von Darmhelminthen in derselben Waschbärenstichprobe aus BW mittels parasitologischer, serologischer und genetischer Untersuchungsmethoden. Dabei wiesen 72.3%

der 101 statistisch berücksichtigten Waschbären ($n = 73$) mindestens eine Helminthenspezies auf. Cestoden stellten mit 46,5% positiven Waschbären ($n = 47$) die häufigste Helminthengruppe dar, gefolgt von Nematoden mit 31,7% ($n = 32$) und Trematoden mit 15,8% der positiven Individuen ($n = 16$). Es wurden Vertreter von vier Nematodengattungen (*Baylisascaris procyonis*, *Toxocara canis*, *Capillaria* spp. und *Trichuris* spp.), drei Cestoden-Gattungen (*Atriotaenia* cf. *incisa/procyonis*, *Taenia martis* und *Mesocestoides* spp.) sowie drei Trematoden-Gattungen (*Isthmiophora hortensis/melis*, *Plagiorchis muris* und *Brachylaima* spp.) gefunden. *Echinococcus* spp. und *Trichinella* spp. wurden nicht detektiert.

Durch den Nachweis dieser Krankheitserreger ist anzunehmen, dass in deren Infektionszyklen Waschbären in BW eine epidemiologische Rolle einnehmen. Als synanthrope IAS kann die Tierart deshalb als epidemiologisches Bindeglied zwischen Wild-, Haus-, Zootieren und Menschen und Mitverursacher der Erregerausbreitung aufgefasst werden, die wirts-, erregerspezifische und anthropogene Faktoren zusätzlich antreiben. Da der Waschbär in BW noch relativ am Anfang seiner räumlichen Verbreitung steht, wird das durch ihn erhöhte Expositionsrisiko für die genannten Entitäten in Zukunft vermutlich weiter ansteigen. Folglich sind die Etablierung und der Ausbau von evidenzbasierten Maßnahmen in den Bereichen Vorhersage, Prävention, Diagnose und Intervention im Rahmen des One-Health-Konzepts essentiell. Grundlegend sind dafür kontinuierliche und systematische Überwachungsprogramme von IAS wie Waschbären, Wildtiererregern und Vektoren.

VII Summary

Exploratory Investigation of Infectious Pathogens in Invasive Alien Raccoons in Baden-Württemberg, Germany

Invasive alien species (IAS) and the environmental pathogen pollution are among the central threats to biodiversity. In Europe, raccoons pose a dual threat as they are both classified as IAS and serve as reservoirs for many pathogens affecting wildlife. Particularly in Germany, where the largest raccoon population outside the USA is located, epidemiological pathogen investigations are of great importance due to their synanthropic behavior. To date, there have been only a few systematic investigations concerning the occurrence of pathogens in raccoons in Germany, particularly in peripheral regions of distribution such as Baden-Württemberg (BW). Therefore, this doctoral thesis focuses on the occurrence of helminths and selected, partly vector-borne viral and bacterial pathogens in BW, which are known to be harbored by raccoons.

The first publication of the present dissertation addresses four viruses (carnivore protoparvovirus-1, canine distemper virus, West Nile virus, and influenza A virus) as well as two bacteria (pathogenic *Leptospira* spp. and *Anaplasma phagocytophilum*). Tissue and blood samples from 102 free-ranging raccoons hunted in BW during the years 2019 and 2020 were examined for the selected pathogens using specific quantitative polymerase chain reaction (qPCR) methods. Single samples were positive for the carnivore protoparvovirus-1 (7.8%, $n = 8$), canine distemper virus (6.9%, $n = 7$), pathogenic *Leptospira* spp. (3.9%, $n = 4$) and *Anaplasma phagocytophilum* (15.7%, $n = 16$). West Nile virus and influenza A virus were not detected.

The second publication investigates the occurrence of intestinal helminths in the same sample of raccoons from BW using parasitological, serological, and genetic examination methods. We observed that 72.3% of the 101 statistically considered raccoons ($n = 73$) tested positive for at least one helminth parasite during the conducted examinations. Cestodes constituted the predominant helminth group with 46.5% positive raccoons ($n = 47$), followed by nematodes with 31.7% ($n = 32$) and trematodes

with 15.8% positive individuals ($n = 16$). In this study, representatives of four nematode genera (*Baylisascaris procyonis*, *Toxocara canis*, *Capillaria* spp., and *Trichuris* spp.), three cestode genera (*Atriotaenia* cf. *incisa/procyonis*, *Taenia martis*, and *Mesocostoides* spp.), as well as three trematode genera (*Isthmiophora hortensis/melis*, *Plagiorchis muris*, and *Brachylaima* spp.) were found. However, *Echinococcus* spp. and *Trichinella* spp. were not identified.

The detection of these pathogens suggests that raccoons in BW may play an epidemiological role in their infection cycles. As a synanthropic IAS, this species may therefore be considered an epidemiological link between wildlife, domestic and zoo animals, and humans, contributing to the environmental pathogen pollution driven by host- and pathogen-specific as well as anthropogenic factors. Given that raccoons are in the early stages of their spatial distribution in BW, it is probable that the elevated risk of pathogen exposure for the mentioned entities due to raccoons is likely to further increase in the future. Consequently, the establishment and expansion of evidence-based measures in the domains of prediction, prevention, diagnosis, and intervention are essential within the framework of the One Health concept. Fundamentally, continuous and systematic surveillance programs for IAS such as raccoons, wildlife pathogens, and vectors are required for this purpose.

VIII Literaturverzeichnis

1. Bradshaw, C.J.A.; Ehrlich, P.R.; Beattie, A.; Ceballos, G.; Crist, E.; Diamond, J.; Dirzo, R.; Ehrlich, A.H.; Harte, J.; Harte, M.E.; et al. Underestimating the Challenges of Avoiding a Ghastly Future. *Front in Conserv Sci* **2021**, *1*, 01-10, doi:10.3389/fcsc.2020.615419.
2. Dirzo, R.; Ceballos, G.; Ehrlich, P.R. Circling the drain: the extinction crisis and the future of humanity. *Philos. Trans. R. Soc. B.* **2022**, *377*, 20210378, doi:10.1098/rstb.2021.0378.
3. Rockström, J.; Steffen, W.; Noone, K.; Persson, A.; Chapin, F.S.I.; Lambin, E.; Lenton, T.M.; Scheffer, M.; Folke, C.; Schellnhuber, H.J.; et al. Planetary Boundaries: Exploring the Safe Operating Space for Humanity. *Ecol Soc* **2009**, *14*, 32, doi:<https://doi.org/10.1038/461472a>.
4. Yon, L.; Duff, J.P.; Agren, E.O.; Erdelyi, K.; Ferroglio, E.; Godfroid, J.; Hars, J.; Hestvik, G.; Horton, D.; Kuiken, T.; et al. Recent Changes in Infectious Diseases in European Wildlife. *J Wildl Dis* **2019**, *55*, 03-43, doi:10.7589/2017-07-172.
5. Daszak, P.; Cunningham, A.A.; Hyatt, A.D. Emerging Infectious Diseases of Wildlife—Threats to Biodiversity and Human Health. *Science* **2000**, *287*, 443-449, doi:10.1126/science.287.5452.443.
6. Kuiken, T. Implications of Transformative Changes for Research on Emerging Zoonoses. *Ecohealth* **2021**, *18*, 275-279, doi:10.1007/s10393-021-01534-y.
7. Ostfeld, R.S. Biodiversity Loss and the Rise of Zoonotic Pathogens. *Clin Microbiol Infect* **2009**, *15*, 40-43, doi:10.1111/j.1469-0691.2008.02691.x.
8. Tomassone, L.; Berriatua, E.; De Sousa, R.; Duscher, G.G.; Mihalca, A.D.; Silaghi, C.; Sprong, H.; Zintl, A. Neglected Vector-Borne Zoonoses in Europe: Into the Wild. *Vet Parasitol* **2018**, *251*, 17-26, doi:10.1016/j.vetpar.2017.12.018.
9. Vorou, R.M.; Papavassiliou, V.G.; Tsiodras, S. Emerging Zoonoses and Vector-Borne Infections Affecting Humans in Europe. *Epidemiol Infect* **2007**, *135*, 1231-1247, doi:10.1017/s0950268807008527.
10. Thompson, R.C.; Polley, L. Parasitology and One Health. *Int J Parasitol Parasites Wildl* **2014**, *3*, doi:10.1016/j.ijppaw.2014.09.002.
11. Polley, L. Navigating Parasite Webs and Parasite Flow: Emerging and Re-emerging Parasitic Zoonoses of Wildlife Origin. *Int J Parasitol* **2005**, *35*, 1279-1294, doi:10.1016/j.ijpara.2005.07.003.
12. Mackenzie, J.S.; Jeggo, M. The One Health Approach—Why Is It So Important? *Trop Med Infect Dis* **2019**, *4*, 88, doi:10.3390/tropicalmed4020088.
13. Cunningham, A.A.; Daszak, P.; Wood, J.L.N. One Health, emerging infectious diseases and wildlife: two decades of progress? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **2017**, *372*, 20160167, doi:10.1098/rstb.2016.0167.
14. Thompson, R.C. Parasite zoonoses and wildlife: One health, spillover and human activity. *Int J Parasitol* **2013**, *43*, 1079-1088, doi:10.1016/j.ijpara.2013.06.007.
15. Fischer, M.L.; Hochkirch, A.; Heddergott, M.; Schulze, C.; Anheyer-Behmenburg, H.E.; Lang, J.; Michler, F.U.; Hohmann, U.; Ansorge, H.; Hoffmann, L.; et al. Historical Invasion Records Can Be Misleading: Genetic Evidence for Multiple Introductions of Invasive Raccoons (*Procyon lotor*) in Germany. *PLoS One* **2015**, *10*, e0125441, doi:10.1371/journal.pone.0125441.
16. Fischer, M.L.; Sullivan, M.J.P.; Greiser, G.; Guerrero-Casado, J.; Heddergott, M.; Hohmann, U.; Keuling, O.; Lang, J.; Martin, I.; Michler, F.-U.; et al. Assessing and predicting the spread of non-native raccoons in Germany using hunting bag data and dispersal weighted models. *Biol Invasions* **2016**, *18*, 57-71, doi:10.1007/s10530-015-0989-x.
17. Farashi, A.; Naderi, M.; Safavian, S. Predicting the potential invasive range of raccoon in the world. *Polish Journal of Ecology* **2016**, *64*, 594-600, doi:10.3161/15052249pje2016.64.4.014.
18. Raizman, E.A.; Dharmarajan, G.; Beasley, J.C.; Wu, C.C.; Pogranichniy, R.M.; Rhodes, O.E.J. Serologic Survey for Selected Infectious Diseases in Raccoons (*Procyon lotor*) in Indiana, USA. *J Wildl Dis* **2009**, *45*, 531-536, doi:10.7589/0090-3558-45.2.531.
19. Mackenstedt, U.; Jenkins, D.; Romig, T. The role of wildlife in the transmission of parasitic zoonoses in peri-urban and urban areas. *Int J Parasitol Parasites Wildl* **2015**, *17*, 71-79, doi:10.1016/j.ijppaw.2015.01.006.
20. Mysliwy, I.; Perec-Matysiak, A.; Hildebrand, J. Invasive raccoon (*Procyon lotor*) and raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) as potential reservoirs of tick-borne pathogens: data review from native and introduced areas. *Parasit Vectors* **2022**, *15*, 126, doi:10.1186/s13071-022-05245-3.

21. Beltrán-Beck, B.; García, F.J.; Gortázar, C. Raccoons in Europe: disease hazards due to the establishment of an invasive species. *Eur J Wildl Res* **2012**, *58*, 05-15, doi:10.1007/s10344-011-0600-4.
22. Peter, N.; Dörge, D.D.; Cunze, S.; Schantz, A.V.; Skaljc, A.; Rueckert, S.; Klimpel, S. Raccoons contraband – The metazoan parasite fauna of free-ranging raccoons in central Europe. *Int J Parasitol Parasites Wildl* **2023**, *20*, 79-88, doi:10.1016/j.ijppaw.2023.01.003.
23. Popiolek, M.; Szczesna-Staskiewicz, J.; Bartoszewicz, M.; Okarma, H.; Smalec, B.; Zalewski, A. Helminth Parasites of an Introduced Invasive Carnivore Species, the Raccoon (*Procyon lotor* L.), From the Warta Mouth National Park (Poland). *J Parasitol* **2011**, *97*, 357-360, doi:10.1645/GE-2525.1.
24. Salgado, I. Is the raccoon (*Procyon lotor*) out of control in Europe? *Biodivers Conserv* **2018**, *27*, 2243-2256, doi:10.1007/s10531-018-1535-9.
25. Fischer, M.L.; Salgado, I.; Beninde, J.; Klein, R.; Frantz, A.C.; Heddergott, M.; Cullingham, C.I.; Kyle, C.J.; Hochkirch, A.; Leung, B. Multiple founder effects are followed by range expansion and admixture during the invasion process of the raccoon (*Procyon lotor*) in Europe. *Divers Distrib* **2017**, *23*, 409-420, doi:10.1111/ddi.12538.
26. Michler, B.A.; Dati, F.; Michler, F.-U. Der Nordamerikanische Waschbär in Deutschland – Hintergrund, Konfliktfelder & Managementmaßnahmen. In *Evidenzbasiertes Wildtiermanagement*; 2023; pp. 59-102.
27. Michler, B.A. Koproscopische Untersuchungen zum Nahrungsspektrum des Waschbären *Procyon lotor* (Linne, 1758) im Müritz-Nationalpark (Mecklenburg-Vorpommern) unter spezieller Berücksichtigung des Artenschutzes und des Endoparasitenbefalls. Doctoral Thesis, Technische Universität Dresden, Dresden, 2017.
28. Fischer, M. Besiedlungsprozesse und Auswirkungen des Waschbären (*Procyon lotor* L., 1758) in Deutschland. Doctoral Thesis, Universität Trier, Trier, 2016.
29. Bartoszewicz, M.; Okarma, H.; Zalewski, A.; Szczesna, J. Ecology of the Raccoon (*Procyon lotor*) from Western Poland. *Annales Zoologici Fennici* **2008**, *45*, 291-298, doi:10.5735/086.045.0409.
30. Bozek, C.K.; Prange, S.; Gehrt, S.D. The influence of anthropogenic resources on multi-scale habitat selection by raccoons. *Urban Ecosystems* **2007**, *10*, 413-425, doi:10.1007/s11252-007-0033-8.
31. Prange, S.; Gehrt, S.D.; Wiggers, E.P. Influences of Anthropogenic Resources on Raccoon (*Procyon lotor*) Movements and Spatial Distribution. *J Mamm* **2004**, *85*, 483-490, doi:<https://doi.org/10.1644/BOS-121>.
32. Stope, M.B. The Raccoon (*Procyon lotor*) as a Neozoon in Europe. *Animals* **2023**, *13*, doi:10.3390/ani13020273.
33. Hirsch, B.T.; Prange, S.; Hauver, S.A.; Gehrt, S.D. Patterns of latrine use by raccoons (*Procyon lotor*) and implication for *Baylisascaris procyonis* transmission. *J Wildl Dis* **2014**, *50*, 243-249, doi:10.7589/2013-09-251.
34. Ogdee, J.L.; Henke, S.E.; Wester, D.B.; Fedynich, A.M. Assessing Potential Environmental Contamination by *Baylisascaris procyonis* Eggs from Infected Raccoons in Southern Texas. *Vector Borne Zoonotic Dis* **2017**, *17*, 185-189, doi:10.1089/vbz.2016.2011.
35. Michler, F.U. Säugetierkundliche Freilandforschung zur Populationsbiologie des Waschbären (*Procyon lotor* Linnaeus, 1758) in einem naturnahen Tieflandbuchenwald im Müritz-Nationalpark (Mecklenburg-Vorpommern). Doctoral Thesis, Technische Universität Dresden, Dresden, 2016.
36. Rentería-Solís, Z. Disease Occurrence in Free-Ranging Raccoons (*Procyon lotor*) from Rural and Urban Populations in North-Eastern Germany. Doctoral Thesis, Freien Universität Berlin, Berlin, 2015.
37. Mazzamuto, M.V.; Panzeri, M.; Bisi, F.; Wauters, L.A.; Preatoni, D.; Martinoli, A. When management meets science: adaptive analysis for the optimization of the eradication of the Northern raccoon (*Procyon lotor*). *Biol Invasions* **2020**, *22*, 3119-3130, doi:10.1007/s10530-020-02313-6.
38. Cunze, S.; Klimpel, S.; Kochmann, J. Land cover and climatic conditions as potential drivers of the raccoon (*Procyon lotor*) distribution in North America and Europe. *European Journal of Wildlife Research* **2023**, *69*, 62, doi:10.1007/s10344-023-01679-x.
39. Heddergott, M.; Steinbach, P.; Schwarz, S.; Anheyer-Behmenburg, H.E.; Sutor, A.; Schliephake, A.; Jeschke, D.; Striese, M.; Muller, F.; Meyer-Kayser, E.; et al. Geographic Distribution of Raccoon Roundworm, *Baylisascaris procyonis*, Germany and Luxembourg. *Emerg Infect Dis* **2020**, *26*, 821-823, doi:10.3201/eid2604.191670.

40. Frantz, A.C.; Schleimer, A.; Wittische, J.; Heddergott, M. Close spatial overlap between the genetic population boundaries of raccoons and the distribution of the raccoon roundworm in Germany. *Italian Journal of Mammalogy* **2021**, *32*, 203-206, doi:10.4404/hystrix-00444-2021.
41. Vos, A.; Ortmann, S.; Kretzschmar, A.S.; Köhnemann, B.; Michel, F. The Raccoon (*Procyon lotor*) as Potential Rabies Reservoir Species in Germany: A Risk Assessment. *Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift* **2012**, *125*, 228-235, doi:10.2376/0005-9366-125-222.
42. Riley, S.P.D.; Hadidian, J.; Manski, A. Population density, survival, and rabies in raccoons in an urban national park. *Can. J. Zool.* **1998**, *76*, 1153-1164, doi:10.1139/z98-042.
43. Pedlar, J.H.; Fahrig, L.; Merriam, H.G. Raccoon Habitat Use at 2 Spatial Scales. *Journal of Wildlife Management* **1997**, *61*, 102-112, doi:<https://doi.org/10.2307/3802419>.
44. Deutscher Jagdverband e.V. Infografik_Jahresjagdstrecke_Waschbär_2020/2021. Available online: https://www.jagdverband.de/sites/default/files/2022-02/2022-01_Infografik_Jahresjagdstrecke_Waschbaer_2020_2021.jpg (accessed on 16.03.2024).
45. Keller, R.; Geist, J.; Jeschke, J.; Kühn, I. Invasive species in Europe: Ecology, status, and policy. *Environmental Sciences Europe* **2011**, *23*, 23, doi:10.1186/2190-4715-23-23.
46. Fiderer, C.; Göttert, T.; Zeller, U. Spatial interrelations between raccoons (*Procyon lotor*), red foxes (*Vulpes vulpes*), and ground-nesting birds in a Special Protection Area of Germany. *Eur J Wildl Res* **2019**, *65*, 14, doi:10.1007/s10344-018-1249-z.
47. Vilà, M.; Basnou, C.; Pyšek, P.; Josefsson, M.; Genovesi, P.; Gollasch, S.; Nentwig, W.; Olenin, S.; Roques, A.; Roy, D.; et al. How well do we understand the impacts of alien species on ecosystem services? A pan-European, cross-taxa assessment. *Frontiers in Ecology and the Environment* **2010**, *8*, 135-144, doi:10.1890/080083.
48. Dueñas, M.-A.; Ruffhead, H.J.; Wakefield, N.H.; Roberts, P.D.; Hemming, D.J.; Diaz-Soltero, H. The role played by invasive species in interactions with endangered and threatened species in the United States: a systematic review. *Biodiversity and Conservation* **2018**, *27*, 3171-3183, doi:10.1007/s10531-018-1595-x.
49. Cuthbert, R.N.; Diagne, C.; Hudgins, E.J.; Turbelin, A.; Ahmed, D.A.; Albert, C.; Bodey, T.W.; Briski, E.; Essl, F.; Haubrock, P.J.; et al. Biological invasion costs reveal insufficient proactive management worldwide. *Sci Total Environ* **2022**, *819*, 153404, doi:10.1016/j.scitotenv.2022.153404.
50. Costello, K.E.; Scalera, R.; Nunes, A.L.; Smith, K. An introduction to the Invasive Alien Species Regulation. Publication prepared for the European Commission within the framework of the contract No 09.0201/2021/856079/SER/ENV.D.2 "Technical and Scientific support in relation to the Implementation of Regulation 1143/2014 on Invasive Alien Species". Available online: <https://circabc.europa.eu/ui/group/3f466d71-92a7-49eb-9c63-6cb0fadf29dc/library/491b3bad-80dd-4127-b5d7-a2ca5167e326/details> (accessed on 16.03.2024).
51. Nehring, S.; Skowronek, S. Die invasiven gebietsfremden Arten der Unionsliste der Verordnung (EU) Nr. 1143/2014 – Dritte Fortschreibung 2022 –. Available online: <https://www.bfn.de/publikationen/bfn-schriften/bfn-schriften-654-die-invasiven-gebietsfremden-arten-der-unionsliste> (accessed on 16.03.2024).
52. Schneeweiß, N.; Wolf, M. Neozoen – eine neue Gefahr für die Reliktpopulationen der Europäischen Sumpfschildkröte in Nordostdeutschland. *Zeitschrift für Feldherpetologie* 2009, pp. 163-182.
53. Cichocki, J.; Ważna, A.; Bator-Kocoł, A.; Lesiński, G.; Grochowalska, R.; Bojarski, J. Predation of invasive raccoon (*Procyon lotor*) on hibernating bats in the Nietoperek reserve in Poland. *Mammalian Biology* **2020**, *101*, 57-62, doi:10.1007/s42991-020-00087-x.
54. Oe, S.; Sashika, M.; Fujimoto, A.; Shimozuru, M.; Tsubota, T. Predation impacts of invasive raccoons on rare native species. *Sci Rep* **2020**, *10*, 20860, doi:10.1038/s41598-020-77016-y.
55. Michler, F.-U.F.; Michler, B.A. Ökologische, ökonomische und epidemiologische Bedeutung des Waschbären (*Procyon lotor*) in Deutschland – eine aktuelle Übersicht. *Beiträge zur Jagd & Wild Forschung* 2012, pp. 387-395.
56. Beasley, J.C.; Rhodes, O.E. Relationship between raccoon abundance and crop damage. *Human-Wildlife Conflicts* **2008**, *2*, 248-259, doi:10.26077/g4bp-bd34.
57. Daszak, P.; Epstein, J.H.; Kilpatrick, A.M.; Aguirre, A.A.; Karesh, W.B.; Cunningham, A.A. Collaborative Research Approaches to the Role of Wildlife in Zoonotic Disease Emergence. *Curr Top Microbiol Immunol* 2007, pp. 463-475.

58. Gordon, C.A.; McManus, D.P.; Jones, M.K.; Gray, D.J.; Gobert, G.N. The Increase of Exotic Zoonotic Helminth Infections: The Impact of Urbanization, Climate Change and Globalization. *Adv Parasitol* **2016**, *91*, 311-397, doi:10.1016/bs.apar.2015.12.002.
59. Duscher, G.G.; Leschnik, M.; Fuehrer, H.P.; Joachim, A. Wildlife Reservoirs for Vector-Borne Canine, Feline and Zoonotic Infections in Austria. *Int J Parasitol Parasites Wildl* **2015**, *4*, 88-96, doi:10.1016/j.ijppaw.2014.12.001.
60. Lednicky, J.A.; Dubach, J.; Kinsel, M.J.; Meehan, T.P.; Bocchetta, M.; Hungerford, L.L.; Sarich, N.A.; Witecki, K.E.; Braid, M.D.; Pedrak, C.; et al. Genetically distant American *Canine distemper virus* lineages have recently caused epizootics with somewhat different characteristics in raccoons living around a large suburban zoo in the USA. *Virol J* **2004**, *1*, 2, doi:10.1186/1743-422X-1-2.
61. Bezerra-Santos, M.A.; Mendoza-Roldan, J.A.; Thompson, R.C.A.; Dantas-Torres, F.; Otranto, D. Illegal Wildlife Trade: A Gateway to Zoonotic Infectious Diseases. *Trends Parasitol* **2021**, *37*, 181-184, doi:10.1016/j.pt.2020.12.005.
62. Otero, I.; Farrell, K.N.; Pueyo, S.; Kallis, G.; Kehoe, L.; Haberl, H.; Plutzer, C.; Hobson, P.; Garcia-Marquez, J.; Rodriguez-Labajos, B.; et al. Biodiversity policy beyond economic growth. *Conserv Lett* **2020**, *13*, e12713, doi:10.1111/conl.12713.
63. Poore, J.; Nemecek, T. Reducing food's environmental impacts through producers and consumers. *Science* **2018**, *360*, 987-992, doi:10.1126/science.aaq0216.
64. Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services (IPBES). The Global Assessment Report on Biodiversity and Ecosystem Services, Summary for Policymakers. Available online: [https://www.ipbes.net/system/files/2021-06/2020%20IPBES%20GLOBAL%20REPORT\(FIRST%20PART\)_V3_SINGLE.pdf](https://www.ipbes.net/system/files/2021-06/2020%20IPBES%20GLOBAL%20REPORT(FIRST%20PART)_V3_SINGLE.pdf) (accessed on 16.03.2024).
65. Obiegala, A.; Albrecht, C.; Dafalla, M.; Drewes, S.; Oltersdorf, C.; Turni, H.; Imholt, C.; Jacob, J.; Wagner-Wiening, C.; Ulrich, R.G.; et al. *Leptospira* spp. in Small Mammals from Areas with Low and High Human Hantavirus Incidences in South-West Germany. *Vector Borne Zoonotic Dis* **2017**, *17*, 312-318, doi:10.1089/vbz.2016.2036.
66. Semenza, J.C.; Suk, J.E. Vector-borne diseases and climate change: a European perspective. *FEMS Microbiol Lett* **2018**, *365*, fnx244, doi:10.1093/femsle/fnx244.
67. Patz, J.A.; Daszak, P.; Tabor, G.M.; Aguirre, A.A.; Pearl, M.; Epstein, J.; Wolfe, N.D.; Kilpatrick, A.M.; Fofopoulos, J.; Molyneux, D.; et al. Unhealthy landscapes: Policy recommendations on land use change and infectious disease emergence. *Environ Health Perspect* **2004**, *112*, 1092-1098, doi:10.1289/ehp.6877.
68. Keller, M.; Peter, N.; Holicki, C.M.; Schantz, A.V.; Ziegler, U.; Eiden, M.; Dorge, D.D.; Vilcinskas, A.; Groschup, M.H.; Klimpel, S. SARS-CoV-2 and West Nile Virus Prevalence Studies in Raccoons and Raccoon Dogs from Germany. *Viruses* **2022**, *14*, 2559, doi:10.3390/v14112559.
69. Rentería-Solís, Z.; Förster, C.; Aue, A.; Wittstatt, U.; Wibbelt, G.; König, M. Canine Distemper Outbreak in Raccoons Suggests Pathogen Interspecies Transmission Amongst Alien and Native Carnivores in Urban Areas from Germany. *Vet Microbiol* **2014**, *174*, 50-59, doi:10.1016/j.vetmic.2014.08.034.
70. Pedersen, A.B.; Jones, K.E.; Nunn, C.L.; Altizer, S. Infectious Diseases and Extinction Risk in Wild Mammals. *Conserv Biol* **2007**, *21*, 1269-1279, doi:10.1111/j.1523-1739.2007.00776.x.
71. Andre, M.R. Diversity of *Anaplasma* and *Ehrlichia/Neoehrlichia* Agents in Terrestrial Wild Carnivores Worldwide: Implications for Human and Domestic Animal Health and Wildlife Conservation. *Front Vet Sci* **2018**, *5*, 01-24, doi:10.3389/fvets.2018.00293.
72. Pedersen, K.; Anderson, T.D.; Maison, R.M.; Wiscomb, G.W.; Pipas, M.J.; Sinnett, D.R.; Baroch, J.A.; Gidlewski, T. *Leptospira* Antibodies Detected in Wildlife in the USA and the US Virgin Islands. *J Wildl Dis* **2018**, *54*, 450-459, doi:10.7589/2017-10-269.
73. Sorvillo, F.; Ash, L.R.; Berlin, O.G.W.; Morse, S.A. *Baylisascaris procyonis*: An Emerging Helminthic Zoonosis. *Emerging infectious diseases* **2002**, *8*, 355-359, doi:10.3201/eid0804.010273.
74. Duncan, C.; Krafus, G.; Podell, B.; Baeten, L.A.; LeVan, I.; Charles, B.; Ehrhart, E.J. Leptospirosis and Tularaemia in Raccoons (*Procyon lotor*) of Larimer County, Colorado. *Zoonoses and Public Health* **2012**, *59*, 29-34, doi:10.1111/j.1863-2378.2011.01412.x.
75. Allison, A.B.; Kohler, D.J.; Fox, K.A.; Brown, J.D.; Gerhold, R.W.; Shearn-Bochsler, V.I.; Dubovi, E.J.; Parrish, C.R.; Holmes, E.C. Frequent Cross-Species Transmission of Parvoviruses Among Diverse Carnivore Hosts. *J Virol* **2013**, *87*, 2342-2347, doi:10.1128/JVI.02428-12.

76. Beineke, A.; Baumgartner, W.; Wohlsein, P. Cross-Species Transmission of Canine Distemper Virus—an Update. *One Health* **2015**, *1*, 49-59, doi:10.1016/j.onehlt.2015.09.002.
77. Root, J.J.; Bentler, K.T.; Nemeth, N.M.; Gidlewski, T.; Spraker, T.R.; Franklin, A.B. Experimental Infection of Raccoons (*Procyon lotor*) with West Nile Virus. *Am J Trop Med Hyg* **2010**, *83*, 803-807, doi:10.4269/ajtmh.2010.10-0173.
78. Blitvich, B.J.; Juarez, L.I.; Tucker, B.J.; Rowley, W.A.; Platt, K.B. Antibodies to West Nile Virus in Raccoons and Other Wild Peridomestic Mammals in Iowa. *J Wildl Dis* **2009**, *45*, 1163-1168, doi:10.7589/0090-3558-45.4.1163.
79. Yamaguchi, E.; Fujii, K.; Ogawa, H.; Imai, K. First Detection of Influenza A Virus Genes from Wild Raccoons in Japan. *Virus Genes* **2018**, *54*, 591-595, doi:10.1007/s11262-018-1566-z.
80. Junge, R.E.; Bauman, K.; King, M.; Gompper, M.E. A Serologic Assessment of Exposure to Viral Pathogens and *Leptospira* in an Urban Raccoon (*Procyon lotor*) Population Inhabiting a Large Zoological Park. *J Zoo Wildl Med* **2007**, *38*, 18-26, doi:10.1638/05-123.1.
81. Mitchell, M.A.; Hungerford, L.L.; Nixon, C.; Esker, T.; Sullivan, J.; Koerkenmeier, R.; Dubey, J.P. Serologic Survey for Selected Infectious Disease Agents in Raccoons from Illinois *J Wildl Dis* **1999**, *35*, 347-355, doi:10.7589/0090-3558-35.2.347.
82. Hagiwara, K.; Matoba, Y.; Asakawa, M. Borna Disease Virus in Raccoons (*Procyon lotor*) in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* **2009**, *71*, 1009–1015, doi:10.1292/jvms.71.1009.
83. Dela Cruz, F.N., Jr.; Giannitti, F.; Li, L.; Woods, L.W.; Del Valle, L.; Delwart, E.; Pesavento, P.A. Novel polyomavirus associated with brain tumors in free-ranging raccoons, western United States. *Emerg Infect Dis* **2013**, *19*, 77-84, doi:10.3201/eid1901.121078.
84. Canuti, M.; Britton, A.P.; Graham, S.M.; Lang, A.S. Epidemiology and Molecular Characterization of Protoparvoviruses Infecting Wild Raccoons (*Procyon lotor*) in British Columbia, Canada. *Virus Res* **2017**, *242*, 85-89, doi:10.1016/j.virusres.2017.09.015.
85. Decaro, N.; Buonavoglia, C. Canine Parvovirus—A Review of Epidemiological and Diagnostic Aspects, with Emphasis on Type 2c. *Vet Microbiol* **2012**, *155*, 01-12, doi:10.1016/j.vetmic.2011.09.007.
86. Hoelzer, K.; Parrish, C.R. The Emergence of Parvoviruses of Carnivores. *Vet Res* **2010**, *41*, 39, doi:10.1051/vetres/2010011.
87. Canuti, M.; Todd, M.; Monteiro, P.; Van Osch, K.; Weir, R.; Schwantje, H.; Britton, A.P.; Lang, A.S. Ecology and Infection Dynamics of Multi-Host Amdoparvoviral and Protoparvoviral Carnivore Pathogens. *Pathogens* **2020**, *9*, 124, doi:10.3390/pathogens9020124.
88. Wang, K.; Du, S.; Wang, Y.; Wang, S.; Luo, X.; Zhang, Y.; Liu, C.; Wang, H.; Pei, Z.; Hu, G. Isolation and Identification of Tiger Parvovirus in Captive Siberian Tigers and Phylogenetic Analysis of VP2 Gene. *Infect Genet Evol* **2019**, *75*, 103957, doi:10.1016/j.meegid.2019.103957.
89. Decaro, N.; Desario, C.; Addie, D.D.; Martella, V.; Vieira, M.J.; Elia, G.; Zicola, A.; Davis, C.; Thompson, G.; Thiry, E.; et al. Molecular Epidemiology of Canine Parvovirus, Europe. *Emerg Infect Dis* **2007**, *13*, 1222-1224, doi:10.3201/eid1308.070505.
90. Miranda, C.; Santos, N.; Parrish, C.; Thompson, G. Genetic Characterization of Canine Parvovirus in Sympatric Free-Ranging Wild Carnivores in Portugal. *J Wildl Dis* **2017**, *53*, 824-831, doi:10.7589/2016-08-194.
91. Orozco, M.M.; Miccio, L.; Enriquez, G.F.; Iribarren, F.E.; Gürtler, R.E. Serologic Evidence of Canine Parvovirus in Domestic Dogs, Wild Carnivores, and Marsupials in the Argentinean Chaco. *J Zoo Wildl Med* **2014**, *45*, 555-563, doi:10.1638/2013-0230R1.1.
92. Barker, I.K.; Parrish, C.R. Parvovirus Infections. In *Infectious Diseases of Wild Mammals*, 3 ed.; Williams, E.S., Barker, I.K., Eds.; Iowa State University Press: Iowa, 2001; pp. 131-146.
93. Steinel, A.; Parrish, C.R.; Bloom, M.E.; Truyen, U. Parvovirus Infections in Wild Carnivores. *J Wildl Dis* **2001**, *37*, 597-607, doi:10.7589/0090-3558-37.3.594.
94. Aoki, E.; Soma, T.; Yokoyama, M.; Matsubayashi, M.; Sasai, K. Surveillance for Antibodies Against Six Canine Viruses in Wild Raccoons (*Procyon lotor*) in Japan. *J Wildl Dis* **2017**, *53*, 761-768, doi:10.7589/2016-11-253.
95. Gompper, M.E.; Monello, R.J.; Eggert, L.S. Genetic Variability and Viral Seroconversion in an Outcrossing Vertebrate Population. *Proc Biol Sci* **2011**, *278*, 204-210, doi:10.1098/rspb.2010.1113.
96. Duarte, M.D.; Henriques, A.M.; Barros, S.C.; Fagulha, T.; Mendonca, P.; Carvalho, P.; Monteiro, M.; Fevereiro, M.; Basto, M.P.; Rosalino, L.M.; et al. Snapshot of Viral Infections in Wild Carnivores

- Reveals Ubiquity of Parvovirus and Susceptibility of Egyptian Mongoose to Feline Panleukopenia Virus. *PLoS One* **2013**, *8*, e59399, doi:10.1371/journal.pone.0059399.
97. Frölich, K.; Streich, W.J.; Fickel, J.; Jung, S.; Truyen, U.; Hentschke, J.; Dedek, J.; Prager, D.; Latz, N. Epizootiologic Investigations of Parvovirus Infections in Free-Ranging Carnivores from Germany. *J Wildl Dis* **2005**, *41*, 231-235, doi:10.7589/0090-3558-41.1.231.
 98. Martinez-Gutierrez, M.; Ruiz-Saenz, J. Diversity of Susceptible Hosts in Canine Distemper Virus Infection: A Systematic Review and Data Synthesis. *BMC Vet Res* **2016**, *12*, 78, doi:10.1186/s12917-016-0702-z.
 99. Nikolin, V.M.; Wibbelt, G.; Michler, F.U.; Wolf, P.; East, M.L. Susceptibility of Carnivore Hosts to Strains of Canine Distemper Virus from Distinct Genetic Lineages. *Vet Microbiol* **2012**, *156*, 45-53, doi:10.1016/j.vetmic.2011.10.009.
 100. Origgi, F.C.; Plattet, P.; Sattler, U.; Robert, N.; Casaubon, J.; Mavrot, F.; Pewsner, M.; Wu, N.; Giovannini, S.; Oevermann, A.; et al. Emergence of Canine Distemper Virus Strains with Modified Molecular Signature and Enhanced Neuronal Tropism Leading to High Mortality in Wild Carnivores. *Vet Pathol* **2012**, *49*, 913-929, doi:10.1177/0300985812436743.
 101. Wostenberg, D.J.; Walker, N.; Fox, K.A.; Spraker, T.R.; Piaggio, A.J.; Gilbert, A. Evidence of Two Circulating Canine Distemper Virus Strains in Mesocarnivores from Northern Colorado, USA. *J Wildl Dis* **2018**, *54*, 534-543, doi:10.7589/2017-09-238.
 102. Nemeth, N.M.; Oesterle, P.T.; Campbell, G.D.; Ojkic, D.; Jardine, C.M. Comparison of Reverse-Transcription Real-Time PCR and Immunohistochemistry for the Detection of Canine Distemper Virus Infection in Raccoons in Ontario, Canada. *J Vet Diagn Invest* **2018**, *30*, 319-323, doi:10.1177/1040638717751825.
 103. Wang, H.; Guo, H.; Hein, V.G.; Xu, Y.; Yu, S.; Wang, X. The evolutionary dynamics history of canine distemper virus through analysis of the hemagglutinin gene during 1930-2020. *Eur J Wildl Res* **2023**, *69*, 56, doi:10.1007/s10344-023-01685-z.
 104. Anheyer-Behmenburg, H.E. Untersuchungen zum Vorkommen von Zoonoseerregern und dem kaninen Staupevirus in der Waschbärpopulation Niedersachsen (2011-2013). Doctoral Thesis, Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover, 2013.
 105. Michler, F.U.; Köhnemann, B.A.; Roth, M.; Speck, S.; Fickel, J.; Wibbelt, G. Todesursachen sendermarkierter Waschbären (*Procyon lotor* L., 1758) im Müritz-Nationalpark (Mecklenburg-Vorpommern). *Beiträge zur Jagd- und Wildforschung* 2009, pp. 01-17.
 106. Danner, K.J. State Rabies and Epidemiology Centre Freiburg, Baden-Württemberg, Germany. Personal communication. **2022**.
 107. Blazey, B. Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart, Baden-Württemberg, Germany. Personal communication. **2022**.
 108. Frank, C.; Schmidt-Chanasit, J.; Ziegler, U.; Lachmann, R.; Preußel, K.; Offergeld, R. West Nile Virus in Germany: An Emerging Infection and Its Relevance for Transfusion Safety. *Transfus Med Hemother* **2022**, *49*, 192-204, doi:10.1159/000525167.
 109. Habarugira, G.; Suen, W.W.; Hobson-Peters, J.; Hall, R.A.; Bielefeldt-Ohmann, H. West Nile Virus: An Update on Pathobiology, Epidemiology, Diagnostics, Control and "One Health" Implications. *Pathogens* **2020**, *9*, 589, doi:10.3390/pathogens9070589.
 110. García-Carrasco, J.M.; Muñoz, A.R.; Olivero, J.; Segura, M.; Real, R. Predicting the Spatio-Temporal Spread of West Nile Virus in Europe. *PLoS Negl Trop Dis* **2021**, *15*, e0009022, doi:10.1371/journal.pntd.0009022.
 111. Ziegler, U.; Luhken, R.; Keller, M.; Cadar, D.; van der Grinten, E.; Michel, F.; Albrecht, K.; Eiden, M.; Rinder, M.; Lachmann, L.; et al. West Nile Virus Epizootic in Germany, 2018. *Antiviral Res* **2019**, *162*, 39-43, doi:10.1016/j.antiviral.2018.12.005.
 112. Michel, F.; Sieg, M.; Fischer, D.; Keller, M.; Eiden, M.; Reuschel, M.; Schmidt, V.; Schwehn, R.; Rinder, M.; Urbaniak, S.; et al. Evidence for West Nile Virus and Usutu Virus Infections in Wild and Resident Birds in Germany, 2017 and 2018. *Viruses* **2019**, *11*, 674, doi:10.3390/v11070674.
 113. Robert-Koch-Institut. Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2020. Available online: https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuch_2020.html (accessed on 16.03.2024).
 114. Robert-Koch-Institut. Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2019. Available online:

- <https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuecher/2019.html> (accessed on 16.03.2024).
115. Ahlers, L.R.H.; Goodman, A.G. The Immune Responses of the Animal Hosts of West Nile Virus: A Comparison of Insects, Birds, and Mammals. *Front Cell Infect Microbiol* **2018**, *8*, doi:10.3389/fcimb.2018.00096.
 116. Root, J.J.; Bosco-Lauth, A.M. West Nile Virus Associations in Wild Mammals: An Update. *Viruses* **2019**, *11*, 459, doi:10.3390/v11050459.
 117. DeCarlo, C.; Omar, A.H.; Haroun, M.I.; Bigler, L.; Bin Rais, M.N.; Abu, J.; Omar, A.R.; Mohammed, H.O. Potential Reservoir and Associated Factors for West Nile Virus in Three Distinct Climatological Zones. *Vector Borne Zoonotic Dis* **2017**, *17*, 709-713, doi:10.1089/vbz.2016.2098.
 118. Docherty, D.E.; Samuel, M.D.; Egstad, K.F.; Griffin, K.M.; Nolden, C.A.; Karwal, L.; Ip, H.S. Changes in West Nile Virus Seroprevalence and Antibody Titers among Wisconsin Mesopredators 2003–2006. *Am J Trop Med Hyg* **2009**, *81*, 177-179, doi:<https://doi.org/10.4269/ajtmh.2009.81.177>.
 119. Caliendo, V.; Leijten, L.; van de Bildt, M.; Germeraad, E.; Fouchier, R.A.M.; Beerens, N.; Kuiken, T. Tropism of Highly Pathogenic Avian Influenza H5 Viruses from the 2020/2021 Epizootic in Wild Ducks and Geese. *Viruses* **2022**, *14*, 280, doi:10.3390/v14020280.
 120. Liu, W.J.; Wu, Y.; Bi, Y.; Shi, W.; Wang, D.; Shi, Y.; Gao, G.F. Emerging HxNy Influenza A Viruses. *Cold Spring Harb Perspect Med* **2022**, *12*, a038406, doi:10.1101/cshperspect.a038406.
 121. Runstadler, J.; Hill, N.; Hussein, I.T.; Puryear, W.; Keogh, M. Connecting the Study of Wild Influenza with the Potential for Pandemic Disease. *Infect Genet Evol* **2013**, *17*, 162-187, doi:10.1016/j.meegid.2013.02.020.
 122. Horimoto, T.; Maeda, K.; Murakami, S.; Kiso, M.; Iwatsuki-Horimoto, K.; Sashika, M.; Ito, T.; Suzuki, K.; Yokoyama, M.; Kawaoka, Y. Highly Pathogenic Avian Influenza Virus Infection in Feral Raccoons, Japan. *Emerg Infect Dis* **2011**, *17*, 714-717, doi:10.3201/eid1704.101604.
 123. Yamaguchi, E.; Sashika, M.; Fujii, K.; Kobayashi, K.; Bui, V.N.; Ogawa, H.; Imai, K. Prevalence of Multiple Subtypes of Influenza A Virus in Japanese Wild Raccoons. *Virus Res* **2014**, *189*, 08-13, doi:10.1016/j.virusres.2014.05.004.
 124. Root, J.J.; Bentler, K.T.; Sullivan, H.J.; Blitvich, B.J.; McLean, R.G.; Franklin, A.B. Antibody Responses of Raccoons Naturally Exposed to Influenza A Virus. *Vector Borne Zoonotic Dis* **2010**, *10*, 821-823, doi:10.1089/vbz.2009.0184.
 125. Hall, J.S.; Bentler, K.T.; Landolt, G.; Elmore, S.A.; Minnis, R.B.; Campbell, T.A.; Barras, S.C.; Root, J.J.; Pilon, J.; Pablonia, K.; et al. Influenza Infection in Wild Raccoons. *Emerg Infect Dis* **2008**, *14*, 1842-1848, doi:10.3201/eid1412.071371.
 126. Root, J.J.; Bosco-Lauth, A.M.; Bielefeldt-Ohmann, H.; Bowen, R.A. Experimental Infection of Peridomestic Mammals with Emergent H7N9 (A/Anhui/1/2013) Influenza A Virus: Implications for Biosecurity and Wet Markets. *Virology* **2016**, *487*, 242-248, doi:10.1016/j.virol.2015.10.020.
 127. Roberts, N.M.; Henzler, D.J.; Clark, L. Serologic Evidence of Avian Influenza (H4N6) Exposure in a Wild-Caught Raccoon. *Avian Dis* **2009**, *53*, 455-457, doi:10.1637/8459-082708-ResNote.1.
 128. Hildebrand, J.; Jurczyk, K.; Popiolek, M.; Bunkowska-Gawlik, K.; Perec-Matysiak, A. Occurrence of *Borrelia* sp. among Wild Living Invasive and Native Mesocarnivores in Poland. *Animals (Basel)* **2022**, *12*, 2829, doi:10.3390/ani12202829.
 129. Sultana, T.; Islam, M.R.; Cho, H. Prevalence of *Coxiella burnetii* Infection in Domestic and Wild-animals in Korea Detected by Real-time Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP). *International Journal of Scientific & Engineering Research* **2016**, *7*, 1226–1239.
 130. Inoue, K.; Kabeya, H.; Fujita, H.; Makino, T.; Asano, M.; Inoue, S.; Inokuma, H.; Nogami, S.; Maruyama, S. Serological Survey of Five Zoonoses, Scrub Typhus, Japanese Spotted Fever, Tularemia, Lyme Disease, and Q Fever, in Feral Raccoons (*Procyon lotor*) in Japan. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **2011**, *11*, 15-19, doi:10.1089/vbz.2009.0186.
 131. Volokhov, D.V.; Hwang, J.; Chizhikov, V.E.; Danaceau, H.; Gottdenker, N.L. Prevalence, Genotype Richness, and Coinfection Patterns of Hemotropic Mycoplasmas in Raccoons (*Procyon lotor*) on Environmentally Protected and Urbanized Barrier Islands. *Appl Environ Microbiol* **2017**, *83*, e00211-00217, doi:10.1128/AEM.00211-17.
 132. Nowakiewicz, A.; Zieba, P.; Ziolkowska, G.; Gnat, S.; Muszynska, M.; Tomczuk, K.; Majer Dziedzic, B.; Ulbrych, L.; Troscianczyk, A. Free-Living Species of Carnivorous Mammals in Poland: Red Fox, Beech Marten, and Raccoon as a Potential Reservoir of *Salmonella*, *Yersinia*, *Listeria* spp.

- and Coagulase-Positive *Staphylococcus*. *PLoS One* **2016**, *11*, e0155533, doi:10.1371/journal.pone.0155533.
133. Baldi, M.; Hernandez-Mora, G.; Jimenez, C.; Hutter, S.E.; Alfaro, A.; Walzer, C. Leptospira Seroprevalence Detection and Rabies Virus Absence in an Urban Raccoon (*Procyon lotor*) Population in a Highly Populated Area, Costa Rica. *Vector Borne Zoonotic Dis* **2019**, *19*, 889-895, doi:10.1089/vbz.2019.2444.
134. Guglielmini, J.; Bourhy, P.; Schiettekatte, O.; Zinini, F.; Brisse, S.; Picardeau, M. Genus-Wide *Leptospira* Core Genome Multilocus Sequence Typing for Strain Taxonomy and Global Surveillance. *PLoS Negl Trop Dis* **2019**, *13*, e0007374, doi:10.1371/journal.pntd.0007374.
135. Picardeau, M. Virulence of the Zoonotic Agent of Leptospirosis: Still Terra Incognita? *Nat Rev Microbiol* **2017**, *15*, 297-307, doi:10.1038/nrmicro.2017.5.
136. Hartskeerl, R.A.; Collares-Pereira, M.; Ellis, W.A. Emergence, Control and Re-emerging Leptospirosis: Dynamics of Infection in the Changing World. *Clin Microbiol Infect* **2011**, *17*, 494-501, doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03474.x.
137. Levett, P.N. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* **2001**, *14*, 296-326, doi:10.1128/cmr.14.2.296-326.2001.
138. Straub, M.H.; Church, M.; Glueckert, E.; Foley, J.E. Raccoons (*Procyon lotor*) and Striped Skunks (*Mephitis mephitis*) as Potential Reservoirs of *Leptospira* spp. in California. *Vector Borne Zoonotic Dis* **2020**, *20*, 418-426, doi:10.1089/vbz.2019.2528.
139. Andersen-Ranberg, E.U.; Pipper, C.; Jensen, P.M. Global Patterns of *Leptospira* Prevalence in Vertebrate Reservoir Hosts. *J Wildl Dis* **2016**, *52*, 468-477, doi:10.7589/2014-10-245.
140. Tan, C.G.; Dharmarajan, G.; Beasley, J.; Rhodes, O., Jr.; Moore, G.; Wu, C.C.; Lin, T.L. Neglected Leptospirosis in Raccoons (*Procyon lotor*) in Indiana, USA. *Vet Q* **2014**, *34*, 01-10, doi:10.1080/01652176.2014.909960.
141. Allen, S.E.; Ojkic, D.; Jardine, C.M. Prevalence of Antibodies to *Leptospira* in Wild Mammals Trapped on Livestock Farms in Ontario, Canada. *J Wildl Dis* **2014**, *50*, 666-670, doi:10.7589/2013-11-292.
142. Nau, L.H.; Emirhar, D.; Obiegala, A.; Mylius, M.; Runge, M.; Jacob, J.; Bier, N.; Nöckler, K.; Imholt, C.; Below, D.; et al. Leptospirosis in Germany: Current Knowledge on Pathogen Species, Reservoir Hosts, and Disease in Humans and Animals. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* **2019**, *62*, 1510-1521, doi:10.1007/s00103-019-03051-4.
143. Jansen, A.; Luge, E.; Guerra, B.; Wittschen, P.; Gruber, A.D.; Loddenkemper, C.; Schneider, T.; Lierz, M.; Ehlert, D.; Appel, B.; et al. Leptospirosis in Urban Wild Boars, Berlin, Germany. *Emerg Infect Dis* **2007**, *13*, 739-742, doi:10.3201/eid1305.061302.
144. Fischer, S.; Mayer-Scholl, A.; Imholt, C.; Spierling, N.G.; Heuser, E.; Schmidt, S.; Reil, D.; Rosenfeld, U.M.; Jacob, J.; Nöckler, K.; et al. *Leptospira* Genomespecies and Sequence Type Prevalence in Small Mammal Populations in Germany. *Vector Borne Zoonotic Dis* **2018**, *18*, 188-199, doi:10.1089/vbz.2017.2140.
145. Brockmann, S.; Piechotowski, I.; Bock-Hensley, O.; Winter, C.; Oehme, R.; Zimmermann, S.; Hartelt, K.; Luge, E.; Nöckler, K.; Schneider, T.; et al. Outbreak of leptospirosis among triathlon participants in Germany, 2006. *BMC Infect Dis* **2010**, *10*, 91, doi:10.1186/1471-2334-10-91.
146. Karbowski, G.; Biernat, B.; Stańczak, J.; Werszko, J.; Wróblewski, P.; Szewczyk, T.; Sytykiewicz, H. The Role of Particular Ticks Developmental Stages in the Circulation of Tick-Borne Pathogens in Central Europe. 4. Anaplasmataceae. *Ann Parasitol* **2016**, *62*, 267-284, doi:10.17420/ap6204.62.
147. Jahfari, S.; Coipan, E.C.; Fonville, M.; van Leeuwen, A.D.; Hengeveld, P.; Heylen, D.; Heyman, P.; van Maanen, C.; Butler, C.M.; Földvári, G.; et al. Circulation of Four *Anaplasma phagocytophilum* Ecotypes in Europe. *Parasit Vectors* **2014**, *7*, 365, doi:10.1186/1756-3305-7-365.
148. Woldehiwet, Z. The Natural History of *Anaplasma phagocytophilum*. *Vet Parasitol* **2010**, *167*, 108-122, doi:10.1016/j.vetpar.2009.09.013.
149. Szewczyk, T.; Werszko, J.; Myczka, A.W.; Laskowski, Z.; Karbowski, G. Molecular Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in Wild Carnivores in North-Eastern Poland. *Parasit Vectors* **2019**, *12*, 465, doi:10.1186/s13071-019-3734-y.
150. Müller, M. Untersuchung zur Prävalenz von Frühsommer-Meningoenzephalitis-Viren, von *Borrelia burgdorferi sensu lato* und *Anaplasma phagocytophilum* in Zecken der Art *Ixodes ricinus* in Rheinland-Pfalz und im Saarland (Deutschland). Doctoral Thesis, Universität des Saarlandes, Homburg/Saar, 2017.

151. Huhn, C.; Winter, C.; Wolfsperger, T.; Wüppenhurst, N.; Strašek Smrdel, K.; Skuballa, J.; Pfäffle, M.; Petney, T.; Silaghi, C.; Dyachenko, V.; et al. Analysis of the Population Structure of *Anaplasma phagocytophilum* Using Multilocus Sequence Typing. *PLoS One* **2014**, *9*, e93725, doi:10.1371/journal.pone.0093725.
152. Hildebrand, J.; Buńkowska-Gawlik, K.; Adamczyk, M.; Gajda, E.; Merta, D.; Popiołek, M.; Perek-Matysiak, A. The Occurrence of Anaplasmataceae in European Populations of Invasive Carnivores. *Ticks Tick Borne Dis* **2018**, *9*, 934-937, doi:10.1016/j.ttbdis.2018.03.018.
153. Duscher, T.; Hodžić, A.; Glawischnig, W.; Duscher, G.G. The Raccoon Dog (*Nyctereutes procyonoides*) and the Raccoon (*Procyon lotor*)—their Role and Impact of Maintaining and Transmitting Zoonotic Diseases in Austria, Central Europe. *Parasitol Res* **2017**, *116*, 1411-1416, doi:10.1007/s00436-017-5405-2.
154. Härtwig, V.; von Loewenich, F.D.; Schulze, C.; Straubinger, R.K.; Dausgschies, A.; Dyachenko, V. Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in Red Foxes (*Vulpes vulpes*) and Raccoon Dogs (*Nyctereutes procyonoides*) from Brandenburg, Germany. *Ticks Tick Borne Dis* **2014**, *5*, 277-280, doi:10.1016/j.ttbdis.2013.11.001.
155. Otranto, D.; Deplazes, P. Zoonotic nematodes of wild carnivores. *Int J Parasitol Parasites Wildl* **2019**, *9*, 370-383, doi:10.1016/j.ijppaw.2018.12.011.
156. Karamon, J.; Kochanowski, M.; Cencek, T.; Bartoszewicz, M.; Kusyk, P. Gastrointestinal helminths of raccoons (*Procyon lotor*) in western Poland (Lubuskie province) - with particular regard to *Baylisascaris procyonis*. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* **2014**, *58*, 547-552, doi:10.2478/bvip-2014-0084.
157. Weinstein, S.B.; van Wert, J.C.; Kinsella, M.; Tkach, V.V.; Lafferty, K.D. Infection at an ecotone: cross-system foraging increases satellite parasites but decreases core parasites in raccoons. *Ecology* **2019**, *100*, e02808, doi:10.1002/ecy.2808.
158. Romeo, C.; Cafiso, A.; Fesce, E.; Martinez-Rondan, F.J.; Panzeri, M.; Martinoli, A.; Cappai, N.; Defilippis, G.; Ferrari, N. Lost and found: Helminths infecting invasive raccoons introduced to Italy. *Parasitol Int* **2021**, *83*, 102354, doi:10.1016/j.parint.2021.102354.
159. Lombardo, A.; Diano, M.; Brocherel, G.; Palmerini, L.; Giovannini, S.; Mezher, Z.; Iurescia, M.; Cerci, T.; Caprioli, A.; Eleni, C.; et al. Detection of Endoparasites in Non-Native Raccoons from Central Italy. *Vet Sci* **2023**, *10*, 171, doi:10.3390/vetsci10020171.
160. Davidson, R.K.; Oines, O.; Hamnes, I.S.; Schulze, J.E. Illegal Wildlife Imports More than Just Animals—*Baylisascaris procyonis* in Raccoons (*Procyon lotor*) in Norway. *Journal of Wildlife Diseases* **2013**, *49*, 986-990, doi:10.7589/2012-06-154.
161. Cybulska, A.; Skopek, R.; Kornacka, A.; Popiołek, M.; Piróg, A.; Laskowski, Z.; Moskwa, B. First detection of *Trichinella pseudospiralis* infection in raccoon (*Procyon lotor*) in Central Europe. *Vet Parasitol* **2018**, *254*, 114-119, doi:10.1016/j.vetpar.2018.03.007.
162. Biedrzycka, A.; Popiołek, M.; Zalewski, A. Host-parasite interactions in non-native invasive species are dependent on the levels of standing genetic variation at the immune locus. *BMC Evol Biol* **2020**, *20*, doi:10.1186/s12862-020-01610-x.
163. Bauer, C. Baylisascariosis—Infections of animals and humans with 'unusual' roundworms. *Vet Parasitol* **2013**, *193*, 404-412, doi:10.1016/j.vetpar.2012.12.036.
164. Kazacos, K.R. *Baylisascaris procyonis* and Related Species. In *Parasitic Diseases of Wild Mammals*, Samuel, W.M., Pybus, M.J., Kocan, A.A., Eds.; Iowa State University Press: Iowa, 2001; Volume 2, pp. 301-341.
165. Kazacos, K.R.; Jelicks, L.A.; Tanowitz, H.B. *Baylisascaris larva migrans*. *Handbook of Clinical Neurology* **2013**, *114*, 251-262, doi:10.1016/B978-0-444-53490-3.00020-0.
166. Graeff-Teixeira, C.; Morassutti, A.L.; Kazacos, K.R. Update on Baylisascariasis, a Highly Pathogenic Zoonotic Infection. *Clinical microbiology reviews* **2016**, *29*, 375-399, doi:10.1128/CMR.00044-15.
167. Gavin, P.J.; Kazacos, K.R.; Shulman, S.T. Baylisascariasis. *Clin Microbiol Rev* **2005**, *18*, 703-718, doi:10.1128/cmr.18.4.703-718.2005.
168. Priemer, J.; Lux, E. *Atriotaenia incisa* (Cestoda), a parasite of the badger, *Meles meles*, and the raccoon, *Procyon lotor*, in Brandenburg, Germany. *Can J Zool* **1994**, *72*, 1848-1853, doi:<https://doi.org/10.1139/z94-250>.

169. Matoba, Y.; Yamada, D.; Asano, M.; Oku, Y.; Kitaura, K.; Yagi, K.; Tenora, F.; Asakawa, M. Parasitic helminths from feral raccoons (*Procyon lotor*) in Japan. *Helminthologia* **2006**, *43*, 139-146, doi:10.2478/s11687-006-0027-8.
170. Deplazes, P.; Eichenberger, R.M.; Grimm, F. Wildlife-transmitted *Taenia* and *Versteria* cysticercosis and coenurosis in humans and other primates. *Int J Parasitol Parasites Wildl* **2019**, *9*, 342-358, doi:10.1016/j.ijppaw.2019.03.013.
171. Kelley, S.W.; Horner, N.V. The Prevalence of Cestodes in Raccoons (*Procyon lotor*) from North-Central Texas. *Comparative Parasitology* **2008**, *75*, 292-298, doi:10.1654/4342.1.
172. Scholz, T.; Kuchta, R.; Brabec, J. Broad tapeworms (Diphyllobothriidae), parasites of wildlife and humans: Recent progress and future challenges. *Int J Parasitol Parasites Wildl* **2019**, *9*, 359-369, doi:10.1016/j.ijppaw.2019.02.001.
173. Rentería-Solis, Z.; Hamedy, A.; Michler, F.U.; Michler, B.A.; Lucker, E.; Stier, N.; Wibbelt, G.; Riehn, K. *Alaria alata* mesocercariae in raccoons (*Procyon lotor*) in Germany. *Parasitol Res* **2013**, *112*, 3595-3600, doi:10.1007/s00436-013-3547-4.
174. Steinel, A.; Munson, L.; van Vuuren, M.; Truyen, U. Genetic characterization of feline parvovirus sequences from various carnivores. *Journal of General Virology* **2000**, *81*, 345-350, doi:10.1099/0022-1317-81-2-345.
175. Peters, M.; Mormann, S.; Gies, N.; Rentería-Solis, Z. *Taenia martis* in a white-headed lemur (*Eulemur albifrons*) from a zoological park in North Rhine-Westphalia, Germany. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* **2023**, *44*, 100913, doi:<https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2023.100913>.
176. Leighton, F.A.; Kuiken, T. Bacterial Infections–Leptospirosis. In *Infectious Diseases of Wild Mammals*, Williams, E.S., Barker, I.K., Eds.; Iowa State University Press: Iowa, 2001; Volume 3, pp. 498-502.
177. Davis, M.A.; Evermann, J.F.; Petersen, C.R.; VancerSchalie, J.; Besser, T.E.; Huckabee, J.; Daniels, J.B.; Hancock, D.D.; Leslie, M.; Baer, R. Serological survey for antibodies to *Leptospira* in dogs and raccoons in Washington State. *Zoonoses and Public Health* **2008**, *55*, 436-442, doi:10.1111/j.1863-2378.2008.01137.x.
178. Monello, R.; Gompper, M. Effects of resource availability and social aggregation on the species richness of raccoon endoparasite infracommunities. *Oikos* **2011**, *120*, 1427-1433, doi:10.1111/j.1600-0706.2011.19260.x.
179. Stuen, S.; Granquist, E.G.; Silaghi, C. *Anaplasma phagocytophilum* – a Widespread Multi-Host Pathogen with Highly Adaptive Strategies. *Front Cell Infect Microbiol* **2013**, *3*, 01-33, doi:10.3389/fcimb.2013.00031.
180. Sapp, S.G.H. *Baylisascaris procyonis* Infection Dynamics and Transmission among Wildlife, Domestic Animal, and Human Hosts. Doctoral Thesis, University of Georgia, Athens, 2018.
181. Logiudice, K. Trophically Transmitted Parasites and the Conservation of Small Populations: Raccoon Roundworm and the Imperiled Allegheny Woodrat. *Conservation Biology* **2003**, *17*, 258-266, doi:10.1046/j.1523-1739.2003.01293.x.
182. Lau, C.L.; Smythe, L.D.; Craig, S.B.; Weinstein, P. Climate change, flooding, urbanisation and leptospirosis: fuelling the fire? *Trans R Soc Trop Med Hyg* **2010**, *104*, 631-638, doi:10.1016/j.trstmh.2010.07.002.
183. Timm, S.F.; Munson, L.; Summers, B.A.; Terio, K.A.; Dubovi, E.J.; Rupprecht, C.E.; Kapil, S.; Garcelon, D.K. A suspected canine distemper epidemic as the cause of a catastrophic decline in Santa Catalina Island foxes (*Urocyon littoralis catalinae*). *J Wildl Dis* **2009**, *45*, 333-343, doi:10.7589/0090-3558-45.2.333.
184. Lee, D.W.; Allison, A.B.; Bacon, K.B.; Parrish, C.R.; Daniel, S. Single-Particle Tracking Shows that a Point Mutation in the Carnivore Parvovirus Capsid Switches Binding between Host-Specific Transferrin Receptors. *J Virol* **2016**, *90*, 4849-4853, doi:10.1128/jvi.03204-15.
185. Pope, J.P.; Miller, D.L.; Riley, M.C.; Anis, E.; Wilkes, R.P. Characterization of a novel *Canine distemper virus* causing disease in wildlife. *J Vet Diagn Invest* **2016**, *28*, 506-513, doi:10.1177/1040638716656025.
186. Aberle, S.W.; Kolodziejek, J.; Jungbauer, C.; Stiasny, K.; Aberle, J.H.; Zoufaly, A.; Hourfar, M.K.; Weidner, L.; Nowotny, N. Increase in human West Nile and Usutu virus infections, Austria, 2018. *Euro Surveill* **2018**, *23*, pii=1800545, doi:10.2807/1560-7917.Es.2018.23.43.1800545.
187. Pantchev, N.; Norden, N.; Lorentzen, L.; Rossi, M.; Rossi, U.; Brand, B.; Dyachenko, V. Current surveys on the prevalence and distribution of *Dirofilaria* spp. in dogs in Germany. *Parasitol Res* **2009**, *105*, 63-74, doi:10.1007/s00436-009-1497-7.

188. Cunze, S.; Kochmann, J.; Klimpel, S. Global occurrence data improve potential distribution models for *Aedes japonicus japonicus* in non-native regions. *Pest Manag Sci* **2020**, *76*, 1814-1822, doi:10.1002/ps.5710.
189. Thibeaux, R.; Girault, D.; Bierque, E.; Soupé-Gilbert, M.E.; Rettinger, A.; Douyère, A.; Meyer, M.; Iraola, G.; Picardeau, M.; Goarant, C. Biodiversity of Environmental *Leptospira*: Improving Identification and Revisiting the Diagnosis. *Front Microbiol* **2018**, *9*, 816, doi:10.3389/fmicb.2018.00816.
190. Jenkins, E.J.; Schurer, J.M.; Gesy, K.M. Old problems on a new playing field: Helminth zoonoses transmitted among dogs, wildlife, and people in a changing northern climate. *Vet Parasitol* **2011**, *182*, 54-69, doi:10.1016/j.vetpar.2011.07.015.
191. French, S.K.; Pearl, D.L.; Peregrine, A.S.; Jardine, C.M. *Baylisascaris procyonis* infection in raccoons: A review of demographic and environmental factors influencing parasite carriage. *Vet Parasitol Reg Stud Reports* **2019**, *16*, 100275, doi:10.1016/j.vprsr.2019.100275.
192. Louis, M.E. *Baylisascaris procyonis*, a Zoonotic Threat Requiring an Integrated One Health Approach. Master Thesis, Graduate Faculty of North Carolina State University, Raleigh, 2020.
193. Dupouey, J.; Faucher, B.; Edouard, S.; Richet, H.; Kodjo, A.; Drancourt, M.; Davoust, B. Human Leptospirosis: An Emerging Risk in Europe? *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* **2014**, *37*, 77-83, doi:10.1016/j.cimid.2013.12.002.
194. Mayer-Scholl, A.; Hammerl, J.A.; Schmidt, S.; Ulrich, R.G.; Pfeffer, M.; Woll, D.; Scholz, H.C.; Thomas, A.; Nockler, K. *Leptospira* spp. in rodents and shrews in Germany. *Int J Environ Res Public Health* **2014**, *11*, 7562-7574, doi:10.3390/ijerph110807562.
195. Krücken, J.; Blumke, J.; Maaz, D.; Demeler, J.; Ramunke, S.; Antolova, D.; Schaper, R.; von Samson-Himmelstjerna, G. Small rodents as paratenic or intermediate hosts of carnivore parasites in Berlin, Germany. *PLoS One* **2017**, *12*, e0172829, doi:10.1371/journal.pone.0172829.
196. Root, J.J. West Nile virus associations in wild mammals: a synthesis. *Arch Virol* **2013**, *158*, 735-752, doi:10.1007/s00705-012-1516-3.
197. Maas, M.; Tatem-Dokter, R.; Rijks, J.M.; Dam-Deisz, C.; Franssen, F.; van Bolhuis, H.; Heddergott, M.; Schleimer, A.; Schockert, V.; Lambinet, C.; et al. Population genetics, invasion pathways and public health risks of the raccoon and its roundworm *Baylisascaris procyonis* in northwestern Europe. *Transbound Emerg Dis* **2022**, *69*, 2191-2200, doi:10.1111/tbed.14218.
198. Roussere, G.P.; Murray, W.J.; Raudenbush, C.B.; Kutilek, M.J.; Levee, D.J.; Kazacos, K.R. Raccoon roundworm eggs near homes and risk for larva migrans disease, California communities. *Emerg Infect Dis* **2003**, *9*, 1516-1522, doi:10.3201/eid0912.030039.
199. Page, K.; Beasley, J.C.; Olson, Z.H.; Smyser, T.J.; Downey, M.; Kellner, K.F.; McCord, S.E.; Egan, T.S., 2nd; Rhodes, O.E., Jr. Reducing *Baylisascaris procyonis* roundworm larvae in raccoon latrines. *Emerging infectious diseases* **2011**, *17*, 90-93, doi:10.3201/eid1701.100876.
200. Smyser, T.J.; Page, L.K.; Johnson, S.A.; Hudson, C.M.; Kellner, K.F.; Swihart, R.K.; Rhodes, O.E. Management of raccoon roundworm in free-ranging raccoon populations via anthelmintic baiting. *The Journal of Wildlife Management* **2013**, *77*, 1372-1379, doi:10.1002/jwmg.585.
201. Hartmann, K.; Kohn, B.; Moritz, A.; Schulte, K.H.; Steidl, T.; Straubinger, R.K.; Truyen, U. Leitlinie zur Impfung von Kleintieren. Available online: https://www.openagrar.de/servlets/MCRFileNodeServlet/openagrar_derivate_00044276/Impfleitlinie-Kleintiere_2022-01-01_ba.pdf (accessed on 16.03.2024).
202. Xie, Y.; Zhou, X.; Li, M.; Liu, T.; Gu, X.; Wang, T.; Lai, W.; Peng, X.; Yang, G. Zoonotic *Baylisascaris procyonis* roundworms in raccoons, China. *Emerg Infect Dis* **2014**, *20*, 2170-2172, doi:10.3201/eid2012.140970.
203. Dinerstein, E.; Joshi, A.R.; Vynne, C.; Lee, A.T.L.; Pharand-Deschênes, F.; França, M.; Fernando, S.; Birch, T.; Burkart, K.; Asner, G.P.; et al. A "Global Safety Net" to Reverse Biodiversity Loss and Stabilize Earth's Climate. *Sci. Adv.* **2020**, *6*, eabb2824, doi:10.1126/sciadv.abb2824.
204. Allan, J.R.; Possingham, H.P.; Atkinson, S.C.; Waldron, A.; Di Marco, M.; Adams, V.M.; Butchart, S.H.M.; Kissling, W.D.; Worsdell, T.; Gibbon, G.; et al. Conservation attention necessary across at least 44% of Earth's terrestrial area to safeguard biodiversity. *bioRxiv* **2021**, 839977, doi:10.1101/839977.
205. Convention on Biological Diversity. Kunming-Montreal Global Biodiversity Framework. Available online: <https://www.cbd.int/doc/decisions/cop-15/cop-15-dec-04-en.pdf> (accessed on 16.03.2024).

IX Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen und Instituten danken, die an der Anfertigung meiner Doktorarbeit beteiligt waren und mir dabei den Rücken gestärkt haben.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Reinhard Straubinger, der mich verlässlich und ausgezeichnet betreute und mir die Gelegenheit gab, über mein Wunschthema zu dissertieren. Ein weiterer Dank richtet sich an meine Mentorin Frau Prof. Ute Mackenstedt, für die zur Verfügung gestellten Labormaterialien und Räumlichkeiten sowie ihre kompetente Unterstützung. Außerdem möchte ich mich bei Dr. Robert Fux, Astrid Thomas, Dr. Marion Wassermann, Dr. Thomas Romig, Jessica Härle, Judith Köster, Dr. Andreas Salditt und Dr. Ernst Großmann bedanken, die mir bei den Laborarbeiten und der Anfertigung der Publikationen eine sehr wertvolle Hilfe waren. Des Weiteren bin ich Herrn Dr. Arnold Janosch dankbar dafür, mich auf das Themenfeld aufmerksam gemacht und nützliche Anregungen gegeben zu haben. Zudem hat er durch die Bereitstellung von finanziellen Ressourcen einen Teil der Untersuchungen ermöglicht. Hier soll ebenfalls allen Jäger:innen und Personen gedankt sein, die die Waschbärenakquise für meine Arbeit zuwege gebracht haben. Außerdem spreche ich der Hanns-Seidel Stiftung meinen Dank aus, da ich durch die finanzielle Förderung eines Promotionsstipendiums meine Doktorarbeit fokussiert erstellen und durch das ideelle Angebot Einblicke in interessante Themengebiete erhalten konnte.

Nicht zuletzt danke ich meiner Familie und meinen Freund:innen für das Schaffen von Ausgleichen zur Bildschirmarbeit, für Heiterkeiten und Ermutigungen. In besonderem Maß bin ich schließlich meiner Frau Lena dankbar für ihre Hilfe, Zeit, lieben und bestärkenden Worte und ihr offenes Ohr während der gesamten Promotionszeit.