



RAPPORT

IMPACT VAN OMGEVINGSCONTAMINANTEN OP CORYNEBACTERIUM INFECTIES BIJ EGELS



© Frank Pasmans

Terriere N., Glazemaekers E., Verbrugghe E., Lambrecht J., Rutjens S., Croubels S., Pasmans F., Martel A. 27/06/2022

INHOUDSTABEL

.....	1
RAPPORT	1
IMPACT VAN OMGEVINGSCONTAMINANTEN OP CORYNEBACTERIUM INFECTIES BIJ EGELS	1
1. Inleiding	4
1.1. Egelepidemie in Vlaanderen	4
1.2. Oriënterende studie	4
2. Materiaal en Methodes	5
2.1. Staalname	5
2.1. Toxicologische analyse	5
2.2. Statistische analyse	5
3. Resultaten	6
3.1. Toxicologisch onderzoek	6
3.1.1. Rodenticiden	6
3.1.2. Sporenelementen en zware metalen	8
ARSEEN	9
CADMIUM	9
KOBALT	10
IJZER	10
KOPER	10
LOOD	10
MANGAAN	11
MOLYBDEEN	11
SELENIUM	11
VANADIUM	11
ZINK	11
3.1.3. Herbiciden	11
TEMBOTRIONE	12
MESOTRIONE	12
3.1.4. Insecticiden	13
HEPTACHLOR	13
DDT	14
FIPRONIL	14
ALDRIN/DIELDRIN	14
3.2. Statistisch onderzoek	14

3.2.1. Correlatietesten.....	14
3.2.2. Heeft locatie een invloed op de contaminanten?.....	16
3. Discussie	18
4. Conclusie	18
4. Bronnen	19

1. Inleiding

1.1. Egelepidemie in Vlaanderen

In 2020 was er een sterk verhoogde sterfte bij egels in Vlaanderen. Er werden over heel Vlaanderen circa 6547 egels opgevangen in Vlaamse Opvangcentra (VOC) voor vogels en wilde dieren met een gemiddeld sterftecijfer van 74%. Dit hoog sterftecijfer was te wijten aan moeilijk behandelbare abcessen veroorzaakt door *Corynebacterium ulcerans* (Martel *et al.*, 2021). Ook in 2021 werden grote aantallen dieren met *C. ulcerans* infecties in de VOCs binnengebracht. Het grote aantal *C. ulcerans* infecties bij egels is alarmerend. De oorzaak van deze *C. ulcerans* epidemie is niet gekend en het is niet duidelijk of deze infecties secundair zijn aan een andere, onderliggende oorzaak, of eerder van primair belang zijn. Er is wel een indicatie dat er regionale verschillen bestaan in het voorkomen van de infectie, aangezien er tot op heden nog geen bericht kwam van het VOC in Oostende over *C. ulcerans* besmette egels. Dit in tegenstelling tot andere VOCs.

1.2. Oriënterende studie

Aangezien pesticiden, zware metalen en rodenticiden de immuniteit van egels kunnen aantasten, werd een vergelijkende toxicologische studie uitgevoerd tussen dieren afkomstig uit Oostende en Geraardsbergen. Het doel van deze studie is om na te gaan in hoeverre deze dieren beladen zijn met contaminanten en of er statistische verbanden gevonden kunnen worden tussen verschillende contaminanten onderling en/of in relatie met locatie en *C. ulcerans* infecties. Daarvoor gebruikten we leverstalen van 10 dieren zonder *C. ulcerans* infectie afkomstig uit de regio rond Oostende en 10 dieren met *C. ulcerans* infecties afkomstig uit de regio rond Geraardsbergen. De lever werd onderzocht op aanwezigheid en concentraties van arseen, cadmium, kobalt, ijzer, koper, lood, mangaan, molybdeen, selenium, vanadium en zink. Daarnaast werd via een multiscreeningstechniek (vloeistofchromatografie-tandem massaspectrometrie of LC-MS/MS) de aanwezigheid en concentratie van een 500-tal pesticiden (o.a. alle pesticiden voor landbouwkundig gebruik) opgespoord, waarbij enkel de componenten die aanwezig waren in één of meerdere egels worden besproken. Tenslotte werd de aanwezigheid en concentratie van rodenticiden van de eerste en tweede generatie coumarine- en indaandionderivaten (anticoagulantia) opgespoord in de lever, nl. chloorfacinon, coumatetralyl, warfarine (eerste generatie) en brodifacoum, bromadiolone, difenacoum, difethialon, flocoumafen (tweede generatie).

2. Materiaal en Methoden

2.1. Staalname

Er werden tijdens autopsie leverstalen genomen van 10 egels afkomstig uit het VOC in Geraardsbergen. Deze egels worden in de toxicologische studie GE1 t.e.m. GE10 genoemd (Tabel 1). Zij hadden een klinische *C. ulcerans* infectie die zich vertaalt in abcessen. Daarnaast werden 10 egels afkomstig uit het VOC in Oostende genomen, tot op heden een populatie die gespaard is gebleven van door *C. ulcerans* veroorzaakte abcessen. De leverstalen van deze egels worden in dit verslag OO1 t.e.m. OO10 genoemd (Tabel 1).

2.1. Toxicologische analyse

De leverstalen werden getest op de aanwezigheid en concentraties van sporenelementen en zware metalen via ICP-MS of inductief gekoppelde plasma massaspectrometrie (GD Diergezondheid, Nederland). Via een multiscreeningstechniek (LC-MS/MS) werd de aanwezigheid en concentratie van pesticiden opgespoord in de lever. Levers werden getest op rodenticiden aanwezigheid en concentratie via HPLC-MS/MS (Laboratorium van Farmacologie & Toxicologie, UGent).

2.2. Statistische analyse

Alle statistische analyses werden uitgevoerd in R (v.3.6.2) (R core team, 2018). Normaliteit van de data werd nagegaan via een Shapiro-Wilk test in combinatie met Q-Q plots. Afhankelijk van de verdeling werden (generalized) linear mixed modellen gebruikt ('lme4' package (Bates *et al.*, 2015)) om associaties te testen tussen het voorkomen van *C. ulcerans* (respons variabele) en contaminanten (rodenticiden, sporenelementen en zware metalen, pesticiden als verklarende variabele). In de modellen werd locatie als random factor ingesloten om rekening te houden met de 'niet-onafhankelijkheid' van de egels binnen dezelfde locatie.

3. Resultaten

3.1. Toxicologisch onderzoek

3.1.1. Rodenticiden

Tabel 1: Gemeten concentraties van rodenticiden in de lever van egels (SD = standaarddeviatie), GE = Geraardsbergen, OO = Oostende. ww= wet weight, nd = not detected. Warfarine en chloorfacinon werden niet gedetecteerd in de stalen.

	1 ^{ste} generatie	2 ^{de} generatie				
	coumatetralyl	difenacoum	brodifacoum	flocoumafen	bromadiolone	difethialone
	µg/kg ww	µg/kg ww	µg/kg ww	µg/kg ww	µg/kg ww	µg/kg ww
GE1	nd	nd	nd	nd	nd	nd
GE2	nd	2	2	nd	0,1	0,1
GE3	nd	nd	0,1	nd	nd	nd
GE4	nd	20	0,1	0,1	nd	nd
GE5	nd	5	nd	0,1	nd	nd
GE6	nd	nd	4	0,1	nd	nd
GE7	nd	17	68	1	0,1	0,1
GE8	nd	1	0,1	0,1	nd	nd
GE9	nd	0,1	nd	nd	nd	nd
GE10	nd	4	235	1	8	18
Gemiddelde GE1-10 ±SD	nd	4,91±7,41	30,93±74,76	0,24±0,40	0,82±2,52	1,82±5,69
OO1	nd	340	3	0	590	nd
OO2	nd	nd	nd	nd	nd	nd
OO3	nd	95	0,1	1	16	nd
OO4	nd	1	nd	nd	nd	nd
OO5	nd	2	nd	nd	30	nd
OO6	1	22	52	nd	3	nd
OO7	nd	nd	nd	nd	nd	nd
OO8	0,1	12	14	nd	nd	nd
OO9	nd	nd	nd	nd	nd	nd
OO10	1	nd	0,1	nd	nd	nd
Gemiddelde OO1-10 ± SD	0,21±0,42	47,2±106,97	6,92±16,43	0,1±0,32	63,9±185,12	nd
Gemiddelde alle dieren en SD	0,11±0,35	26,06±76,92	18,93±54,10	0,17±0,36	32,36±131,47	0,91±4,02

Tabel 2: Percentage van dieren waar rodenticiden werden teruggevonden; 0 µg/kg ; <1 µg/kg; 1-10 µg/kg; 10-200 µg/kg; 200-1000 µg/kg; >1000 µg/kg.

	1 ^{ste} generatie	2 ^{de} generatie				
	coumatetralyl	difenacoum	brodifacoum	flocoumafen	bromadiolone	difethialone
µg/kg ww	%	%	%	%	%	%
0	85	35	40	65	65	85
<1	5	5	25	20	10	10
1-10	10	40	20	15	10	0
10-200	0	15	10	0	10	5
200-1000	0	5	5	0	5	0
>1000	0	0	0	0	0	0

Diagnose van een klinische rodenticiden intoxicatie wordt gesteld op basis van de aanwezigheid van hemorragieën/ bloedingen op autopsie en het voorkomen van anticoagulantia in de lever. Uniforme referentiewaarden voor lethale concentraties van anticoagulantia in de lever zijn niet beschikbaar in de literatuur.

In de literatuur is reeds resistentie tegen rodenticiden beschreven, maar enkel in target diersoorten (omnivoren), waaronder de bruine rat en de huismuis (Buckle en Smith, 2015; Shore en Coeurdassier, 2018). Er kan echter niet uitgesloten worden dat deze resistentie niet (deels) optreedt bij egels.

In deze studie waren bij alle onderzochte egels bloedingen afwezig en werden voornamelijk tweede generatie anticoagulantia teruggevonden in de lever. Als de totale concentraties (2^{de} generatie) opgeteld worden per egel, kan procentueel de volgende opdeling gemaakt worden: 35% tussen 0 – 1 µg/kg; 55% tussen 1 - 200 µg/kg; 10% tussen 200 - 1000 µg/kg.

Rodenticiden zorgen in onze bestudeerde egels vermoedelijk niet voor acute toxiciteit (geen aanwezigheid van bloedingen op autopsie), maar potentieel voor chronische sub-lethale toxiciteit. Studies bij predatoren tonen nadelige effecten aan bij sub-lethale concentraties, zowel op individueel als op populatieniveau. Deze concentraties kunnen resulteren in een verlaagde fitheid van het individu (verminderde reproductie, gewichtsverlies en immunosuppressie) (López-Perea en Mateo, 2018; Roos *et al.*, 2021). Immunosuppressie kan potentieel de egels vatbaarder maken voor infecties.

3.1.2. Sporenelementen en zware metalen

Tabel 3: Gemeten concentraties van sporenelementen en zware metalen in de lever van egels, GE = Geraardsbergen, OO = Oostende. ds = droge stof.

	As	Cd	Co	Fe	Cu	Pb	Mn	Mo	Se	V	Zn
	mg/kg ds	mg/kg ds	mg/kg ds	mg/kg ds	mg/kg ds	mg/kg ds	mg/kg ds	mg/kg ds	mg/kg ds	mg/kg ds	mg/kg ds
GE1	0,3	5	0,29	611	71	3,5	16,2	7,9	3,8	0,6	1007
GE2	0	4,6	0,42	4360	83	5,9	13,8	5,4	7,1	0,8	1449
GE3	0,5	4,4	0,23	1697	43	1,2	9,2	3	2,3	0	541
GE4	0	3	0,23	1966	31	0,7	14,2	4,1	3	0	427
GE5	0	6,1	0,27	3065	57	1,6	14,4	5,9	3,2	0,3	1478
GE6	0	2,3	0,39	1881	100	0,8	6,2	2,3	1,6	0	566
GE7	0	3,5	0	1378	27	2	8,3	2,5	1,5	0	510
GE8	0	4,7	0	3042	75	1,8	11,4	2,3	2,6	0	738
GE9	0	2,8	0,26	1262	69	2,1	11,5	3,6	2,6	0	983
GE10	0	4	0	1515	42	1,9	11,5	3,1	2,2	0	489
Gemiddelde GE1-10 ±SD	0.08±0.18	4.04±1.15	0.21±0.16	2077.7±1102.14	59.8±23.82	2.15±1.54	11.67±3.1	4.01±1.85	2.99±1.6	0.17±0.3	818.8±394.31
OO1	0	2,9	0	827	18	0,7	6,3	3,4	1	0	426
OO2	0	1,9	0	951	23	1,9	4,9	1,5	1,1	0	283
OO3	0,2	3,2	0,24	4599	31	1,5	7,1	4,2	8,1	1,2	491
OO4	0	4,1	0,27	1086	194	3	6,8	8,2	2,5	0	747
OO5	0	2	0	641	29	1,6	6	5,2	3,2	0	216
OO6	0,2	2,6	0	659	39	4,3	10,1	6,9	2,2	0,2	495
OO7	0	1,3	0	3775	22	4,4	9,4	6,1	3,7	0,3	590
OO8	0,3	4,1	3,56	2703	45	4,1	15,6	4,9	3,3	0,3	1044
OO9	0	0,8	0	938	34	0,8	11,8	6,2	2,1	0	254
OO10	0	3	44,03	788	34	3	4,4	4,7	2,7	0	125
Gemiddelde OO1-10 ±SD	0.07±0.12	2.59±1.1	4.81±13.82	1696.7±1454.24	46.9±52.32	2.53±1.42	8.24±3.5	5.13±1.88	2.99±2	0.2±0.37	467.1±276.62
Gemiddelde alle dieren ±SD	0.08±0.14	3.3±1.32	2.51±9.8	1887.2±1270.96	53.35±40.12	2.34±1.45	9.96±3.66	4.57±1.9	2.99±1.76	0.19±0.33	643±377.42

Als referentie werden artikels gebruikt met de egel als studiedier, respectievelijk uit Vlaanderen (D'Havé *et al.*, 2006), Finland (Rautio *et al.*, 2010a) en Italië (Alleva *et al.*, 2006). Voornamelijk de Vlaamse studie van D'Havé *et al.* (2006) is een waardevolle referentie waarbij 44 egels afkomstig uit verschillende Opvangcentra voor Vogels en Wilde Dieren in Brussel en Vlaanderen (Anderlecht, Malderen, Oostende en Opglabbeek) werden bemonsterd. Een belangrijke factor inzake de accumulatie van zware metalen, zijnde de leeftijd van de dieren, werd echter niet vermeld. Dit wil zeggen dat enige behoedzaamheid geboden is bij de vergelijking van de Vlaamse resultaten. Een leeftijdsvermelding was wel aanwezig bij de Finse egels (Rautio *et al.*, 2010a), die afhankelijk van het geslacht gemiddeld 1.5 tot 1.7 jaar oud zijn. Ook hier zijn we voorzichtig in de vergelijking met egels uit onze studie, die gemiddeld 2.2 jaar oud zijn.

Tabel 4: Gemeten concentraties van sporenelementen en zware metalen in de lever van egels, in vergelijking met drie andere egelstudies

Gemiddelde \pm SD leverconcentratie	As	Cd	Co	Fe	Cu	Pb
	mg/kg ds	mg/kg ds	mg/kg ds	mg/kg ds	mg/kg ds	mg/kg ds
UGent studie	0.08 \pm 0.14	3.3 \pm 1.32	2.51 \pm 9.8	1887.2 \pm 1270.96	53.35 \pm 40.12	2.34 \pm 1.45
D'Havé et al. (2006)	0.69 \pm 0.85	13.39 \pm 20.27	0.40 \pm 0.26	2339 \pm 1830.24	64 \pm 39.36	10.9 \pm 12.46
Rautio et al. (2010)	0.45 \pm 0.15	1.81 \pm 1.52		1023.69 \pm 499.87	18.53 \pm 6.71	1.03 \pm 0.76
Alleva et al. (2006)		0.34				0.79

Gemiddelde \pm SD leverconcentratie	Mn	Mo	Se	V	Zn
	mg/kg ds	mg/kg ds	mg/kg ds	mg/kg ds	mg/kg ds
UGent studie	9.96 \pm 3.66	4.57 \pm 1.9	2.99 \pm 1.76	0.19 \pm 0.33	643 \pm 377.42
D'Havé et al. (2006)					371 \pm 17.71
Rautio et al. (2010)	6.33 \pm 0.91	2.55 \pm 114.83	2.40 \pm 0.53		228.97 \pm 130.76
Alleva et al. (2006)					

ARSEEN

De gemiddelde As-concentratie bedraagt 0.08 mg/kg ds. Dit ligt tot 5.6 maal lager dan de concentraties teruggevonden bij Finse egels (Rautio *et al.*, 2010a) en 8.6 maal lager dan de egels uit de studie van D'Havé *et al.* (2006). De teruggevonden concentraties worden niet geacht schadelijk te zijn voor de egels. Een experimentele studie naar chronische toxiciteit van arseen bij ratten toonde een leverconcentratie van 5.45 mg/kg bij blootgestelde ratten, vergeleken met een controlegroep die niet werd blootgesteld en leverwaarden had van 0.32 mg/kg. De egels in onze studie scoren in vergelijking met niet-blootgestelde proefratten nog eens 4 maal lager (Nandi *et al.*, 2005).

CADMIUM

De egels vertonen Cd-leverconcentraties van gemiddeld 3.5 mg/kg ds. Dit is in vergelijking met andere Vlaamse egels (D'Havé *et al.*, 2006) met een vervuilingniveau van 13.39 mg/kg ds (min. 0.1 – max. 124 mg/kg ds) tot 4 maal lager. Dit grote verschil lijkt te wijten te zijn aan grote uitschieters bij D'Havé *et al.* (2006) daar een standaarddeviatie van 20.27 gemeten werd, wat ongeveer 20 maal hoger ligt dan onze standaarddeviatie. Cd stapelt zich op in de lever, naarmate de leeftijd van de egel verhoogt (Rautio *et al.*, 2010a). De hogere concentraties bij enkel dieren uit D'Havé *et al.* (2006) zouden te verklaren kunnen zijn door leeftijdsgebonden accumulatie. Echter, werd de leeftijd van de dieren niet vermeld. Het lijkt ons evenwel onwaarschijnlijk dat de leeftijd van de 44 egels uit D'Havé *et al.* (2006) zo veel hoger zou liggen dan onze egels van gemiddeld 2.2 jaar oud, gezien de ecologie van het dier. Zelfs al bestaat de groep egels uit dieren van gemiddeld 5 jaar oud, dan lijkt een Cd-vermeerdering met factor 4 ons niet evenredig met een leeftijd-vermeerdering van factor 2. Doch, dergelijke wiskundige verbanden kunnen niet teruggevonden worden in de literatuur.

Rautio *et al.* (2010) vonden bij Finse egels gemiddeld 1.81 mg/kg ds Cd terug in de lever. Zij beschouwen dit als een lage hoeveelheid, aangezien de egels kwamen uit een niet-gecontamineerd gebied. De egels uit onze studie vertonen dus tot 2 maal meer Cd in hun lever, maar zijn ook 1.4 maal ouder wat de hogere Cd-concentraties zou kunnen verklaren. De

standaarddeviatie van de Finse egels is vergelijkbaar met onze studie. Tenslotte vond Alleva *et al.* (2006) in Italië gemiddeld 0.35 mg/kg ds Cd bij egels afkomstig uit sterk gecultiveerd landschap onderhevig aan antropogene invloeden. In vergelijking met buitenlandse studies hebben we dus eerder te maken met hogere concentraties, doch in vergelijking met een andere studie uit Vlaanderen scoren onze egels laag. Echter, ook een chronische blootstelling aan deze lage hoeveelheden kan een invloed hebben op de gezondheid van egels, bijvoorbeeld gevoeliger maken voor infecties (zie discussie).

KOBALT

De egels vertonen Co-concentraties van gemiddeld 2.51 mg/kg ds. Dit is tot 6 maal meer dan de Vlaamse egels (0.40 mg/kg) die geacht worden laag tot gemiddeld gecontamineerd te zijn (D'Havé *et al.*, 2006). Onze hogere waarde is te wijten aan egel OO10 die uitschiet met 44 mg/kg. De toxicologische referentiewaarde van kobalt bij kleine zoogdieren bedraagt 7.33 mg/kg lichaamsgewicht (USEPA, 2005).

IJZER

De gemiddelde Fe-concentratie bij egels bedraagt 1886.85 mg/kg. Deze waarde ligt bijna dubbel zo hoog (1.8 maal) in vergelijking met de Finse egels (1023.69 mg/kg) (Rautio *et al.*, 2010), maar wel lager dan de andere Vlaamse egels (2339 mg/kg) (D'Havé *et al.*, 2006). IJzer is een essentieel element die vanaf een kritische drempelwaarde, die verschilt per diersoort en afhankelijk kan zijn van leeftijd, lichaamsconditie en geslacht, toch toxisch kan zijn (Shore en Rattner, 2001). IJzerwaarden bij de grote bosmuis (een omnivoor) van 134.4 tot 536.4 mg/kg ds in de lever, worden door de auteurs (Damek-Poprawa en Sawicka-Kapusta, 2003) als 'binnen het fysiologisch bereik' gerekend. Of de ijzerwaarden in onze egels (insectivoren) te hoog zijn is onduidelijk. Het is echter niet onwaarschijnlijk dat insectivoren (zoals de egel) hogere concentraties kunnen opstapelen dan omnivoren (bosmuizen), zoals gekend bij andere zware metalen.

KOPER

De gemiddelde Cu-concentratie bedraagt 53.4 ± 40.12 mg/kg ds, wat vergelijkbaar is met de Vlaamse egels uit D'Havé *et al.* (2006) (64 ± 39.36 mg/kg), maar wel 2.8 maal hoger ligt in vergelijking met de Finse egels (18.53 ± 6.71 mg/kg) (Rautio *et al.*, 2010b). Als we de leverconcentraties vergelijken met waarden van bosspitsmuizen uit de Ural, dan zien we dat onze waarden nog eens 2 maal hoger liggen dan de waarden van bosspitsmuizen uit vervuilde gebieden (24.2 ± 55.84 mg/kg) (Kovalchuk en Mikshevich, 2017). De standaarddeviaties bij Vlaamse egels en Ural bosspitsmuizen zijn gelijkaardig, dit doet ons vermoeden dat Vlaamse egels te maken hebben met hogere koperconcentraties vergeleken met het buitenland. Echter, wijst de literatuur aan dat hoge zinkconcentraties de mogelijke toxische effecten van koper kunnen reduceren, zoals aangetoond bij andere diersoorten (Bremner en Beattie, 1995). Dit is dus een beschermingseffect die bij onze egels van toepassing zou kunnen zijn aangezien we ook zeer hoge zinkconcentraties hebben gemeten.

LOOD

De halfwaardetijd van lood in weke delen bedraagt 3 tot 4 weken (Cooke *et al.*, 1990). In tegenstelling tot andere zware metalen, zijn de teruggevonden weefselconcentraties dus een weergave van een recente blootstelling (Cooke *et al.*, 1990). Er werden Pb-concentraties gevonden met een gemiddelde van 2.34 mg/kg ds. Dit ligt onder de historische kritische drempelwaarde van 5 mg/kg ds verantwoordelijk voor loodintoxicatie bij kleine zoogdieren (Ma, 1996). Echter, heden ten dage wordt elke blootstelling aan lood als potentieel toxisch beschouwd (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), 2010). De Pb-concentratie ligt tot 5 maal lager dan deze uit andere Vlaamse egels (10.9 mg/kg) (D'Havé *et al.*, 2006) afkomstig uit Antwerpen, maar dit kan te wijten zijn aan een veel lagere standaarddeviatie in onze studie (1.45 versus 12.46).

MANGAAN

De gemiddelde Mn-concentratie bedraagt 9.96 mg/kg ds. Dit is 1.6 maal hoger dan de concentraties teruggevonden bij Finse egels (6.33 mg/kg) (Rautio *et al.*, 2010). Als essentieel element is het nodig voor de dierlijke fysiologie, echter in te hoge concentraties kan het schadelijk zijn. Een mogelijk toxisch effect van mangaan is secundaire ijzerdeficiëntie. In deze studie is hier echter geen aanwijzing voor.

MOLYBDEEN

De gemiddelde Mo-concentratie bedraagt 4.57 mg/kg ds en ligt hoger dan de concentraties bij Finse egels (2.55 mg/kg) (Rautio *et al.*, 2010). Het element wordt geacht een beschermend effect te hebben tegen Cd-toxiciteit, een correlatie aangetoond door Rautio *et al.* (2010). De hogere concentraties zouden dus ook hier in verband gebracht kunnen worden met de hogere concentraties aan Cd bij Vlaamse egels en eerder een positieve bijdrage leveren dan een negatieve, zoals vooropgesteld in Rautio *et al.* (2010).

SELENIUM

De gemiddelde Se-concentratie (2.99 mg/kg ds) ligt in lijn met de concentraties bij Finse egels (2.40 mg/kg) (Rautio *et al.*, 2010). Het is echter niet duidelijk of selenium in deze concentratie een positieve of negatieve invloed heeft op de gezondheid van de egels. Bij zoogdieren heeft Se namelijk een beschermend effect tegen de toxiciteit van Cd (Wlodarczyk *et al.*, 1995), terwijl Zwolak (2015) aantoonde dat Se mogelijks de cytotoxiciteit van vanadium verhoogt.

VANADIUM

De V-concentratie bedraagt gemiddeld 0.17 mg/kg ds. Er bestaat geen referentiemateriaal om deze waarden te vergelijken met andere egels. De literatuur toont wel aan dat weefselconcentraties bij zoogdieren diersoort- en locatie afhankelijk zijn. Onze gemeten waarden lijken wel in lijn te liggen met concentraties gemeten bij andere landzoogdieren uit niet-gecontamineerde gebieden (Ścibior *et al.*, 2021).

ZINK

De gemeten Zn-concentraties (643 mg/kg ds) zijn hoog in vergelijking met Finse (228.97 mg/kg) en Vlaamse egels (371 mg/kg), respectievelijk 2.8 tot 1.7 maal hoger. Dit is tevens veel hoger dan referentiewaarden bij bosspitsmuizen gemeten in niet-gecontamineerde (28.2 mg/kg) en gecontamineerde gebieden (69.4 mg/kg) (Kovalchuk en Mikshevich, 2017). Het is reeds aangetoond dat Zn en Cd in competitie gaan voor binding met metalloproteïnen in de lever (Cooke, 2011). De hoge Zn concentraties hier gemeten zouden dus opnieuw, zoals bij Se en Mo, een reductie in Cd-toxiciteit kunnen teweegbrengen. Bovendien zorgt diëtair Cd voor een verhoogde gastro-intestinale opname van Zn (Kabata-Pendias en Pendias, 1999). Of deze hoge Zn-concentraties verder toxisch zijn voor egels is onduidelijk. Zn wordt normaal via homeostatische mechanismen gecontroleerd in het lichaam, maar een mogelijk subklinisch effect op de gezondheid van egels valt met deze concentraties volgens ons niet uit te sluiten. Een studie van Carpenter *et al.* (2004) toont namelijk een klinische zink-intoxicatie aan bij een chronisch blootgestelde trompetzwaan die een lever Zn-concentratie van 154 mg/kg had.

3.1.3. Herbiciden

Voor tembotrione en mesotrione werden meetbare concentraties teruggevonden in de levers van de egels.

Tabel 5: Gemeten concentraties van herbiciden in de lever van egels, GE = Geraardsbergen, OO = Oostende. ww= wet weight

	tembotrione	mesotrione
	mg/kg ww	mg/kg ww
GE1	0,038	0
GE2	0,56	0,48
GE3	0	0
GE4	0,026	0
GE5	0,028	0,16
GE6	0,019	0
GE7	0,069	0,012
GE8	0,32	0,072
GE9	0,024	0
GE10	0,37	0,15
Gemiddelde GE1-10 ± SD	0,15±0,20	0,087±0,15
OO1	0,084	0,014
OO2	0,02	0
OO3	0,98	0,013
OO4	0	0
OO5	0,011	0
OO6	0,12	0,044
OO7	0,2	0,037
OO8	0,65	0,025
OO9	0,043	0
OO10	0,016	0
Gemiddelde OO1-10 ± SD	0,21±0,33	0,013±0,017
Gemiddelde alle dieren ±SD	0,17±0,27	0,05±0,11

TEMBOTRIONE

Via toxicologisch onderzoek kon in de lever van 90% van de egels tembotrione gedetecteerd worden, met een gemiddelde waarde van 0,17 mg/kg. Het EFSA (European Food Safety Authority) legt een MRL (Maximum Residue Limit) op van 0,01-0,15 mg/kg (species afhankelijk, varken, paard en rund) in levers voor humane consumptie (EFSA, 2018). De concentraties van onze egels situeren zich rond deze limiet, met 0,98 mg/kg als hoogste waarde. Er zijn echter te weinig referentiewaarden aanwezig in de literatuur om conclusies m.b.t. toxiciteit bij de egels te kunnen trekken (Zaller en Brühl, 2021).

MESOTRIONE

In 50% van de levers van de egels kon mesotrione gedetecteerd worden, met een gemiddelde waarde van 0,05 mg/kg. De MRL van vlees voor humane consumptie bedraagt 0,01 mg/kg (EFSA, 2016; Mesnage en Antoniou, 2021). Waarden van de egels situeren zich licht boven

deze limiet, met 0,48 mg/kg als hoogste waarde. Ook hier ontbreken referentiewaarden in de literatuur om de klinische relevantie van dit herbicide te kunnen bepalen.

3.1.4. Insecticiden

Meetbare concentraties van de insecticiden heptachlor, DDT, fipronil en aldrin/dieldrin gedetecteerd konden worden in de levers van de egels.

Tabel 6: Gemeten concentraties van insecticiden in de lever van egels, GE = Geraardsbergen, OO = Oostende. ww = wet weight

	heptachlor	DDT	fipronil	aldrin/dieldrin
	mg/kg ww	mg/kg ww	mg/kg ww	mg/kg ww
GE1	0	0	0	0
GE2	0,011	0	0	0
GE3	0,036	0,023	0	0
GE4	0	0	0	0
GE5	0	0	0	0
GE6	0	0	0	0
GE7	0	0	0	0
GE8	0	0	0	0
GE9	0	0	0	0
GE10	0	0	0,018	0
Gemiddelde ± SD	0,005±0,012	0,002±0,007	0,002±0,0057	0
OO1	0	0	0	0
OO2	0	0	0	0
OO3	0	0	0,015	0
OO4	0	0	0	0
OO5	0	0	0	0
OO6	0	0	0	0
OO7	0	0	0,99	0,011
OO8	0	0	0	0
OO9	0	0	0	0
OO10	0	0	0	0
Gemiddelde ± SD	0	0	0,1±0,31	0,0011±0,0035
Gemiddelde ± SD	0,002±0,0083	0,001±0,005	0,051±0,22	0,001±0,0025

Chemicaliën zoals heptachlor, DDT en aldrin/dieldrin zijn reeds geruime tijd verboden in Europa. Ten gevolge van het slecht afbreekbaar karakter van deze producten (POPs), kunnen er in een beperkt aantal egels nog lage concentraties insecticiden gedetecteerd worden, met beperkte klinische relevantie.

HEPTACHLOR

In 10% van de levers van de egels kon heptachlor gedetecteerd worden, met een gemiddelde concentratie van 0,002 mg/kg. In een studie over hazen werd 0,2 mg/kg heptachlor in levervet aanschouwd als grenswaarde voor sub-lethale effecten (Rimkus en Wolf, 1987). De levers van

de egels bevatten concentraties die lager zijn dan deze limiet en worden als niet toxisch aanschouwd.

DDT

In slechts één egel werd DDT gedetecteerd in de lever en in lage concentratie, 0,023 mg/kg. MRL voor humane consumptie van levers bedraagt 1 mg/kg (Schanzer *et al.*, 2021). Andere studies bij egels vonden leverwaarden van 0,01-0,02 mg/kg (Hernández *et al.*, 1985), waarbij geen negatieve effecten opgemerkt werden. Onze waarden worden dus als niet schadelijk bevonden.

FIPRONIL

In de levers van 15% van de egels kon fipronil teruggevonden worden, met een gemiddelde concentratie van 0,051 mg/kg. De MRL voor levers voor humane consumptie bedraagt 0,005 mg/kg (Hingmire *et al.*, 2015; Schanzer *et al.*, 2021). Er kan geen uitsluitel gegeven worden over de oorsprong van de fipronil besmetting. Mogelijks zijn de aangetoonde concentraties aan fipronil afkomstig van het sporadisch gebruik in de VOC's of via het contact met honden/katten.

ALDRIN/DIELDRIN

In de lever van één egel kon 0,011 mg/kg aldrin/dieldrin gedetecteerd worden. De MRL voor levers voor humane consumptie bedraagt 0,2 mg/kg (Schanzer *et al.*, 2021). In andere studies bij egels werden waarden van $0,0032 \pm 0,0003$ mg/kg (aldrin) en $0,057 \pm 0,008$ mg/kg (dieldrin) gedetecteerd in spierweefsel (Arikan en Turan, 2018), zonder toxiciteit. Hierdoor kunnen we aannemen dat de ene egel van onze studie, lage, niet-toxische waarden bezit.

3.2. Statistisch onderzoek

3.2.1. Correlatietesten

Een Spearman correlatietest toont aan dat er een matig tot sterk verband is tussen bepaalde contaminanten en dit voornamelijk tussen contaminanten uit dezelfde cluster (rodenticiden-sporenelementen/zware metalen-herbiciden) (Tabel 7). Dit wijst aan dat de aanwezigheid van één product in een egel gepaard kan gaan met de aanwezigheid van andere producten binnen dezelfde klasse contaminanten in diezelfde egel. Rekening houdende met het aantal positieve stalen is er een sterke correlatie te zien tussen vanadium en selenium (Figuur 1). Daarenboven komen er ook milde correlaties (correlatie coëfficiënt [0.4 - 08] voor tussen de verschillende clusters, met name verschillende sporenelementen/zware metalen (ijzer, lood, selenium, vanadium en zink) en herbiciden; arseen en insecticiden; cobalt en coumatetralyl; tembotrione en flocoumafen.

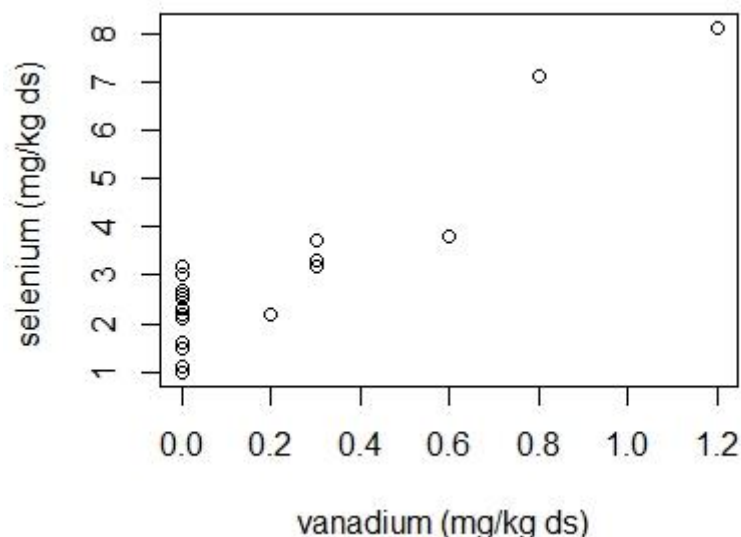
Tabel 7: Resultaten Spearman correlatietest per cluster. Significante interacties worden in het vet weergegeven en sterke interacties met een correlatie coëfficiënt ($R > 0.9$) worden met een grijze achtergrond aangeduid.

Rodenticiden		coumatetralyl	difenacoum	brodifacoum	flocoumafen	bromadiolone	difethialone
coumatetralyl	Spearman Rho	1,000	-0,070	0,044	-0,170	-0,085	-0,081
	P-waarde		0,768	0,855	0,473	0,722	0,733
difenacoum	Spearman Rho	-0,070	1,000	-0,069	0,057	0,965	-0,068
	P-waarde	0,768		0,774	0,811	0,000	0,775
brodifacoum	Spearman Rho	0,044	-0,069	1,000	0,646	-0,062	0,941
	P-waarde	0,855	0,774		0,002	0,794	0,000
flocoumafen	Spearman Rho	-0,170	0,057	0,646	1,000	-0,096	0,545
	P-waarde	0,473	0,811	0,002		0,689	0,013
bromadiolone	Spearman Rho	-0,085	0,965	-0,062	-0,096	1,000	-0,044
	P-waarde	0,722	0,000	0,794	0,689		0,853
difethialone	Spearman Rho	-0,081	-0,068	0,941	0,545	-0,044	1,000
	P-waarde	0,733	0,775	0,000	0,013	0,853	

Sporenelementen/zware metalen		arseen	cadmium	cobalt	ijzer	koper	lood	mangaan	molybdeen	selenium	vanadium	zink
arseen	Spearman Rho	1,000	0,307	0,091	0,018	0,088	0,133	0,263	0,135	0,176	0,301	0,114
	P-waarde		0,188	0,703	0,939	0,712	0,577	0,263	0,571	0,457	0,198	0,631
cadmium	Spearman Rho	0,307	1,000	0,038	0,268	0,356	0,183	0,496	0,112	0,241	0,268	0,712
	P-waarde	0,188		0,873	0,254	0,123	0,439	0,026	0,639	0,307	0,254	0,000
cobalt	Spearman Rho	-0,091	-0,038	1,000	0,187	0,109	0,132	-0,325	0,022	-0,028	-0,119	-0,295
	P-waarde	0,703	0,873		0,430	0,647	0,580	0,162	0,926	0,905	0,616	0,207
ijzer	Spearman Rho	0,018	0,268	0,187	1,000	0,002	0,294	0,275	-0,060	0,750	0,676	0,492
	P-waarde	0,939	0,254	0,430		0,993	0,208	0,241	0,803	0,000	0,001	0,027
koper	Spearman Rho	-0,088	0,356	0,109	0,002	1,000	0,189	0,035	0,369	0,046	-0,025	0,394
	P-waarde	0,712	0,123	0,647	0,993		0,426	0,882	0,109	0,848	0,918	0,086
lood	Spearman Rho	0,133	0,183	0,132	0,294	0,189	1,000	0,297	0,496	0,420	0,423	0,464
	P-waarde	0,577	0,439	0,580	0,208	0,426		0,203	0,026	0,066	0,063	0,039
mangaan	Spearman Rho	0,263	0,496	0,325	0,275	0,035	0,297	1,000	0,336	0,259	0,274	0,686
	P-waarde	0,263	0,026	0,162	0,241	0,882	0,203		0,148	0,270	0,242	0,001
molybdeen	Spearman Rho	0,135	0,112	0,022	0,060	0,369	0,496	0,336	1,000	0,291	0,305	0,286
	P-waarde	0,571	0,639	0,926	0,803	0,109	0,026	0,148		0,213	0,191	0,221
selenium	Spearman Rho	0,176	0,241	0,028	0,750	0,046	0,420	0,259	0,291	1,000	0,915	0,395
	P-waarde	0,457	0,307	0,905	0,000	0,848	0,066	0,270	0,213		0,000	0,084
vanadium	Spearman Rho	0,301	0,268	0,119	0,676	0,025	0,423	0,274	0,305	0,915	1,000	0,426
	P-waarde	0,198	0,254	0,616	0,001	0,918	0,063	0,242	0,191	0,000		0,061
zink	Spearman Rho	0,114	0,712	0,295	0,492	0,394	0,464	0,686	0,286	0,395	0,426	1,000
	P-waarde	0,631	0,000	0,207	0,027	0,086	0,039	0,001	0,221	0,084	0,061	

Herbiciden		tembotrion	meso- trione	heptachlor	DDT	fipronil	aldrin/ dieldrin
tembotrion	Spearman Rho	1,000	0,378	-0,053	-0,157	0,032	0,078
	P-waarde		0,101	0,824	0,509	0,893	0,751
mesotrione	Spearman Rho	0,378	1,000	0,165	-0,106	-0,026	-0,032
	P-waarde	0,101		0,486	0,656	0,915	0,895
heptachlor	Spearman Rho	-0,053	0,165	1,000	0,955	-0,069	-0,070
	P-waarde	0,824	0,486		0,000	0,772	0,774
DDT	Spearman Rho	-0,157	-0,106	0,955	1,000	-0,054	-0,056
	P-waarde	0,509	0,656	0,000		0,820	0,821
fipronil	Spearman Rho	0,032	-0,026	-0,069	-0,054	1,000	1,000
	P-waarde	0,893	0,915	0,772	0,820		0,000
aldrin/dieldrin	Spearman Rho	0,078	-0,032	-0,070	-0,056	1,000	1,000
	P-waarde	0,751	0,895	0,774	0,821	0,000	

Figuur 1: Scatterplot die de lineaire relatie tussen vanadium en selenium aantoon.

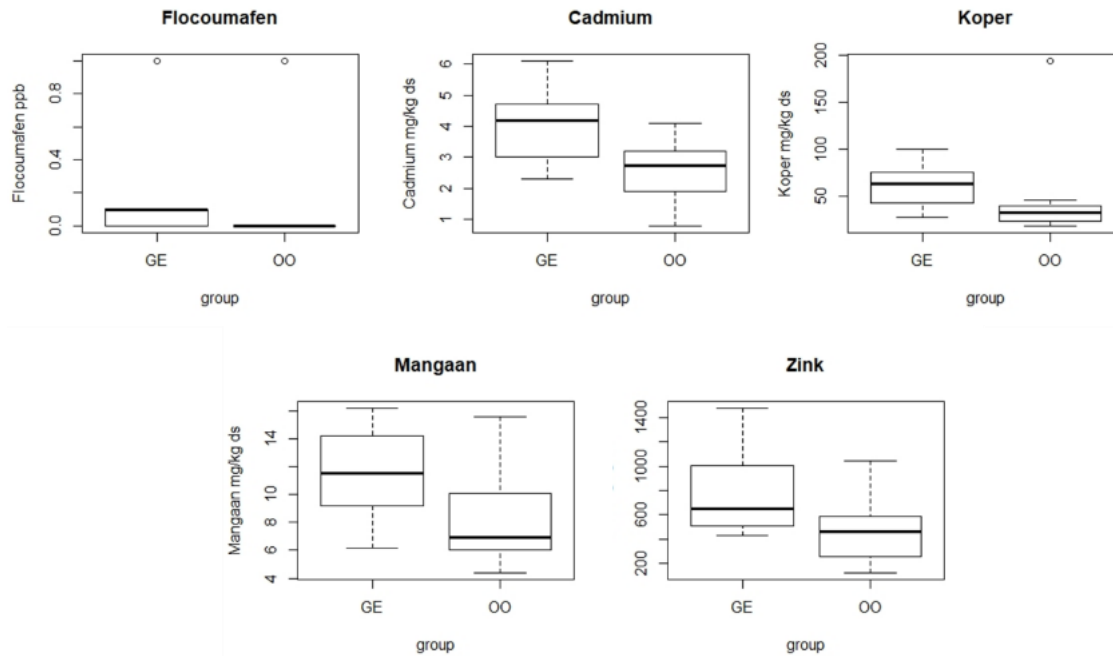


3.2.2. Heeft locatie een invloed op de contaminanten?

De correlatietesten tonen aan dat bepaalde contaminanten gecorreleerd zijn met elkaar, wat zou kunnen wijzen op een zelfde oorzaak of mogelijks een invloed van de locatie op zich. Om dit na te gaan werd een Kruskal-Wallis analyse uitgevoerd voor de verschillende contaminanten tussen egels afkomstig uit Geraardsbergen en Oostende.

Er werd een significant verschil waargenomen in flocoumafen ($p = 0.040$), cadmium ($p = 0.017$), koper ($p = 0.037$), mangaan ($p = 0.049$) en zink ($p = 0.041$), waarbij egels uit Geraardsbergen hogere concentraties vertonen dan deze uit Oostende (Figuur 2). Een bijkomstige General Linear Model (GLM) analyse toont tevens een significante impact aan van locatie op de cadmium, mangaan en zink concentraties in de levers van de egels.

Figuur 2: Overzicht van de flocoumafen, cadmium, koper, mangaan en zink concentraties gemeten in levers van egels afkomstig uit Geraardsbergen (GE) en Oostende (OO). De resultaten worden weergegeven via een boxplot waarbij het maximum, het eerste kwartiel (Q1), de mediaan (Q2), het derde kwartiel (Q3) en het maximum afgebeeld worden.



Tabel 10: (G)LM en ANOVA analyse. In bovenstaande tabel worden de resultaten van de (G)LM en ANOVA analyses weergegeven met de impact van locatie op de mangaan, cadmium en zink concentraties in de levers van de egels.

	(G)LM		ANOVA
Explanatory: Location	Coefficient (Geraardsbergen)	P-value	P-value
Response: Mangaan	1,715	0,032	0,032
Response: Cadmium	0,725	0,010	0,010
Response: Zink	0,281	0,034	0,019

3. Discussie

Deze toxicologische studie wijst aan dat egels in Vlaanderen blootgesteld worden aan verschillende contaminanten in sub-lethale hoeveelheden. Een langdurige chronische blootstelling aan deze sub-lethale hoeveelheden zorgt voor een opstapeling van contaminanten in de lever die mogelijk subklinische effecten kunnen teweegbrengen.

Het is daarom niet onmogelijk dat Vlaamse egels hinder ondervinden van de gemeten concentraties in onze studie. Zo werd bijvoorbeeld aangetoond dat rodenticiden in sub-lethale concentraties immunosuppressie veroorzaken bij verschillende diersoorten, wat potentieel het risico op (bacteriële) infecties verhoogt (López-Perea en Mateo, 2018; Roos *et al.*, 2021). De kritische drempelwaarde voor deze sub-lethale effecten is echter slecht gedefinieerd bij egels.

Een ander mogelijk effect dat niet uit te sluiten valt is de invloed van cadmium op het immuunsysteem. Bij verschillende diersoorten is gekend dat Cd hen vatbaarder maakt voor infecties (García-Mendoza *et al.*, 2021; Franzoni *et al.*, 2022) waaronder bacteriën (Simonet *et al.*, 1984). In deze beperkte studie zien we dat de egels in Geraardsbergen meer blootgesteld worden aan Cd in vergelijking met deze uit Oostende. Een uitgebreidere Cd screening in egels in Vlaanderen in combinatie met een experimentele studie, zijn nodig om meer inzicht te verwerven in de rol van Cd in de *C. ulcerans* problematiek.

Daarenboven werd door Singh *et al.* (2017) aangetoond dat synergistische effecten tussen zware metalen en pesticiden de gezondheid van levende systemen (planten, dieren, mensen) aantast. In de literatuur vinden we echter geen studies terug die ingaan op de specifieke combinaties gezien in onze studie (zie correlaties). Dit wil daarentegen niet zeggen dat dergelijke combinaties geen synergistisch of additief toxisch effect kunnen hebben. Verder onderzoek in dit thema op een uitgebreidere dataset is hier dan ook vereist om wetenschappelijke conclusies te kunnen trekken.

4. Conclusie

Deze studie is een beperkte en preliminaire vergelijking tussen zieke egels van één locatie (Geraardsbergen) met egels van een tweede locatie (Oostende) als referentie. De meest opvallende bevindingen van deze studie zijn:

- 1) Het wijdverspreid voorkomen van anticoagulantia in egels op beide locaties, in meerdere gevallen aan biologisch relevante concentraties.
- 2) Gemiddeld hogere gehalten aan sporenelementen/zware metalen in de zieke egels van Geraardsbergen, waarbij met name de hogere gehalten van Cadmium en Zink opvallen.

De studie wijst op een mogelijk verband tussen geografische verschillen in blootstelling aan zware metalen en het optreden van de egelziekte (*Corynebacterium ulcerans* infecties). Bijkomende blootstelling aan rodenticiden kan de egels gevoeliger maken voor infectie. Deze hypothese kan verder getoetst worden in een breder opgezette, gerichte studie.

4. Bronnen

Alleva, E. *et al.* (2006) 'Organochlorine and heavy-metal contaminants in wild mammals and birds of Urbino-Pesaro Province, Italy: An analytic overview for potential bioindicators', *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 51(1), pp. 123–134. doi:10.1007/s00244-005-0218-1.

Arıkan, K., Arıkan, Z.Y. en Turan, S.L. (2018) 'Persistent Organochlorine Contaminant Residues in Tissues of Hedgehogs from Turkey', *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 100(3), pp. 361–368. doi:10.1007/s00128-018-2272-1.

Authority (EFSA), E.F.S. (2016) 'Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance mesotrione', *EFSA Journal*, 14(3), p. 4419. doi:10.2903/j.efsa.2016.4419.

Authority (EFSA), E.F.S. *et al.* (2018) 'Review of the existing maximum residue levels for tembotrione according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005', *EFSA Journal*, 16(9), p. e05417. doi:10.2903/j.efsa.2018.5417.

Bates, D. *et al.* (2014) 'Fitting Linear Mixed-Effects Models using lme4', *arXiv:1406.5823 [stat]* [Preprint]. Available at: <http://arxiv.org/abs/1406.5823> (Accessed: 1 April 2022).

Bremner, I. en Beattie, J.H. (1995) 'Copper and zinc metabolism in health and disease: speciation and interactions', *Proceedings of the Nutrition Society*, 54(2), pp. 489–499. doi:10.1079/PNS19950017.

Buckle, A.P. en Smith, R.H. (2015) *Rodent Pests and Their Control, 2nd Edition*. CABI.

Cooke, J.A. (2011) 'Cadmium in Small Mammals', in Bey, W.N. and Meador, J.P. (eds) *Environmental Contaminants in Biota*. 1st edn. CRC Press, pp. 627–644. doi:10.1201/b10598-20.

Cooke, J.A., Andrews, S.M. en Johnson, M.S. (1990) 'Lead, zinc, cadmium and fluoride in small mammals from contaminated grassland established on fluorspar tailings', *Water, Air, and Soil Pollution*, 51(1–2), pp. 43–54. doi:10.1007/BF00211502.

Damek-Poprawa, M. en Sawicka-Kapusta, K. (2003) 'Damage to the liver, kidney, and testis with reference to burden of heavy metals in yellow-necked mice from areas around steelworks and zinc smelters in Poland', *Toxicology*, 186(1), pp. 1–10. doi:10.1016/S0300-483X(02)00595-4.

D'Havé, H. *et al.* (2006) 'Non-destructive pollution exposure assessment in the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*): II. Hair and spines as indicators of endogenous metal and As concentrations', *Environmental Pollution*, 142(3), pp. 438–448. doi:10.1016/j.envpol.2005.10.021.

EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) (2010) 'Scientific Opinion on Lead in Food', *EFSA Journal*, 8(4). doi:10.2903/j.efsa.2010.1570.

Franzoni, G. *et al.* (2022) 'Cadmium and wild boar: Environmental exposure and immunological impact on macrophages', *Toxicology Reports*, 9, pp. 171–180. doi:10.1016/j.toxrep.2022.01.009.

García-Mendoza, D., van den Berg, H.J.H.J. en van den Brink, N.W. (2021) 'Environmental exposure to cadmium reduces the primary antibody-mediated response of wood mice

(*Apodemus sylvaticus*) from differentially polluted locations in the Netherlands', *Environmental Pollution*, 289, p. 117909. doi:10.1016/j.envpol.2021.117909.

Hernández, L.M. *et al.* (1985) 'Presence and biomagnification of organochlorine pollutants and heavy metals in mammals of doñana national park (Spain), 1982–1983', *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 20(6), pp. 633–650. doi:10.1080/03601238509372501.

Hingmire, S. *et al.* (2015) 'Residue analysis of fipronil and difenoconazole in okra by liquid chromatography tandem mass spectrometry and their food safety evaluation', *Food Chemistry*, 176, pp. 145–151. doi:10.1016/j.foodchem.2014.12.049.

Kabata-Pendias, A. en Pendias, H. (1999) *Biogeochemistry of Trace Elements*. Varsov: Polish Scientific Publishing Company.

Kovalchuk, L.A. en Mikshevich, N.V. (2017) 'Accumulation of Heavy Metals by Small Mammals the Background and Polluted Territories of the Urals', *Vestnik Zoologii*, 51(4), pp. 325–334. doi:10.1515/vzoo-2017-0037.

López-Perea, J.J. en Mateo, R. (2018) 'Secondary Exposure to Anticoagulant Rodenticides and Effects on Predators', in van den Brink, N.W. *et al.* (eds) *Anticoagulant Rodenticides and Wildlife*. Cham: Springer International Publishing (Emerging Topics in Ecotoxicology), pp. 159–193. doi:10.1007/978-3-319-64377-9_7.

Ma, W. (1996) 'Lead in mammals', in *Environmental Contaminants in Wildlife*. W.N. Beyer, G.H. Heinz, A.W. Redmon-Norwood, pp. 281–297.

Martel, A. *et al.* (2021) 'Widespread disease in hedgehogs (*erinaceus europaeus*) caused by toxigenic *corynebacterium ulcerans*', *Emerging Infectious Diseases*, 27(10), pp. 2686–2690. doi:10.3201/eid2710.203335.

Mesnage, R. en Antoniou, M. (2021) '6 - Mammalian toxicity of herbicides used in intensive GM crop farming', in Mesnage, R. and Zaller, J.G. (eds) *Herbicides*. Elsevier (Emerging Issues in Analytical Chemistry), pp. 143–180. doi:10.1016/B978-0-12-823674-1.00007-9.

Nandi, D., Patra, R.C. en Swarup, D. (2005) 'Effect of cysteine, methionine, ascorbic acid and thiamine on arsenic-induced oxidative stress and biochemical alterations in rats', *Toxicology*, 211(1–2), pp. 26–35. doi:10.1016/j.tox.2005.02.013.

Rautio, A. *et al.* (2010) 'Sex, age, and tissue specific accumulation of eight metals, arsenic, and selenium in the European Hedgehog (*Erinaceus europaeus*)', *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 59(4), pp. 642–651. doi:10.1007/s00244-010-9503-8.

Rimkus, G. en Wolf, M. (1987) 'Schadstoff belastung von Wild aus Schleswig-Holstein', *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 184(4), pp. 308–312. doi:10.1007/BF01027669.

Roos, S. *et al.* (2021) 'Annual abundance of common Kestrels (*Falco tinnunculus*) is negatively associated with second generation anticoagulant rodenticides', *Ecotoxicology*, 30(4), pp. 560–574. doi:10.1007/s10646-021-02374-w.

Schanzer, S. *et al.* (2021) 'Miniaturized multiresidue method for the analysis of pesticides and persistent organic pollutants in non-target wildlife animal liver tissues using GC-MS/MS', *Chemosphere*, 279, p. 130434. doi:10.1016/j.chemosphere.2021.130434.

Ścibior, A., Wnuk, E. en Gołębiowska, D. (2021) 'Wild animals in studies on vanadium bioaccumulation - Potential animal models of environmental vanadium contamination: A comprehensive overview with a Polish accent', *Science of The Total Environment*, 785, p. 147205. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.147205.

Shore, R.F. en Coeurdassier, M. (2018) 'Primary Exposure and Effects in Non-target Animals', in van den Brink, N.W. et al. (eds) *Anticoagulant Rodenticides and Wildlife*. Cham: Springer International Publishing (Emerging Topics in Ecotoxicology), pp. 135–157. doi:10.1007/978-3-319-64377-9_6.

Simonet, M., Berche, P. en Fauchere, J.L. (no date) 'Impaired resistance to *Listeria monocytogenes* in mice chronically exposed to cadmium', p. 9.

Singh, N. et al. (2017) 'Synergistic Effects of Heavy Metals and Pesticides in Living Systems', *Frontiers in Chemistry*, 5, p. 70. doi:10.3389/fchem.2017.00070.

Włodarczyk, B. et al. (1995) 'Male golden hamster in male reproductive toxicology testing: Assessment of protective activity of selenium in acute cadmium intoxication', *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 54(6). doi:10.1007/BF00197977.

Zaller, J.G. en Brühl, C.A. (2021) '7 - Direct herbicide effects on terrestrial nontarget organisms belowground and aboveground', in Mesnage, R. and Zaller, J.G. (eds) *Herbicides*. Elsevier (Emerging Issues in Analytical Chemistry), pp. 181–229. doi:10.1016/B978-0-12-823674-1.00004-3.

Zwolak, I. (2015) 'Increased Cytotoxicity of Vanadium to CHO-K1 Cells in the Presence of Inorganic Selenium', *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 95(5), pp. 593–598. doi:10.1007/s00128-015-1615-4.