



Miljøministeriet
Miljøstyrelsen

Pesticider og biocider i den danske pindsvinebestand

Bekæmpelsesmiddel-
forskning nr. 220

Marts 2024

Udgiver: Miljøstyrelsen

Forfattere: Sophie Lund Rasmussen^{1,2}

Linyan Zhu³

Katrin Vorkamp³

Cino Pertoldi²

Peter Roslev²

Jeppe Lund Nielsen²

¹ Wildlife Conservation Research Unit (Wild-CRU), Oxford University

² Institut for Kemi- og Biovidenskab på Aalborg Universitet

³ Institut for Miljøvidenskab, Aarhus Universitet

Fotos:

Tine Reinholt Jensen

ISBN: 978-87-7038-603-6

Indhold

1.	Forord	5
2.	Forkortelser	6
3.	Resumé	7
4.	Summary	9
5.	Indledning	11
5.1	Det europæiske pindsvin	11
5.2	Pindsvin som bioindikatorer	11
5.3	Pindsvin og rodenticider	12
5.4	Pindsvin og herbicider	13
5.5	Pindsvin og insekticider og molluscicider	13
5.6	Det Danske Pindsvineprojekt	14
6.	Formål	16
7.	Fremgangsmåder i projektet	17
7.1	Pindsvineprøverne	17
7.2	Udvælgelse af pesticider og biocider til undersøgelsen	17
7.2.1	Udvælgelse af rodenticider	17
7.2.2	Udvælgelse af insekticider	18
7.2.2.1	Fipronil	18
7.2.2.2	Imidacloprid	18
7.2.2.3	Permethrin	19
7.2.3	Udvælgelse af herbicider	19
7.3	Målrættede kemiske analyser af udvalgte stoffer	19
7.4	Statistiske analyser af resultaterne	21
7.4.1	Inddeling af prøver til analyser	21
7.4.2	Statistiske analyser	21
7.5	Non-target screening	22
7.6	Databehandling under non-target screening	24
8.	Resultater	25
8.1	Målrættede kemiske analyser af udvalgte stoffer	25
8.2	Non-target screening	29
8.3	Resultater fra non-target screening med GC-Orbitrap-HRMS	30
8.4	Resultater fra non-target screening med LC-QToF-HRMS	37
9.	Diskussion	41
9.1	Sammenligning med tidligere studier	41
9.2	Detektionsfrekvenser og statistiske analyser	41
9.3	Forekomsten af ikke-godkendte kemiske stoffer og naturligt forekommende stoffer	42
9.4	Forskelle i forekomst af bekæmpelsesmidler baseret på regioner	42

9.5	Sammenligning af niveauer i hanner og hunner	42
9.6	Helbredsmæssige konsekvenser af tilstedeværelsen af bekæmpelsesmidler i pindsvin	43
9.7	Lægemidler i pindsvin	43
10.	Konklusion	45
11.	Perspektivering	46
12.	Referenceliste	47
Bilag 1. Oversigt over samlede resultater fra de målrettede kemiske analyser		56
Bilag 2. Overblik over resultaterne fra de målrettede kemiske analyser.		66

1. Forord

Denne rapport beskriver resultaterne af forskningsprojektet "Undersøgelse af forekomsten af pesticider og biocider i den danske pindsvinebestand (*Erinaceus europaeus*)". Forskningsprojektet blev udført i perioden 1. september 2020 til 31. december 2022 og var finansieret af Miljøstyrelsens program for Bekæmpelsesmiddelforskning (MST journalnummer 2019-15128) med yderligere støtte fra Carlsbergfondet (CF20_0443).

Forskningsprojektet er udført af Sophie Lund Rasmussen, forsker ved Wildlife Conservation Research Unit (WildCRU) på Oxford Universitet og Institut for Kemi- og Biovidenskab på Aalborg Universitet; Linyan Zhu og Katrin Vorkamp fra Institut for Miljøvidenskab, Aarhus Universitet; samt Cino Pertoldi, Peter Roslev og Jeppe Lund Nielsen fra Institut for Kemi- og Biovidenskab på Aalborg Universitet.

Formålet med projektet var at afdække forekomsten af en række bekæmpelsesmidler i den danske pindsvinebestand. Prøvematerialet til undersøgelsen bestod af leverprøver fra 115 døde pindsvin, der blev indsamlet af frivillige over hele landet i 2016, og blev stillet til rådighed fra Det Danske Pindsvineprojekt, ledet af Sophie Lund Rasmussen.

Forfatterne ønsker at takke for den økonomiske støtte fra Miljøministeriet og Carlsbergfondet. Desuden en stor tak til forskningsassistenterne Camilla Birch, Agnete le Maire Madsen, Anne Marie Rubæk Holm, Emil Bøgh Hansen og Rien van Wijk for hjælp til obduktionerne af de døde pindsvin og praktisk arbejde i forbindelse med indsamlingen af døde pindsvin under Det Danske Pindsvineprojekt, samt laboranterne Birgit Groth og Annegrete Ljungqvist for deres arbejde i forbindelse med de kemiske analyser foretaget på Institut for Miljøvidenskab, Aarhus Universitet. Tak til Statens Naturhistoriske Museum i København for at stille faciliteter til rådighed til obduktionerne af pindsvinene i Det Danske Pindsvineprojekt, samt kurator Daniel Klingberg Johansson, samlingsmedarbejder for Pattedyr og Herpetologi på Statens Naturhistoriske Museum i København, for at facilitere denne mulighed, og dele viden og erfaringer undervejs i arbejdet med obduktionerne.

2. Forkortelser

IUCN	International Union for Conservation of Nature
PNEC	predicted no-effect concentration
MRSA	Methicillin-resistente <i>Staphylococcus aureus</i>
MCPA	2-methyl-4- klorfenoxyeddikesyre (2-methyl-4-chloroophenoxy acetic acid)
2,4-D	2,4-diklorfenoxyeddikesyre (2,4-dichlorophenoxy acetic acid)
MS	massespektrometri
LC	væskekromatografi
GC	gaskromatografi
GC-MS	gaskromatografi-massespektrometri
LC-MS	væskekromatografi-massespektrometri
SPE	solid phase extraction
Rpm	revolutions per minute/omdrejninger per minut
HRMS	high resolution (højopløsende) massespektrometre
GC-Orbitrap-HRMS	navnet på et af de anvendte massespektrometre til non-target analysen
LC-QToF-HRMS	navnet på et af de anvendte massespektrometre til non-target analysen: LC-Quadrupole-time-of-flight (QToF)-HRMS
POP	POP-stoffer (Persistent Organic Pollutants), persistente/ sværtnedbrydelige organiske forbindelser eller "evighedskemikalier"
PCB	polychlorerede biphenyler
DDE	dichlordiphenyldichlorethylen, en metabolit af DDT
DDT	dichlordiphenyltrichlorethan
HCB	hexachlorobenzen
BFR	bromerede flammehæmmere
PFAS	per- og polyfluoralkyl-stoffer
DF	detektionsfrekvenser
IQR	interkvartilområder (interquartile range)
LD ₅₀	LD ₅₀ er den dosis af et kemisk stof, der har dødelig effekt på 50% af individerne i forsøg

3. Resumé

Det europæiske pindsvin (*Erinaceus europæus*) lever over det meste af Danmark, med undtagelse af nogle få, mindre øer. Forskning fra andre europæiske lande viser, at pindsvinet er i kraftig tilbagegang, særligt i landlige områder med dyrkede arealer. Gennem en årrække har reduktionen af egnede levesteder medført, at pindsvin i stigende grad søger habitater i forbindelse med menneskelig bebyggelse og aktivitet, såsom villahaver, parker og andre rekreative områder, hvilket medfører en risiko for eksponering for biocider og pesticider (samlet kaldet bekæmpelsesmidler) anvendt i privat eller offentligt regi. Desuden kan pindsvin, der lever udenfor bymæssig bebyggelse, risikere at komme i kontakt med de pesticider der benyttes i landbruget, gartnerier og frugtplantager.

Da pindsvin i forbindelse med fødesøgning kan finde på at grave i jorden og tilsyneladende er altædende, er der mange potentielle måder hvorpå pindsvin utilsigtet kan udsættes for bekæmpelsesmidler under deres fødesøgning og indtagelse af føde. Eksponering for bekæmpelsesmidler kan være én af mange mulige årsager til bestandens tilbagegang, enten via en reduktion i naturlige fødeemner ved sprøjtning mod insekter, via forgiftning, eller via ikke-akutte toksiske negative helbredsmæssige konsekvenser for pindsvinene. Da pindsvin næsten udelukkende deler levesteder med mennesker, kan de anses som en potentiel relevant terrestrisk indikatorart for eksponering for almindelige biocider og pesticider.

I dette projekt undersøgte vi forekomsten af forskellige pesticider og biocider i individer fra den danske pindsvinebestand. Vi vurderede faktorer, der potentielt kunne forklare bekæmpelsesmidlernes niveauer i pindsvinene, såsom køn, alder, lokation, dødsårsag, habitattype samt tilstedeværelsen af *mecC*-MRSA og endoparasitter i de testede pindsvin, baseret på baggrundsinformation, der tidligere var opnået om de pågældende pindsvin via forskningen udført i Det Danske Pindsvineprojekt (fra 2016 og fremefter).

I projektet blev der anvendt leverprøver fra 115 døde pindsvin indsamlet af frivillige borgere over hele Danmark i 2016, i forbindelse med Det Danske Pindsvineprojekt. Vi analyserede disse prøver for et udvalg af rodenticider (gnavermidler) (N= 7), insekticider (insektmidler) (N= 4) og herbicider (ukrudtsmidler) (N= 8) via væskechromatografi og tandem-massespektrometri (LC-MS/MS). Derudover analyserede vi leverprøver fra 17 udvalgte pindsvin med non-target screening udført på instrumenterne GC-Orbitrap-HRMS og LC-Quadrupole-time-of-flight (QToF)-HRMS.

Vi fokuserede på syv typer af rodenticider i de kemiske analyser: bromadiolon, coumatetralyl, brodifacoum, difenacoum, difethialon, chlorolose (α -chloralose og β -chloralose). Insekticiderne omfattede imidacloprid, permethrin (cis og trans), og fipronil, mens de følgende herbicider blev analyseret: met amitron, MCPA, 2,4-D, diflufenican, prosulfocarb, bentazon, pendimethalin og fluroxypyr.

De målrettede kemiske analyser for udvalgte bekæmpelsesmidler havde forekomster mellem 0,9% for fluroxypyr og permethrin (trans) og 79% for bromadiolon, med medianværdier på 12% og interkvartilområder (interquartile range (IQR)) mellem 3%-30% for alle stoffer. Forekomsten af fipronil var under kvantificeringsgrænsen i alle prøverne.

Rodenticider blev fundet i 84% af prøverne (N= 97/115), insekticider i 43% af prøverne (N= 50/115) og herbicider i 50% af prøverne (N= 58/115).

De bekæmpelsesmidler der oftest blev fundet i prøverne, var insekticidet imidacloprid (35%), herbicidet met amitron (29%) og rodenticidet bromadiolone (79%). Koncentrationerne af stofferne varierede fra under kvantificeringsgrænsen til $>2 \mu\text{g/g}$.

Detektionsfrekvensen varierede signifikant imellem danske regioner for difenacoum (Jylland syd for Limfjorden (47%) versus Sjælland (22%) ($p = 0,03$)), difethialon (Sjælland (38%) versus Jylland syd for Limfjorden (16%) ($p = 0,04$)) og imidacloprid (Sjælland (46%) versus Jylland syd for Limfjorden (23%) ($p = 0,04$)).

Vores analyser viste, at forekomsten og medianværdierne for koncentrationerne af pesticider og biocider tilsyneladende ikke var påvirket af køn, alder, dødsårsag, habitattype, eller tilstedeværelsen af *mecC*-MRSA og endoparasitter i pindsvinene.

De GC- og LC-baserede non-target analyser af 17 udvalgte pindsvin viste henholdsvis 35 og 38 kemiske stoffer. Blandt disse var 12 POP-stoffer (persistente organiske forbindelser) såsom p,p'-dichlorodiphenyldichloroethylen (DDE), hexachlorbenzen (HCB) and polychlorerede biphenyler (PCB). I alt blev der påvist 16 forskellige bekæmpelsesmidler, herunder fungicider (N= 8), herbicider (N= 3), insekticider (N= 3) til rodenticider (N= 2). Blandt andet blev atrazin fundet i leverprøver fra 4 pindsvin, et herbicid der blev forbudt i Danmark helt tilbage i 1994.

Der blev også identificeret 24 forskellige lægemidler i de 17 pindsvin, der blev udvalgt til non-target analyser. Mindst 12 af disse lægemidler kunne ikke tilskrives autoriseret behandling af syge eller tilskadedkomne pindsvin, hvilket indikerer at eksponeringen skyldtes en anden årsag end medicinsk behandling. Non-target analyserne bør, modsat de konventionelle analyser, understøttes af analysestandarder for at opnå en entydig bekræftelse af stoffernes identitet.

Sammenfattende viste undersøgelsen at en række bekæmpelsesmidler (biocider og pesticider), samt andre menneskeskabte kemikalier såsom lægemidler og POP-stoffer, kan påvises i leverprøver fra danske pindsvin. Hvorvidt eksponeringen udgør en risiko for pindsvinenes helbred, kan ikke siges med sikkerhed, da der mangler data for toksiske effektgrænser for pindsvin. Positive fund omfattede både godkendte og ikke-godkendte bekæmpelsesmidler, samt kemikalier, der tidligere lovligt har været anvendt i Danmark. Med undtagelse af nogle få regionale forskelle i detektionsfrekvenserne, viste vores analyser, at eksponeringen for bekæmpelsesmidler var jævnt fordelt blandt de undersøgte pindsvin, og derfor tilsyneladende ikke var påvirket af faktorer som alder, køn, habitattype, dødsårsag og forekomsten af *mecC*-MRSA og endoparasitter.

Afslutningsvis foreslår vi, at *E. europaeus* er en potentielt nyttig indikatorart for pesticid- og biocid eksponering i terrestriske miljøer, da de danske pindsvin grundet deres levevis er særligt eksponerede for en række menneskeskabte kemikalier. Da pindsvinene i stigende grad deler habitater med mennesker, kan fundene muligvis også indikere hvilke stoffer der bør inkluderes i fremtidige humane eksponeringsstudier.

4. Summary

European hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) inhabit most of Denmark, with the exception of a few smaller islands. Research from other European countries has shown that the hedgehog population is in decline, most severely in rural areas. Long-term reductions of suitable habitats have led to hedgehogs increasingly seeking habitats with human occupancy, e.g., gardens, parks, and other recreative spaces, and therefore, a risk of potential pesticide and biocide exposure in urban spaces. In addition, hedgehogs inhabiting rural areas may be exposed to pesticides applied during agricultural and horticultural practices, such as the growing of different types of crops on arable land, in plantations and green houses. As hedgehogs are ground-dwelling mammals and appear to be omnivorous, there are several potential routes of chemical exposure through foraging. The exposure to potentially toxic chemicals in hedgehogs could be a contributing factor to the general decline of this species, either due to the reduction of food items through insecticide use, or poisoning, or due to non-acute toxic health consequences for the hedgehogs. Furthermore, as hedgehogs are almost exclusively sharing habitats with humans, they could be regarded as relevant indicators of exposure reflecting a potential chemical exposure in humans as well.

Our research studied the occurrence of various pesticides and biocides and other xenobiotics in the population of European hedgehogs from Denmark as well as factors potentially explaining the levels of chemicals detected, such as age, sex, location, cause of death and habitat type of the samples, as well as the prevalence of *mecC*-MRSA and endoparasites in the hedgehogs tested.

We used 115 liver samples obtained from dead hedgehogs collected through citizen science in Denmark during 2016 as part of The Danish Hedgehog Project and analysed them for a selection of commonly used rodenticides (N= 7), insecticides (N= 4) and herbicides (N= 8), utilising a liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method. Furthermore, livers from 17 individuals were selected for non-target screening with GC-Orbitrap-HRMS og LC-Quadrupole-time-of-flight (QToF)-HRMS.

We chose seven types of rodenticides for the target analyses: bromadiolone, coumatetralyl, brodifacoum, difenacoum, difethialon, chloralose (consisting of α -chloralose and β -chloralose) to obtain a diverse representation of these compounds. The following four insecticides were prioritised: imidacloprid, permethrin (cis and trans) and fipronil. The eight herbicides selected for analyses were: metamitron, MCPA, 2,4-D, diflufenicane, prosulfocarb, bentazon, pendimethalin og fluroxypyr.

The target analyses showed detection frequencies between 0.9% for fluroxypyr and permethrin (trans) and 79% for bromadiolone, with a median value of 12% and an interquartile range (IQR) of 3%-30% across all compounds. The concentrations of fipronil were below quantification limits in all the samples. Rodenticides were detected in 84% of the samples (N= 97/115), insecticides in 43% of the samples (N= 50/115) and herbicides in 50% of the samples (N= 58/115). The compounds most frequently detected included the insecticide imidacloprid (35%), the herbicide metamitron (29%) and the rodenticide bromadiolone (79%). Concentrations varied between non-detected to >2 $\mu\text{g/g}$.

The detection frequencies were found to differ significantly between localities for difenacoum (Jutland south of the Limfjord (47%) versus Zealand (22%) ($p = 0.03$)), difethialone (Zealand (38%) versus Jutland south of the Limfjord (16%) ($p = 0.04$)) and imidacloprid (Zealand (46%) versus Jutland south of the Limfjord (23%) ($p = 0.04$)).

However, our analysis indicated that the presence and median concentrations of pesticides and biocides did not appear to be affected by sex, age, habitat type or the prevalence of *mecC*-MRSA and endoparasites in the hedgehogs tested.

The GC- and LC-based non-target analyses revealed 35 and 38 potential pollutants, respectively. These included 12 legacy persistent organic pollutants (POPs), such as p,p'-dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE), hexachlorobenzene (HCB) and several polychlorinated biphenyls (PCBs). A total of 16 different biocides and pesticides were tentatively identified, ranging from fungicides (N= 8), herbicides (N= 3), insecticides (N= 3) to rodenticides (N= 2), including atrazine found in four liver samples, a herbicide which was banned in Denmark in 1994. We tentatively detected 24 pharmaceuticals in the 17 individuals selected for non-target screening. These pharmaceutical drugs included at least 12 which could not be classified as having been used for authorised veterinary treatment of sick or injured hedgehogs in care, which could indicate another source of exposure for the hedgehogs. It should be noted that non-target screening analyses are more uncertain than conventional chemical analyses and require verification with an analytical standard for the final identification of a compound.

In conclusion, the research showed that a range of pesticides and biocides and other xenobiotics such as POPs and pharmaceuticals were detected in liver samples from Danish hedgehogs. Whether or not these levels carry a health risk for the hedgehogs remains unclear as no effect levels have been established for European hedgehogs at present. The findings included both approved and prohibited pesticides, including chemicals that were previously approved for use. Except for a few instances of regional differences, our analyses indicate that the risk of exposure appears to be equal regardless of the sex, age, habitat type, cause of death and prevalence of *mecC*-MRSA and endoparasites of the different hedgehogs represented in our samples. Finally, we suggest that *E. europaeus* is a potentially relevant indicator species for exposure to pesticides, biocides and other xenobiotics in terrestrial environments as the species is particularly exposed to a large range of xenobiotics due to the characteristics of its ecology. In addition, given their co-existence with humans, the findings in hedgehogs could also be used to suggest compounds for future human exposure studies.

5. Indledning

5.1 Det europæiske pindsvin

Baseret på en landsdækkende kortlægning af pindsvinet (*Erinaceus europaeus*, herefter benævnt "pindsvin") i 1990-2005 blev det konkluderet, at pindsvinet findes over det meste af Danmark med undtagelse af nogle få, mindre øer som eksempelvis Livø, Hjarnø, Endelave og Strynø (Pagh, 2007). Pindsvinet er tilpasningsdygtigt og kan leve i mange forskellige typer af habitater, såsom skove (særligt løvskove, samt i overgangene mellem skov og åbent land (Riber, 2006), landbrugsområder, rekreative områder som byparker og kirkegårde, samt boligområder (Morris, 2018). Dog har forskningen vist, at pindsvin i dag foretrækker at leve i områder med menneskelig bebyggelse og aktivitet, særligt urbane områder, hvilket betyder, at vi i langt højere grad end tidligere deler habitater med pindsvinene (Hubert et al., 2011; van de Poel et al., 2015; Pettett et al., 2017; Rasmussen et al., 2019; Gazzard et al., 2022). Forskning fra andre europæiske lande indikerer, at pindsvinebestanden er i tilbagegang i Europa, særligt i områder med dyrket land (British Trust for Ornithology (BTO) og British Hedgehog Preservation Society og People's Trust for Endangered Species, 2011; British Hedgehog Preservation Society og People's Trust for Endangered Species, 2015; Krange, 2015; van de Poel et al., 2015; Hof og Bright, 2016; British Hedgehog Preservation Society og People's Trust for Endangered Species, 2018; Müller, 2018; Williams et al., 2018; Mathews og Harrower, 2020; Taucher et al., 2020; Wembridge et al., 2022). På baggrund af denne viden, revurderes pindsvinets International Union for Conservation of Nature's (IUCN) Rødliste status for Europa i 2024 (pers. comm. Sophie Lund Rasmussen). På nationale IUCN Rødlister for Holland er pindsvinet listet som "truet" (T), i Storbritannien er pindsvinet registreret som "sårbart" (VU), og for landene Østrig, Norge, Tyskland, Sverige og Schweiz er pindsvinet kategoriseret som "næsten truet" (NT). Indtil videre har forskningen vist, at denne tilbagegang, der blandt andet omfatter en reduktion i bestanden på op imod 75% af pindsvinene i de landlige områder i Storbritannien siden 2000 (Wembridge et al., 2022), blandt andet kan skyldes tab af levesteder, landskabsfragmentering, intensiveret landbrug, trafikdrab, forgiftning med bekæmpelsesmidler, ulykker i villahaverne, og i nogle områder også angreb fra rovdyr såsom ræve og grævlinger (Huijser og Bergers, 2000; Brakes og Smith, 2005; Young et al., 2006; Dowding et al., 2010a; Dowding et al., 2010b; Hof og Bright, 2010; British Trust for Ornithology (BTO) og British Hedgehog Preservation Society og People's Trust for Endangered Species, 2011; Hubert et al., 2011; Haigh et al., 2012; Pettett et al., 2017; Rasmussen et al., 2019; Rasmussen et al., 2019; Garcês et al., 2020; Rasmussen et al., 2020; Wright et al., 2020; Rasmussen et al., 2021). Det er vigtigt at få afdækket hvilke faktorer, der forårsager tilbagegangen i bestanden, så bevaringsindsatsen for pindsvinet kan optimeres og målrettes.

5.2 Pindsvin som bioindikatorer

Grundet deres økologi er pindsvin potentielt gode bioindikatorer for forskellige typer af forurening i terrestriske økosystemer. Da pindsvin fortrinsvist lever i områder med menneskelig bebyggelse og aktivitet, såsom villahaver og parker (Hubert et al., 2011; van de Poel et al., 2015; Pettett et al., 2017; Rasmussen et al., 2019; Gazzard et al., 2022), vil eventuelle fund af bekæmpelsesmidler og andre kemiske forbindelser også kunne indikere hvad mennesker potentielt eksponeres for i deres nærmiljø. Da de områder pindsvinene færdes i desuden er små, helt ned til ganske få hektar i villakvartererne, kombineret med en tendens til at blive i samme område gennem livet, vil resultaterne af en screening for kemiske stoffer repræsentere forureningen i pindsvinenes lokalområde (Reeve, 1994; Morris, 2018; Rasmussen et al., 2019). Selvom pindsvinets gennemsnitlige levealder er omkring 2 år, kan pindsvin blive op til 16 år gamle i Danmark (Rasmussen et al., 2023), hvilket betyder, at de kan opleve en langvarig eksponering af forskellige kontaminanter.

Pindsvin er officielt klassificeret som insektædere, men spiser også snegle, ådsler, regnorm, æg og levende vertebrater såsom fugleunger, hvis de får muligheden for det (Yalden, 1976; Wroot, 1984; Dickman, 1988; Jones et al., 2005; Rautio et al., 2016). Derudover suppleringsfodrer mange haveejere pindsvin med kattermad, der efterhånden formodes at udgøre en væsentlig del af pindsvinenes føde i villakvartererne (Gazzard et al., 2021; Gazzard et al., 2022). Da mange af pindsvinenes naturlige fødeemner lever i eller tæt ved jorden, samt i dyrkede områder, og spiser planter, der kan være behandlet med insekticider eller herbicider, er pindsvinene som udgangspunkt eksponerede for den forurening, der opstår i forbindelse med menneskelig aktivitet. Der er tidligere publiceret undersøgelser af forekomsten af miljøfremmede stoffer i pindsvin fra Italien, Finland, Holland, Tyskland, England, Portugal og Belgien (d'Havé et al., 2005a; d'Havé et al., 2005b; Alleva et al., 2006; d'Havé et al., 2006a; d'Havé et al., 2006b; d'Havé et al., 2007; D'Havé, 2009; Vermeulen et al., 2009; Dowding et al., 2010a; Rautio et al., 2010; Vermeulen et al., 2010; Schanzer et al., 2021; Baptista et al., 2023; Baptista et al., 2023). I undersøgelserne blev der testet for rodenticider, klororganiske forbindelser, som ofte er sværtnedbrydelige (såkaldte "persistent organic pollutants" eller POP-stoffer), og bromerede flammehæmmere (BFR), som også kan tilhøre POP-kategorien. Pindsvin er også tidligere undersøgt for en række metaller og metalloider, som eksempelvis selen og arsenik, samt metallerne sølv (Ag), aluminium (Al), cadmium (Cd), kobolt (Co), krom (Cr), kobber (Cu), jern (Fe), kviksølv (Hg), magnesium (Mg), mangan (Mn), molybdæn (Mo), nikkel (Ni), bly (Pb), zink (Zn), som kan være naturligt forekommende, men også stamme fra menneskeskabte produkter. I undersøgelserne brugte man forskellige typer af prøver fra hår og pigge, blod eller væv fra fedt, lever, nyrer og muskel.

5.3 Pindsvin og rodenticider

Da en del af pindsvinenes naturlige diæt består af ådsler, er det ikke ualmindeligt, at de spiser døde mus og rotter, som kan være døde af forgiftning. Dette kan forårsage eksponering og eventuel sekundær forgiftning med rodenticider i pindsvinene. Pindsvin kan også spise ådsler fra arter højere oppe i fødekæden, såsom rovfugle, hvorigennem de også kan blive udsat for rodenticider (Christensen et al., 2012; Elmeros et al., 2015; Topping og Elmeros, 2016). Derudover kan rodenticider også påvises i invertebrater som biller og snegle (Spurr og Drew, 1999; Elliott et al., 2014), som udgør en væsentlig del af pindsvinets naturlige diæt (Yalden, 1976; Wroot, 1984). Pindsvin kan også finde på at spise giftkorn direkte, hvis de har adgang til dem. Det kan forekomme hvis giften placeres direkte på jorden, eller i kasser, hvor indgangshullet er stort nok til at et pindsvin kan stikke hovedet igennem, og dermed få adgang til at spise giftkornene (se Figur 1). Derfor kan pindsvin både være udsat for primær og sekundær forgiftning med rodenticider. Et tidligere studie af forekomsten af 6 forskellige typer af rodenticider i pindsvin, der døde i pleje i England fra 2004-2006, viste at i alt 67% af 120 undersøgte pindsvinelever indeholdt rodenticider. Det hyppigste fund var difenacoum, som blev påvist i 57 af de 120 prøver, mens flocoumafen blev fundet i færrest prøver (N=1 ud af 20 prøver) (Dowding et al., 2010a).



FIGUR 1. Ungpindsvin fundet dødt med hovedet inde i en giftstation med rodenticider. Foto: Privatfoto.

5.4 Pindsvin og herbicider

Pindsvin bliver potentielt udsat for herbicider, da de bevæger sig gennem mange typer af beplantning, både i villahaver, på dyrkede marker og i parker og andre rekreative områder, hvor der sprøjtes mod ukrudt. Da pindsvinene oftest ikke er højere end 15 cm, kommer de i tæt fysisk kontakt med planterne, når de bevæger sig igennem græs, krat, buske, blomsterbede, køkkenhaver, enge og dyrkede marker i deres søgen efter føde. Derfor er det muligt at herbicider kan optages gennem pindsvinenes hud når de kommer i tæt kontakt med planterne. Studier af pindsvinets naturlige føde har også beskrevet fund af planterester og frugt (nedfaldsfrugt) i pindsvinenes maver. Man har dog ikke kunnet bestemme om pindsvinene intentionelt spiser planter, eller om de bliver indtaget i forbindelse med indfangning af fødeemner som insekter eller snegle, der sidder på plantematerialet (Dickman, 1988; Morris, 2018). Pindsvinene bliver også potentielt sekundært eksponeret for herbicider, da de spiser insekter, orm og snegle, der lever af planter, og dermed muligvis kan have indtaget herbicider.

5.5 Pindsvin og insekticider og molluscicider

Pindsvinene udsættes potentielt for insekticider og molluscicider (sneglemidler), da en stor del af deres føde består af insekter og snegle, som kan være forgiftede (Dimelow, 1963; Yalden, 1976; Wroot, 1984; Dickman, 1988; Pagh, 2004). Pindsvin kommer desuden i fysisk kontakt med planter, der kan være behandlet med insekticider, eksempelvis produkter i form af sprays, gel, pudder, når de færdes i villahaver og parker, og kan derfor også være eksponeret for bekæmpelsesmidlerne ad denne vej. Hvis giften, eksempelvis sneglekorn, placeres på jorden, hvor pindsvin har adgang til den, kan de også finde på at spise giften direkte (Keymer et al., 1991; Gemmeke, 1995). Selvom pindsvinene tilsyneladende er i kraftig tilbagegang i de dyrkede, landlige områder (Williams et al., 2018; Wembridge et al., 2022), er de stadig at finde i disse habitater, med en mulig eksponering for insekticider samt andre typer af bekæmpelsesmidler, såsom fungicider, som benyttes på de dyrkede marker (Tudi et al., 2021).

Pindsvin, der kommer i pleje, bliver behandlet med insekticider mod lopper. Dette sker i særdeleshed i de tilfælde hvor ektoparasitbyrden er blevet så omfattende, at den er svækkende for pindsvinet i form af eksempelvis anæmi (blodmangel). Selvom det ikke er undersøgt videnskabeligt, er der blandt pindsvineplejere og dyrlæger, der behandler pindsvin, en konsensus om at stoffet permethrin er giftigt for pindsvin, som det ses hos katte (Boland og Angles, 2010), med en dokumenteret forudsagt koncentration uden effekter for værten (Predicted No-Effect Concentration (PNEC)) på 120 mg permethrin/kg mad for små pattedyr (European Chemicals Agency ECHA, 2020) og en dødelig oral dosis (LD50) på 480 mg permethrin/kg kropsvægt for pattedyr ved primær forgiftning (European Chemicals Agency ECHA, 2019). Derudover kan pindsvin også udsættes for insekticider imod ektoparasitter via kæledyr, da disse udskilles fra katte og hunde via deres urin og afføring (Snodgrass Jr og Nelson, 1982; Lestremou et al., 2014; Chrustek et al., 2018). Pindsvin ynder at rulle sig i, eller selvbespytte, med afføring fra hunde og katte, formodentlig for at maskere deres egen duft overfor rovdyr. Ved adfærden selvbespytning indtager pindsvin et lugtende objekt, tygger på det, og danner i den forbindelse meget spyt, som de fordeler ved at slikke sig på piggene. Kæledyr kan potentielt også overføre insekticider brugt til bekæmpelse af ektoparasitter via søer, åer, vandpytter eller andre ferskvandsreservoirs, hvori pindsvin også færdes, og eventuelt drikker fra. Dette skyldes, at en lang række af disse bekæmpelsesmidler er "spot on" produkter, der doseres direkte på huden af kæledyrene, og derfor kan overføres til vandet, hvis hundene færdes eller svømmer heri (Teerlink et al., 2017).

5.6 Det Danske Pindsvineprojekt

I 2016 startede forskningsprojektet "Det Danske Pindsvineprojekt", der oprindeligt var et ph.d.-projekt forankret på Syddansk Universitet og Naturama, ledt af daværende ph.d.-stipendiat Sophie Lund Rasmussen. Formålet var at bruge døde pindsvin til at beskrive den generelle sundhedstilstand i den danske pindsvinebestand, gennem en række forskellige undersøgelser. Projektet var baseret på citizen science, hvor borgerne i Danmark via medierne blev opfordret til at indsamle døde pindsvin til forskningen. Indsamlingen forløb fra maj 2016- december 2016. De frivillige indsamlere kunne indlevere døde pindsvin på 26 indsamlingsstationer fordelt over hele landet, som var tilgængelige døgnet rundt. Indsamlingsstederne, der ses i Figur 2, blev tømt dagligt, og de døde pindsvin blev opbevaret i fryserne. Ved indlevering af døde pindsvin, blev de frivillige indsamlere bedt om at udfylde et infokort med informationer om dato for fundet og pindsvinets lokation.



FIGUR 2. Billeder af en ud af 26 indsamlingsstandere fordelt over hele landet. Foto: Sophie Lund Rasmussen.

Der blev indsamlet i alt 697 døde pindsvin fra hele landet, og disse blev obduceret. En stor del af pindsvinene var trafikdræbte, og var derfor ikke intakte. I forbindelse med obduktionerne, blev en lang række organer og knogler udtaget fra de intakte og delvist intakte pindsvin til videre forskning, deriblandt lever, som blev brugt til de kemiske analyser af forekomsten af bekæmpelsesmidler i de danske pindsvin, som er beskrevet i denne rapport.

Indtil videre har forskerne involveret i Det Danske Pindsvineprojekt undersøgt og publiceret den genetiske sammensætning af bestanden (Rasmussen et al., 2019; Rasmussen et al., 2020), forekomsten af methicillin-resistente stafylokokker (MRSA) (Rasmussen et al., 2019; Larsen et al., 2022) og endoparasitter, såsom indvoldsorm, i pindsvinene (Rasmussen et al., 2021), samt en undersøgelse af aldersstrukturen og dødsårsager i bestanden (Rasmussen et al., 2023). Den indsamlede baggrundsviden om de pindsvin, der indgår i de toksikologiske undersøgelser, sætter os derfor i stand til at analysere effekten af alder, indavl, geografisk placering (inklusive habitattype: by og land) og køn i forhold til fund af bekæmpelsesmidler og andre kemiske forbindelser, i pindsvin.

6. Formål

I dette projekt finansieret af Miljøstyrelsen var formålet at undersøge forekomsten af kemiske stoffer, særligt bekæmpelsesmidler som pesticider og biocider, i danske pindsvin. Dette blev gjort ved at analysere leverprøver udtaget fra 115 døde pindsvin indsamlet over hele Danmark. Prøverne blev analyseret med to forskellige metoder: målrettede kemiske analyser for udvalgte bekæmpelsesmidler (rodenticider, herbicider og insekticider), samt non-target screening, der undersøgte indholdet af kemiske forbindelser, som ikke var defineret på forhånd, i 17 udvalgte leverprøver fra pindsvin.

Ud over viden om pindsvinenes eksponering for potentielt toksiske stoffer, som kan indgå i en samlet vurdering af pindsvinenes sundhedstilstand, kan pindsvin også fungere som bioindikatorer, da de langt overvejende deler habitat med mennesker, lever i små områder, og har et bredt fødevalg. Dermed kan undersøgelsens resultater også potentielt indikere, hvilke kemiske stoffer mennesker, og andre dyr, udsættes for i Danmark, samt vise udbredelsen og optagelsen af bestemte bekæmpelsesmidler i de naturlige fødekæder i Danmark.

7. Fremgangsmåder i projektet

7.1 Pindsvineprøverne

De døde pindsvin fra Det Danske Pindsvineprojekt blev obduceret på Zoologisk Museum i årene 2016-2018. I den forbindelse blev der udtaget lever fra de 411 af kadaverne, der stadig indeholdt lever. Leverne blev derefter opbevaret ved -20 °C indtil de skulle præpareres til de kemiske analyser. Vi prioriterede at bruge lever til de kemiske analyser, da dette organ nedbryder de fleste miljøfremmede kemiske stoffer, der optages i kroppen, samt fordi lever var det mest anvendte prøvemateriale i tidligere studier omhandlede kemiske analyser i pindsvin.

Til de kemiske analyser blev lever fra 115 pindsvin udvalgt på baggrund af mængden af data om dem, hvor individerne med mest baggrundsinformation blev prioriteret. Denne information omfattede: specifik alder, køn, lokation og habitattype (land eller by), dødsdato, viden om forekomst af endoparasitter og MRSA, samt dødsårsag (trafik, i pleje, naturligt). Med dødsårsagen "naturligt" menes pindsvin, der er fundet døde i naturen af anden årsag end trafikdrab.

Til non-target screening blev 17 individer fra samme prøvemateriale udvalgt baseret på alder, køn, lokalitet og habitattype, hvor det blev prioriteret at have individer repræsenteret fra så mange aldersgrupper, som muligt, og gerne et individ af hvert køn og habitattype (de ældste hunner og hanner i prøvematerialet blev henholdsvis 6 og 16 år gamle) (Rasmussen et al., 2023). For de individer, der blev udvalgt fra en aldersgruppe med mere end én repræsentant, blev udvælgelsen desuden foretaget baseret på en prioritering af mængden af baggrundsinformation.

7.2 Udvalgelse af pesticider og biocider til undersøgelsen

Da de døde pindsvin, anvendt i undersøgelsen, blev indsamlet i 2016, benyttede vi en kombination af Miljøstyrelsens rapporter om brugen af bekæmpelsesmidler i Danmark i 2016, 2017 samt 2019 til sammenligning til at udvælge de kemiske stoffer til analysen (Miljøstyrelsen, 2017, 2018, 2019, 2021). Vi udvalgte 7 typer af rodenticider til målrettede kemiske analyser: bromadiolon, coumatetralyl, brodifacoum, difenacoum, difethialon, chloralose (som består af isomererne α -chloralose, β -chloralose) for at få så bred en repræsentation af disse stoffer, som muligt. Følgende 4 typer af insekticider blev prioriteret: imidacloprid, permethrin (bestående af cis og trans-permethrin), og fipronil. Af herbicider blev 8 stoffer udvalgt til analyse: metamitron, 2-methyl-4- klorfenoxyeddikesyre (MCPA), 2,4-diklorfenoxyeddikesyre (2,4-D), diflufenican, prosulfocarb, bentazon, pendimethalin og fluroxypyr. Sneglebekæmpelsesmidlerne metaldehyd og ferrifosfat, insekticiderne tau-fluvalinat og pyrethrin, samt herbiciderne glyphosat og pelargonsyre, indgik i den oprindelige prioritering af stoffer, men blev udeladt, da de krævede andre analysemetoder end de øvrige stoffer.

7.2.1 Udvalgelse af rodenticider

Vi valgte at analysere 7 stoffer i kategorien rodenticider: bromadiolon, coumatetralyl, brodifacoum, difenacoum, difethialon, α -chloralose og β -chloralose. Disse blev udvalgt, da de er godkendt til brug i Danmark, og kan bruges af alle.

Ifølge Bekæmpelsesmiddeldatabasen (Miljøstyrelsen, 2023) er kuldioxid, samt chlorophacinon og cholecalciferol også godkendte rodenticider. De to sidstnævnte stoffer er kun til professionelt brug. Da cholecalciferol ikke fremgik af listen over solgte bekæmpelsesmidler i Bekæmpelsesmiddelstatistikken for 2016, og da chlorophacinon først blev godkendt til brug i 2015, men ikke blev indberettet til statistikken for 2016, valgte vi at udelade disse fra analysen (Miljøstyrelsen, 2017). Stoffet aluminium-phosphid, som ifølge Bekæmpelsesmiddelstatistikken for 2016 var godkendt til brug i 2016, blev udeladt fra analysen, da det er en giftig gas, som derfor ikke var sikker for personalet at teste for i laboratoriet. Vi valgte også at udelade rodenticidet floucomafen, da dette stof ifølge Bekæmpelsesmiddelstatistikken for 2016 blev benyttet meget

sjældent i årene omkring 2016, kun var godkendt til brug af professionelle, og er siden ultimo 2019 ikke længere tilladt at bruge i Danmark (Miljøstyrelsen, 2017, 2023).

Bromadiolon, coumatetralyl, brodifacoum, difenacoum og difethialon er alle antikoagulanter, der er langsomtvirkende gifte, som hæmmer blodets evne til at størkne. Stofferne forhindrer leveren i at danne stoffet prothrombin, som er nødvendigt for at blodet kan størkne. Forgiftede rotter og mus dør derfor af indre blødninger omtrent en uge efter, de har indtaget en dødelig dosis af giften. α -chloralose (og dets isomer β -chloralose) er det eneste ikke-antikoagulante rodenticid, som er godkendt til brug i Danmark. Stoffet bedøver musen og nedsætter stofskiftet markant, hvilket medfører et dødeligt fald i musens kropstemperatur.

7.2.2 Udvalgelse af insekticider

7.2.2.1 Fipronil

Fipronil er et phenylpyrazol-baseret insekticid og acaricid (midemiddel) der er blevet forhandlet siden 1996 (Beasley, 2020). Det sælges blandt andet som produktet Frontline, der bruges som loppemiddel til hund og kat, men også i eksempelvis myrelokkedåser (Miljøstyrelsen, 2023). Fipronil påvirker neurotransmitteren gamma-aminobutyrat (GABA), der styrer overførslen af den elektriske impuls mellem nervecellerne. Fipronil blokerer de GABA-styrede kloridkanaler i det centrale nervesystem, hvilket leder til forstyrrelser af GABA-receptorerne, der hæmmer nervesignalet ved at forhindre optaget af klorid-ioner. Denne påvirkning af GABA-receptorerne medfører ekstra neurologisk stimulation og døden hos målgruppen, insekterne (Jackson et al., 2009). Fipronil binder sig dårligere til GABA-receptorerne i pattedyr, hvilket gør stoffet mindre toksisk for pattedyr end insekter (Hainzl et al., 1998). Toksiciteten er ikke beskrevet videnskabeligt for pindsvin, men et tiltagende antal pindsvineplejere har udtrykt bekymring for at Fipronil kan være giftigt for pindsvin, da man har observeret dødsfald og neurologiske symptomer hos pindsvin, der er blevet behandlet mod lopper med produktet Frontline (Bunnell, 2009; Stocker, 2014). Dog bruges stoffet visse steder stadig aktivt i forbindelse med plejen af forældreløse, syge og tilskadekomne pindsvin. Fipronil ophober sig primært i fedtvæv hos pattedyr, men kan også måles i andre organer, med moderate niveauer fundet i rotters lever, bugspytkirtler, skjoldbruskkirtler og æggestokke sammenlignet med lavere niveauer i væv fra muskler, hjerter, hjerner samt hjerteblod (U.S. Environmental Protection Agency, 1996). Der er tidligere udtrykt bekymring for effekten af fipronil på reproduktionen af insektædende småpattedyr, som indtager invertebrater der er forgiftet med fipronil (Andrews et al., 2007), da tidligere studier har vist, at fipronil gav rotter nedsat fertilitet og kuldstørrelser (Gibbons et al., 2015). Fipronil kan nedbrydes til blandt andet fipronilsulfon og -sulfid, som også er toksiske stoffer (Cravedi et al., 2013; Singh et al., 2021).

Vi ønskede at undersøge om fipronil kunne påvises i pindsvin, samt hvilke niveauer der havde ophobet sig i pindsvinene, og om fipronil-forgiftning kunne vurderes som dødsårsag hos nogle af de undersøgte, døde pindsvin.

7.2.2.2 Imidacloprid

Imidacloprid er et insekticid, et neonikotinoid, som bruges til bekæmpelse af insekter. Imidacloprid var blandt de 10 mest anvendte aktivstoffer i kommunerne i 2016 (Miljøstyrelsen, 2018). Ifølge Bekæmpelsesmiddelstatistikken for 2016 blev der solgt 2255 kg imidacloprid i Danmark i 2016 (Miljøstyrelsen, 2017). Blandt private bliver imidacloprid brugt i form af loppemidler til kæledyr, da det er et indholdsstof i populære loppemidler som Advantage Vet, Advocate og Bayvantic. Imidaclopridbaserede loppemidler bruges også til behandling af lopper og andre ektoparasitter hos pindsvin i pleje. På baggrund af disse argumenter, valgte vi at prioritere at teste for dette insekticid.

Imidacloprid er et neonikotinoid, som bruges mod insekter. Neonikotinoide virker på specifikke receptorer (nikotinerge acetylkolinreceptorer) i nervesystemet hos lus og lopper, så de lammes, og dør (Ensley, 2007). For at reducere toksiciteten hos vertebrater, har man udvalgt

særlige neonikotinoide komponenter som er meget specifikke for de undertyper af nikotinreceptorer, der findes i insekter. Desuden bryder neonikotinoiderne ikke blod-hjerne-barrieren, hvilket også reducerer toksiciteten hos vertebrater (Yamamoto et al., 1995).

Brugen af imidacloprid giver anledning til bekymring grundet dets effekt på insekter såsom bier (Rundlöf et al., 2015; EFSA, 2018), hvilket i 2018 har ført til et EU-forbud mode at anvende visse neonikotinoider, herunder imidacloprid, som pesticider i landbruget hvor miljøet eksponeres (EU, 2018, 2021).

7.2.2.3 Permethrin

Permethrin er et syntetisk pyrethroid, der anvendes som insekticid.

Ifølge Bekæmpelsesmiddelstatistikken blev der solgt 1778 kg permethrin i Danmark i 2016 (Miljøstyrelsen, 2017) til anvendelse som pesticider, midler mod utøj og konserveringsmidler (mod skadedyr i tømmer). For private er der ikke registreret salg af permethrin i rapporten (Miljøstyrelsen, 2019), men andre pyrethroider som pyrethrin og cypermethrin er registreret. Alfa-cypermethrin er listet som et af de mest anvendte pesticider på offentlige arealer kommunalt regi i 2016 (Miljøstyrelsen, 2018). Med det høje samlede forbrug af pyrethroider må det derfor antages, at pindsvin potentielt kan udsættes for pyrethroider på forskellig vis i deres færden i naturen, og muligvis også via loppebehandling i pleje.

Permethrin er et neurotoksisk syntetisk pyrethroid, som påvirker natriumkanalerne i nervecellernes membraner ved at forlænge gennemstrømningen af natrium, hvilket forårsager depolarisering og medfører lammelse af de respiratoriske organer i insekter (Imamura et al., 2000). Stoffet er giftigt for katte, da de har en nedsat evne til at nedbryde stoffet effektivt fordi de mangler enzymet glukuronidase, som er nødvendigt for at nedbryde permethrin gennem processen glukuronidering (Dymond og Swift, 2008). Dette gælder dog ikke for hunde. Derfor indgår permethrin i en række loppemidler til hunde. Grundet toksiciteten hos kat, menes permethrin også at være giftigt for pindsvin, men dette er ikke videnskabeligt bekræftet.

7.2.3 Udvalgelse af herbicider

Vi udvalgte 8 herbicider til analyserne: metamitron, MCPA, 2,4-D, diflufenican, prosulfocarb, bentazon, pendimethalin og fluroxypyr. Da der er godkendt adskillige herbicider til brug i Danmark, tog vi i udvælgelsesprocessen udgangspunkt i statistikkerne for forbruget af stofferne i landet, baseret på Miljøstyrelsens rapporter om forbruget af herbicider blandt private, landmænd og kommunerne for året 2016. Baseret på forbruget beskrevet i rapporterne, udvalgte vi stofferne blandt de mest anvendte.

Stofferne MCPA, diflufenican og fluroxypyr var blandt de 10 mest benyttede aktivstoffer i det kommunale forbrug på offentlige arealer i 2016 (Miljøstyrelsen, 2018). MCPA og 2,4-D var på listen over mest anvendte herbicider i private haver i 2017 (Miljøstyrelsen, 2019). Alle de udvalgte stoffer blev solgt i store mængder til brug i landbruget i 2016, rangerende fra 17.292 kg solgt (2,4-D) til 357.344 kg solgt (prosulfocarb) (Miljøstyrelsen, 2017). Listen omfattede oprindeligt også glyphosat og pelargonsyre, som dog blev ekskluderet efter metodeudviklingen, da de ikke kunne analyseres med den samme metode.

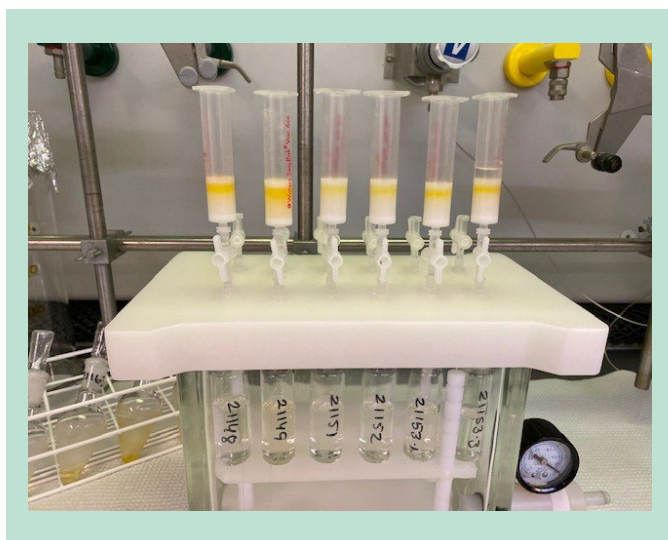
7.3 Målerettede kemiske analyser af udvalgte stoffer

Analysemetoden for de valgte stoffer er sammenfattet i Figur 3. Til analysen blev der afvejet 0,5 g lever, som blev blandet med Na₂SO₄ for at tørre prøven. Efter tilsætning af genfindingsstandarder (tebuconazole-d6 og propiconazole-d5) og interne standarder (¹³C-MCPA, ¹³C-2,4-D, ¹³C-imidacloprid, bromadiolone-d5 og brodifacoum-d4) blev prøverne ekstraheret med 7 ml acetonitril i ultralydsbad (10 minutter), efterfulgt af 2 minutter på Whirlmixer og 10 minutters centrifugering (3000 rpm). Solventfasen blev overført til en ny kolbe, og ekstraktionen blev gentaget to gange med 5 ml acetonitril. Ekstraktet blev inddampet til 1 ml ved brug af rotationsinddampet.



FIGUR 3. Sammenfatning af prøveforberedelsen til analysen af udvalgte stoffer.

I det næste skridt blev ekstraktet oprenset for at fjerne matricen og andre stoffer, der kan interferere med den kemiske analyse (Figur 4). Hertil blev ekstraktet overført til solid phase extraction (SPE) C18 kolonner, med Na_2SO_4 på toppen for at tilbageholde evt. vand fra ekstraktionen. Kolonnerne var konditioneret med 10 ml acetonitril. Efter elueringen fra SPE-kolonnen blev prøven indampet til tørhed ved brug af rotationsinddamper og under N_2 , og stofferne blev genopløst i methanol. Det færdige ekstrakt på 1 ml methanol blev filtreret ($0,2 \mu\text{m}$) i en vial til analyse med væskekromatografi og tandem-massespektrometri (LC-MS/MS).



FIGUR 4. Oprensning af prøver ved hjælp af SPE-kolonner. Foto: Annegrete Ljungqvist.

Instrumentet var et Agilent LC-MS/MS, med en LC-kolonne fra InfinityLab (Poroshell 120 EC-C18). Eluent A var MilliQ-vand med 5mM ammoniumacetat; eluent B var methanol med 5 mM ammoniumacetat. Analysen foregik med en A:B solventgradient, der startede med 95:5, skiftede til 50:50 og endte med 0:100. For hvert stof blev der opsamlet tre ioner.

De 115 prøver blev analyseret i seks prøvebatches. Hver batch omfattede også en blindprøve og to prøver af kalvelever, som var blevet spiket med alle stofferne, og derfor fungerede som positive kontroller. Genfindingen i de spikede kontrolprøver blev brugt til at korrigere resultaterne fra samme batch, hvis genfindingen var $<80\%$. De stoffer, der havde en matchende intern standard (MCPA, 2,4-D, imidacloprid og bromadiolone-d5) blev kvantificeret ved hjælp af denne mærkede standard, mens de øvrige stoffer blev kvantificeret med en ekstern kalibrering. For brodifacoum forelå der også en mærket standard, men ved en fejl blev der ikke opsamlet de rigtige ioner for denne standard. Tabel 1 sammenfatter kvantificeringsgrænserne for de udvalgte stoffer. Grænserne kan svinge mellem enkelte prøver, afhængig af den nøjagtige prøvemængde, der blev afvejet til analysen.

TABEL 1. Kvantificeringsgrænser (ng/g) for de udvalgte stoffer i ca. 0,5 g pindsvinelever.

*Grænserne vil variere mellem prøverne pga. forskelle i afvejningen. Den højeste grænse er relateret til en prøve på kun 0,2 g.

Stof	Kvantificeringsgrænse (ng/g)*
Coumatetralyl	0,07-0,23
Bromadiolon	0,08-0,28
Difenacoum	0,07-0,25
Brodifacoum	0,07-0,25
Difethialon	0,06-0,22
α -chloralose	0,07-0,25
β -chloralose	0,05-0,19
Imidacloprid	0,14-0,47
Diflufenican	0,07-0,23
Prosulfocarb	0,07-0,25
MCPA	0,07-0,25
2,4-D	0,08-0,26
Fluroxypyr	0,07-0,25
Metamitron	0,08-0,26
Bentazon	0,08-0,26
Pendimethalin	0,07-0,24
Fipronil	0,39-1,3
Cis-permethrin	0,05-0,18
Trans-permethrin	0,26-0,90

7.4 Statistiske analyser af resultaterne

7.4.1 Inddeling af prøver til analyser

Vi analyserede leverprøver af 115 pindsvin, fordelt på 43 hunner og 69 hanner og 3 af ukendt køn.

Individerne blev inddelt i 8 forskellige regioner (7 øer og 1 halvø), baseret på geolokationer: Sjælland (N= 37), Jylland nord for Limfjorden (N= 5), Møn (N= 1), Lolland (N=3), Fyn (N= 8), Falster (N= 9), Bornholm (N = 8) og Jylland syd for Limfjorden (N = 47).

Pindsvinene blev inddelt i aldersgrupper (i alt 11 aldersklasser): 0 år (N=34), 1 år (N= 16), 2 år (N= 11), 3 år (N= 16), 4 år (N= 14), 5 år (N= 12), 6 år (N= 5), 9 år (N= 2), 10 år (N= 2), 11 år (N= 1), 13 år (N= 1), 16 år (N= 1) (se Bilag 1).

Pindsvinene blev også inddelt i habitattyper som beskrevet i Rasmussen et al. (2019): byområder (N= 62) og landområder (N= 50), samt ukendt lokation (N= 3). De 3 individer der manglede information om lokation blev ekskluderet fra testen for effekten af habitatype (land eller by) på forekomsten af bekæmpelsesmidler i pindsvin.

7.4.2 Statistiske analyser

Koncentrationen (ng/g) for de 15 udvalgte stoffer blev bestemt i prøver fra 115 pindsvin og koncentrationen, og for de stoffer hvis niveauer var over detektionsgrænsen i prøverne, blev der lavet en oversigt med beskrivelse af procentvis detektionsrate, detektionsrate (DF, N/n), medianværdier (baseret på alle fund, inklusive værdier på 0), interkvartilområder (interquantile range (IQR)), minimum (min) og maksimum (max) af de fundne koncentrationer. De samme parametre blev beregnet for hver af de 8 regioner, som individerne blev inddelt i.

De kemiske stoffer blev inddelt i tre grupper: rodenticider (N= 7, coumatetralyl, bromadiolon, difenacoum, brodifacoum, difethialon, α -chloralose and β - chloralose), insekticider (N= 3, imidacloprid, permethrin (cis) and permethrin (trans)) og herbicider (N= 8, diflufenican, prosulfocarb, MCPA, 2,4-D, fluroxypyr, pendimethalin, bentazon and metamitron). Insekticidet fipronil blev ekskluderet fra testene, da det i ingen tilfælde nåede over detektionsgrænsen.

Mann-Whitney U tests (Fay og Proschan, 2010) blev udført for at teste om medianværdierne for koncentrationen af de detekterede stoffer varierede imellem kønnene, habitattyper (landområder eller byområder), hos pindsvin der havde endoparasitter eller ej, hos pindsvin der bar *mecC*-MRSA eller ej, samt mellem potentielt diegivende hunner (fra 1-årsalderen) og ikke-diegivende hunner (under 1 år gamle).

Pearsons product-moment korrelationstest blev anvendt til at undersøge om koncentrationerne af stofferne var højere i ældre individer. Testene blev både udført på alle individer på én gang (hanner og hunner i samme pulje), samt på henholdsvis hanner og hunner separat. Hvis der var <3 datapunkter blev testen ikke udført.

For at teste om koncentrationerne (medianværdierne) af de detekterede stoffer varierede imellem regionerne, blev pairwise Mann-Whitney U test anvendt.

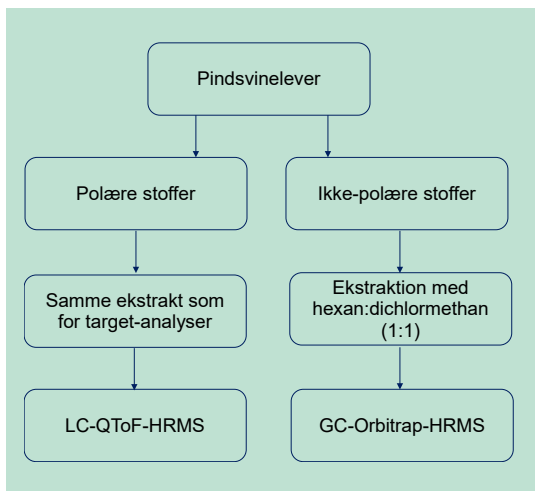
Fishers eksakte test blev benyttet til at undersøge om der var forskel på hvor mange af prøverne der viste resultater over detektionsgrænsen, fordelt på regioner. De regioner som havde <5% af antallet af prøver indeholdende de undersøgte stoffer, blev ekskluderet fra de statistiske tests, som beskrevet i Campbell (2007).

For at teste om der var en sammenhæng mellem dødsårsagen (død i pleje, trafikdræbt eller død naturligt) og koncentrationerne (medianværdierne) af de fundne stoffer i den målrettede kemiske analyse, benyttede vi Kruskal Wallis testen. Derefter testede vi også denne effekt for de stoffer (bromadiolon og metamitron), der viste signifikans i Kruskal Wallis testen, ved at lave pairwise Mann-Whitney U tests, hvor vi testede grupperne mod hinanden to og to, efterfulgt af Bonferroni korrektion.

Grundet det store antal tests korrigeredes data med en Bonferroni korrektion (Rice, 1989), og baseret på fremgangsmåden i Miller and Miller (1981), lavede vi separate sandsynlighedsud-sagn for hver af de kemiske stoffer der indgik i de statistiske analyser.

7.5 Non-target screening

For at dække hele spektret af kemikalier med forskellige fysisk-kemiske egenskaber, er der gennemført non-target screening-analyser på to forskellige instrumenter, til henholdsvis gas-kromatografi (GC) og væskekromatografi (LC). GC-metoden kan benyttes til at påvise hydrofobe, ikke polære stoffer, der kan fordampes. LC-metoden bruges til at påvise hydrofile, polære og mere vandopløselige stoffer. Både GC og LC var koblet til højopløsende massespektrometre (high resolution MS: HRMS), kaldet GC-Orbitrap-HRMS og LC-Quadrupole-time-of-flight (QToF)-HRMS. Fremgangsmåderne er beskrevet i Figur 5. Billeder af de to instrumenter, GC-Orbitrap-HRMS og LC-QToF-HRMS er vist i Figur 6.



FIGUR 5. En oversigt over fremgangsmåden for non-target screening af pindsvinelever.



FIGUR 6. Instrumenterne der blev brugt til non-target screening. LC-QToF-HRMS til venstre og GC-Orbitrap-HRMS til højre. Foto: Annegrete Ljungqvist.

Som det fremgår af Figur 5, er LC-non target-analysen baseret på de samme ekstrakter som analysen af de udvalgte stoffer (se eventuelt afsnittet "Målrettede kemiske analyser af udvalgte stoffer"). Til GC-analysen blev prøverne ekstraheret og behandlet som følger: 2 g pindsvinelever blev blandet med Na_2SO_4 for at tørre prøven og ekstraheret i ultralydsbad (10 minutter) med 8 ml af en blanding af hexan:dichlormethan (1:1). Inden ekstraktionen blev der tilsat ^{13}C -trans-chlordan til prøverne, for at bestemme genfindingen efter ekstraktions- og oprensningsprocessen. Ekstrakterne blev centrifugeret i 10 minutter (4000 rpm). Solventfasen blev overført til et nyt glas, og ekstraktionen blev gentaget to gange med 8 ml hexan. Selvom der helst skal undgås at fjerne nogle stoffer i prøveforberedelsen til non-target screening, er det ofte nødvendigt med en vis oprensning af ekstrakterne, da analysen ellers vil blive påvirket af matrice-effekter (Hajeb et al., 2022). Her blev ekstrakterne oprenset på syre-impregneret silicagel (40% svovlsyre). Syren har det primære formål at fjerne fedt fra ekstrakterne, men denne behandling medfører, at ikke-syrestabile stoffer også nedbrydes i processen. Non-target screening analysen vil derfor ikke være i stand til at påvise alle stofferne i prøven, da visse stoffer er fjernet i forbindelse med prøveforberedelsen. Stofferne blev elueret fra silica-kolonnerne med 20 ml hexan og 15 ml dichlormethan. Opløsningsmidlet blev inddampet ved brug af rotationsinddamper og under N_2 , og stofferne blev genopløst i 1 ml iso-oktan til GC-HRMS-analysen. Inden analysen blev der tilsat ^{13}C -PCN-27 som sprøjtstandard, for at

udligne evt. ustabilitet på instrumentet. De 17 prøver til non-target screening er analyseret i én batch, sammen med en blindprøve.

GC-HRMS-instrumentet var et Q Exactive GC-Orbitrap-HRMS (Thermo Fisher) med en TG-5SILMS GC-kolonne (30 m længde). Prøverne blev analyseret i electron ionization (EI) modus med et højt opløsende scan range på 60-900. LC-prøverne blev analyseret vha. ultrahigh-performance LC-QToF-HRMS (Quadrupole TOF 6600 ABSCIEX). Stofferne blev adskilt på en ACQUITY UPLC BEH RP18-kolonne ved 30°C. Eluenterne var vand med 0,1% myresyre (A) og methanol med 0,1% myresyre (B). Instrumentet kørte med en gradient, der startede med 100% eluent A og sluttede med 100% eluent B. Systemet kørte med electrospray ionization (ESI) i positiv og negativ modus.

7.6 Databehandling under non-target screening

Dataanalysen i non-target screening på GC-Orbitrap-HRMS fulgte metoden af Lee et al. (2019).

Toppe i chromatogrammet skulle opfylde en række kriterier for at indgå i identificeringsprocessen, blandt andet:

- Massefejl (mass error) <5 ppm
- Signal-støj-forhold (signal-to-noise ratio) >10
- Intensitet i Total Ion Chromatogram (TIC) >1000
- Ion-overensstemmelse >95%

For de stoffer, der opfyldte disse kriterier, blev massespektra sammenlignet med spektra i biblioteker (NIST og MassBank) ved hjælp af Thermo Scientifics software TraceFinder, hvor der skulle opnås en score på minimum 75 for at tælle som (foreløbig) korrekt identificering. Dernæst blev det undersøgt, om stoffernes signaler var mindst 10 gange større end signalet i blindprøven (sample/blank ratio) og at retentionstiden passede med den forventede retentions-tid (Δ retention time index <50).

Resultaterne fra non-target screening på LC-QToF-HRMS blev analyseret med softwaren OC Sciex og sammenlignet med massespektra i biblioteker (Natural_Products_HR-MS/MS_2.0, Pesticide HR-MS/MS_1.0, Metabolite HR-MS/MS_1.0, Antibiotic HR-MS/MS_1.0, Fluorochemical HR-MS/MS_2.0, Forensic HR-MS/MS_2.1 and Mycotoxin HR-MS/MS_1.0), hvor der skulle opnås en score på henholdsvis 70 og 50%. Følgende kriterier skulle være opfyldt:

- Minimumsignal (peak height) på 10000
- Massetolerance på 20 ppm
- Signal-støj-forhold >3

Ligesom i de GC-baserede analyser skulle alle toppe overstige et evt. tilsvarende signal i blindprøven med minimum faktor 10. I et sidste skridt blev alle stofferne fra både GC- og LS-kørslerne gennemgået manuelt og kontrolleret for falsk positive identificeringer.

GC-HRMS-analysen indikerede tilstedeværelsen af POP-stofferne p,p'-dichlordiphenyldichloroethylen (p,p'-DDE), som er en metabolit af insekticidet dichlordiphenyltrichlorethan (DDT), he-xachlorbenzen (HCB) og forskellige polychlorerede biphenyler (PCB'er). Da der forelå analysekemiske standarder for disse stoffer, kunne deres tilstedeværelse verificeres. For PCB'erne omfattede denne bekræftende analyse congenenerne 118, 138, 153, 156 og 180.

8. Resultater

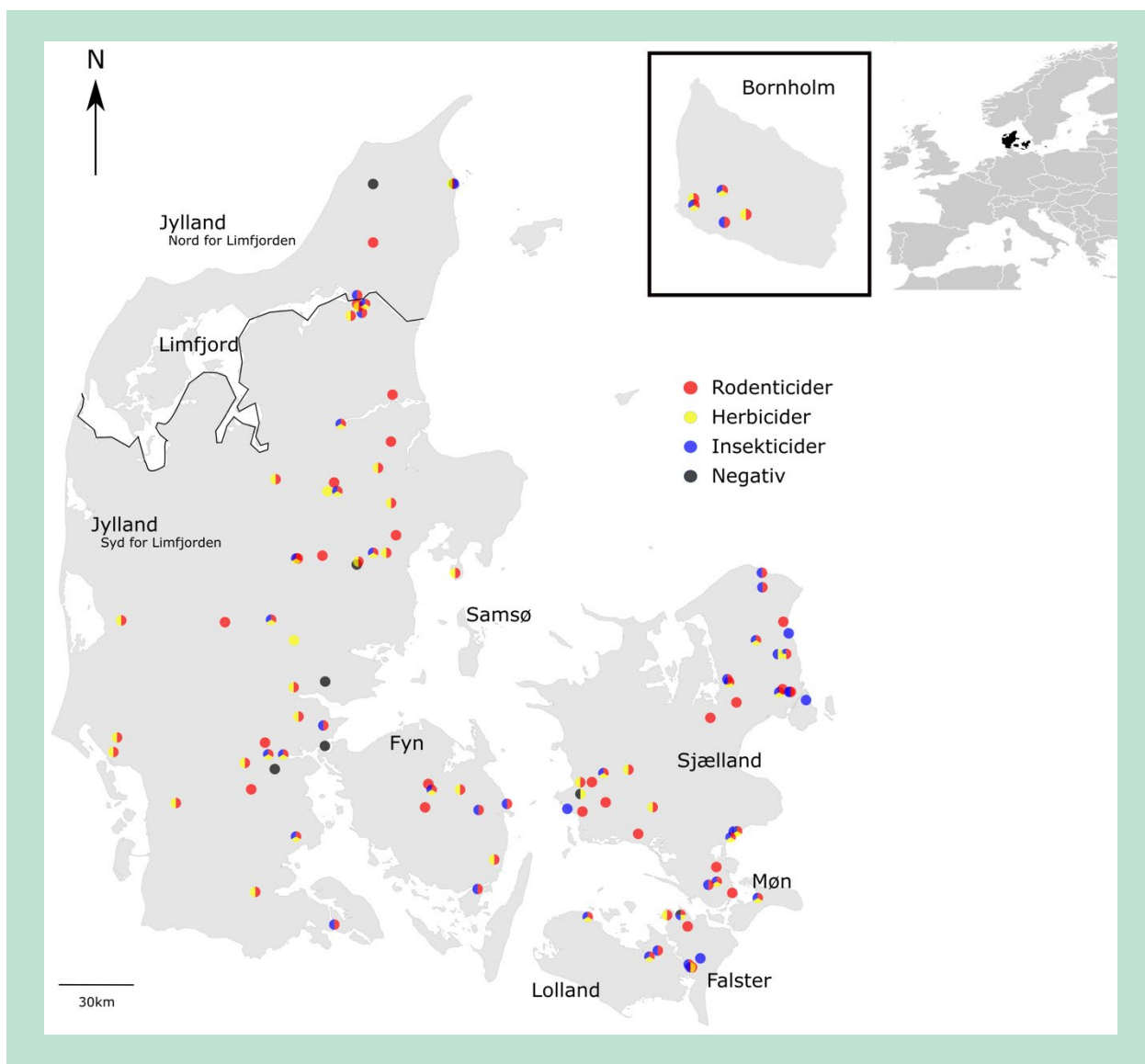
8.1 Målerettede kemiske analyser af udvalgte stoffer

I alt blev 19 stoffer udvalgt til kemiske analyser. De fordelte sig på 7 rodenticider, 4 insekticider og 8 herbicider. Vi testede leverne fra 115 pindsvin i disse analyser. Tabel 2 giver et overblik over resultaterne. Fipronil kom som det eneste stof ikke over detektionsgrænsen, og blev således ikke påvist i prøverne. Der blev fundet rodenticider i 84% af prøverne, insekticider i 43% af prøverne og herbicider i 50% af prøverne.

TABEL 2. Oversigt over detektionen af 19 kemiske stoffer i pindsvineleverne fra 115 individer indsamlet i 2016.

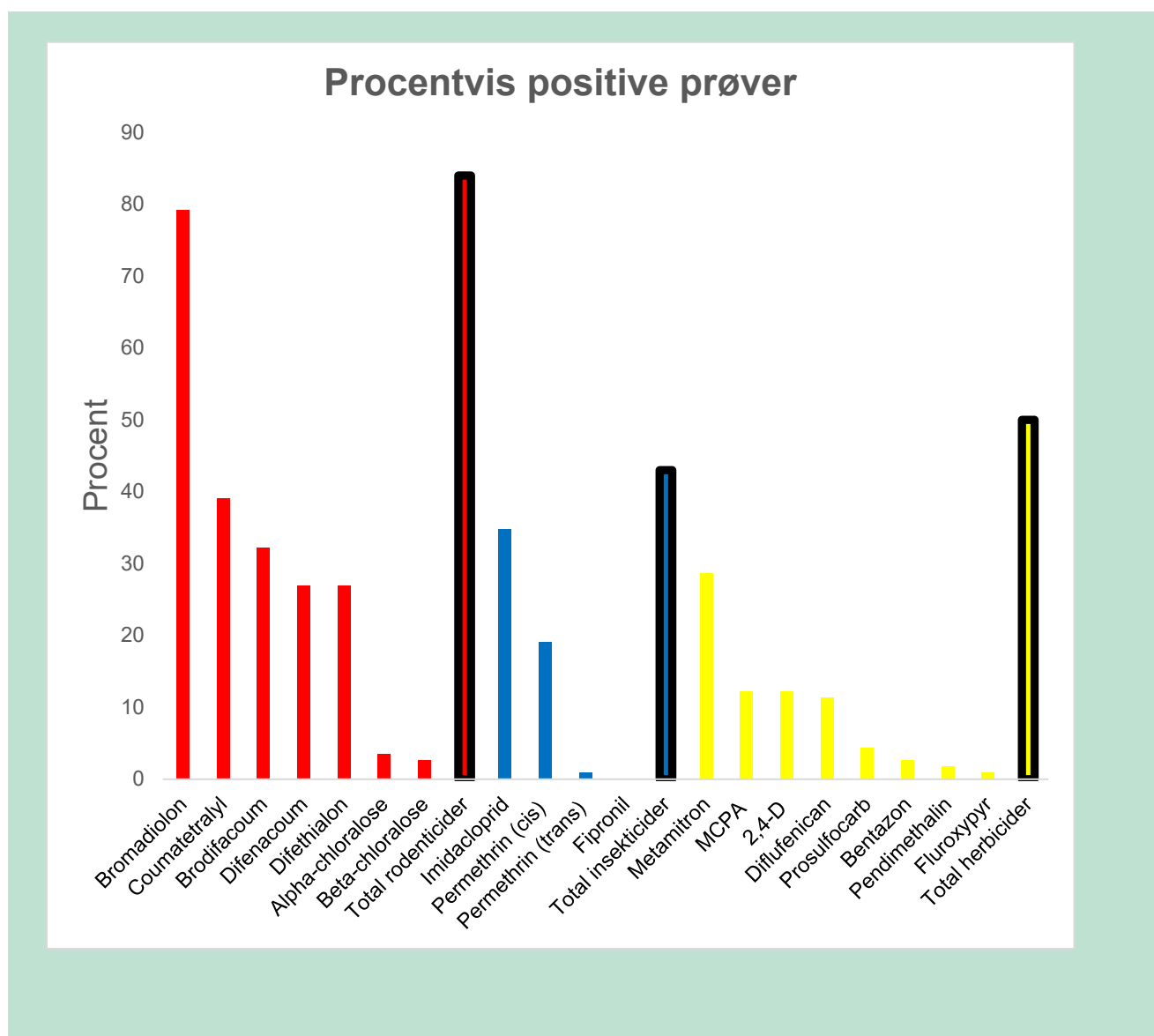
Kemisk stof	Type af bekæmpelsesmiddel	Antal positive prøver ud af 115 individer	Procentvis positive prøver	Procentvis positive prøver fordelt på type af bekæmpelsesmiddel
Bromadiolon	Rodenticid	91	79	84
Coumatetralyl	Rodenticid	45	39	
Brodifacoum	Rodenticid	37	32	
Difenacoum	Rodenticid	31	27	
Difethialon	Rodenticid	31	27	
α -chloralose	Rodenticid	4	3	
β -chloralose	Rodenticid	3	3	
Imidacloprid	Insekticid	40	35	43
Permethrin (cis)	Insekticid	22	19	
Permethrin (trans)	Insekticid	1	1	
Fipronil	Insekticid	0	0	
Metamitron	Herbicide	33	29	50
MCPA	Herbicide	14	12	
2,4-D	Herbicide	14	12	
Diflufenican	Herbicide	13	11	
Prosulfocarb	Herbicide	5	4	
Bentazon	Herbicide	3	3	
Pendimethalin	Herbicide	2	2	
Fluroxypyr	Herbicide	1	1	

Figur 7 viser den geografiske spredning af de 115 døde pindsvin, der indgik i undersøgelsen, samt hvilken kategori af bekæmpelsesmidler, der blev fundet i de enkelte individer.



FIGUR 7. Overblik over den geografiske spredning af de 115 døde pindsvin, der indgik i undersøgelsen, samt hvilke kategorier af bekæmpelsesmidler, der blev fundet i de enkelte individer.

Figur 8 illustrerer det procentvise antal positive prøver ud af 115 testede individer, for hver af de 19 undersøgte bekæmpelsesmidler.

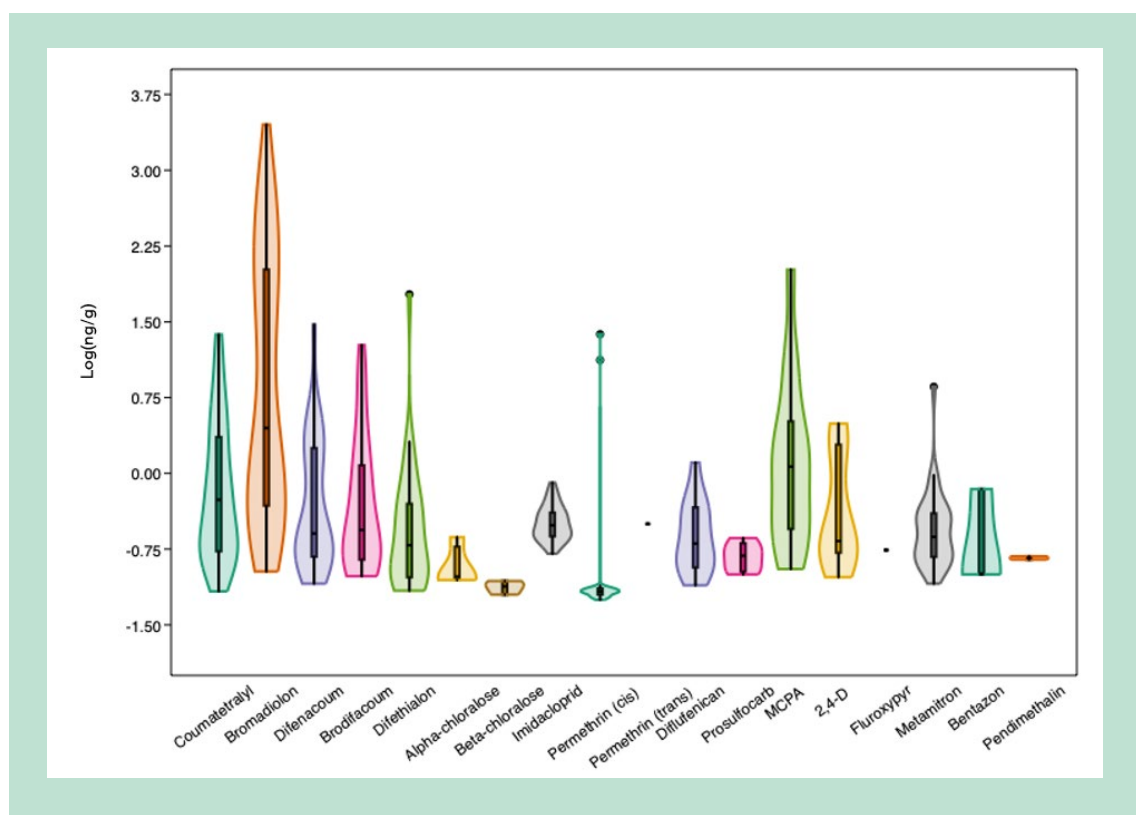


FIGUR 8. Præsentation af det procentvise antal positive prøver ud af 115 testede individer, for hver af de 19 testede kemiske stoffer. Rodenticider (rød), insekticider (blå), herbicider (gul), samt den totale procentvise repræsentation for hver gruppe af bekæmpelsesmidler (markeret med sort).

De målrettede kemiske analyser viste detektionsfrekvenser, der rangerede mellem 0,9% for fluroxypyr og permethrin (trans) og op til 79,1% for bromadiolon, med en medianværdi på 12,2% og interkvartilområder (interquartile range, IQR) på mellem 2,6-29,6% for alle de testede kemiske stoffer (se Tabel 3 og Figur 9). Detektionsfrekvenser og medianværdier for de 8 kategoriserede lokaliteter er vist i Bilag 2.

TABEL 3. Et overblik over resultaterne for tests af de 19 udvalgte stoffer i de 115 leverprøver fra pindsvin. Antal positive prøver (N), procentvis fordeling af positive prøver (%), medianværdierne for koncentrationerne af bekæmpelsesmidlerne (Median), minimum koncentration (Min), maksimum koncentration (Max), samt interkvartilområder (interquartile range (IQR)). Stoffet fipronil er udeladt af tabellen, da der ikke blev fundet niveauer over detektionsgrænsen for dette bekæmpelsesmiddel (0,39-1,3 ng/g wet weight (ww)).

	Rodenticider							Insekticider					Herbicider					
	Couma- tetralyl	Broma- diolon	Difena- coum	Brodi- facoum	Difethi- alon	α- chlora- lose	β- chlora- lose	Imida- cloprid	Perme- thrin (cis)	Perme- thrin (trans)	Diflu-fe- nican	Prosul- focarb	MCPA	2,4-D	Fluro- xypyr	Meta- mitron	Benta- zon	Pendi- methalin
N	45 (39,1%)	91 (79,1%)	31 (27,0%)	37 (32,2%)	31 (27,0%)	4 (3,5%)	3 (2,6%)	40 (34,8%)	22 (19,1%)	1 (0,9%)	13 (11,3%)	5 (4,3%)	14 (12,2%)	14 (12,2%)	1 (0,9%)	33 (28,7%)	3 (2,6%)	2 (1,7%)
Min (ng/g)	0,07	0,11	0,08	0,10	0,07	0,09	0,06	0,16	0,06	0,32	0,08	0,10	0,11	0,09	0,17	0,08	0,10	0,14
Max (ng/g)	23,68	2832,77	29,72	18,58	59,22	0,23	0,09	0,81	23,83	0,32	1,28	0,23	103,64	3,11	0,17	7,20	0,70	0,15
Median (ng/g)	0,55	2,81	0,25	0,28	0,19	0,10	0,08	0,31	0,07	0,32	0,20	0,15	1,18	0,21	0,17	0,24	0,10	0,15
25% IQR (ng/g)	0,17	0,48	0,15	0,14	0,09	0,09	0,06	0,24	0,06	0,32	0,12	0,11	0,29	0,16	0,17	0,15	0,10	0,14
75% IQR (ng/g)	2,28	103,81	1,78	1,20	0,50	0,20	0,09	0,41	0,07	0,32	0,46	0,20	3,90	1,92	0,17	0,40	0,70	0,15



FIGUR 9. Violinplot med outliers og en præsentation af første (bred streg, 25%) og tredje (smal streg, 75%) kvartil af de logaritme-transformerede koncentrationer, der blev fundet for

de 19 testede stoffer i leveren fra 115 pindsvin. Y-aksen viser den logaritmetransformerede koncentration i ng/g.

Der blev ikke fundet nogen signifikant forskel på medianværdierne for koncentrationerne af de testede kemiske stoffer imellem kønnene (N= 69 hanner og N= 43 hunner), eller imellem individer fra land (N= 50) eller byområder (N= 62), for pindsvin med (N= 80) eller uden (N= 29) endoparasitter, samt pindsvin der bar (N= 48) eller ikke bar (N= 29) *mecC*-MRSA, eller mellem potentielt diegivende hunner (>1 år, N= 26) og ikke-diegivende hunner (<1 år, N= 17), heller ikke før Bonferroni korrektionen blev udført ($p > 0,05$).

Korrelationstesten viste ingen effekt af alder i forhold til koncentrationen af kemiske stoffer (R-værdier: -0,17-0,115; p-værdier: 0,07-0,99), heller ikke før Bonferroni korrektionen blev udført. Korrelationstesten for køn, med hanner separat (R-værdier: -0,24-0,20; p-værdier: 0,051-0,98) og hunner separat (R-værdier: -0,27-0,25; p-værdier: 0,08-0,53) var ikke signifikante, hverken før eller efter Bonferroni korrektionen.

Medianværdierne for koncentrationerne af de kemiske stoffer for hver af de grupperede geografiske regioner testet med pairwise Mann-Whitney U tests viste ingen forskel mellem lokaliteterne.

For de førnævnte tests var det gældende, at de forskellige individer blev sammenlagt i én pulje i forhold til alle de forskellige faktorer, vi testede. Det drejede sig om eksempelvis aldersgrupper, køn, lokationer, dødsårsager. Dette blev gjort for at opnå en tilstrækkelig prøvestørrelse til at kunne udføre de statistiske tests, således at der eksempelvis ved testen for forskelle mellem regioner, blev anvendt resultater for individer af begge køn, samt alle aldersgrupper og dødsårsager i prøvestørrelsen.

Der blev fundet signifikante forskelle i forekomsten af tre bekæmpelsesmidler imellem forskellige regioner af Danmark, ved brug af analysemetoden Fisher's exact test:

- Rodenticidet difenacoum havde en højere forekomst i pindsvin fra Jylland syd for Limfjorden (46,5%) sammenlignet med Sjælland (21,6%) ($p = 0,03$).
- Rodenticidet difethialon havde en højere forekomst hos individer fra Sjælland (37,8%) sammenlignet med individer fra Jylland syd for Limfjorden (16,3%) ($p = 0,04$).
- Insekticidet imidacloprid havde en højere forekomst i pindsvin fra Sjælland (45,9%) i forhold til Jylland syd for Limfjorden (23,2%) ($p = 0,04$).

Da vi testede for effekten af dødsårsagen på koncentrationerne af de fundne stoffer, fandt vi at trafikdræbte pindsvin havde højere koncentrationer af bromadiolon i kroppen sammenlignet med pindsvin, der døde af naturlige årsager ($p = 0,04$).

8.2 Non-target screening

Levere fra 17 pindsvin blev udvalgt til non-target screening med LC-QToF-HRMS og GC-Orbitrap-HRMS. Tabel 4 viser den tilgængelige baggrundsinformation om de pågældende pindsvin.

TABEL 4. Oversigt over baggrundsinformationen for de 17 udvalgte individer, hvis lever blev brugt til non-target screening.

ID-nummer	Alder	Post-nummer	Kommune	Køn	Dødsårsag	Breddegrad	Længdegrad	Habitat-type	<i>mecC</i> -MRSA	Region	Endoparasitter	Dødsdato
202	0	2610	København	Han	Naturligt	55,686061	12,458769	By	Positiv	Sjælland	Nej	24.10.2016
247	0	8766	Ikast-Brande	Hun	Naturligt	55,961713	9,392926	By	Negativ	Jylland syd for Limfjorden	Ja	Sommeren 2016

197	1	4654	Faxe	Hun	Naturligt	55,22057	12,175908	By	Positiv	Sjælland	Ja	12.09.2016
214	1	4654	Faxe	Han	Naturligt	55,203577	12,138386	By	Negativ	Sjælland	Ja	Ukendt
327	1	2840	Lyngby-Taarbæk	Han	Naturligt	55,816592	12,511846	By	Negativ	Sjælland	Ja	29.06.2016
239	2	5290	Kerteminde	Hun	Trafikdræbt	55,38476	10,527314	By	Positiv	Fyn	Nej	Juli 2016
210	3	4780	Vordingborg	Han	Naturligt	54,987339	12,292589	By	Positiv	Møn	Ja	30.07.2016
312	3	3450	Allerød	Hun	Naturligt	55,86579	12,327858	By	Negativ	Sjælland	Ja	28.07.2016
160	4	4200	Kalundborg	Hun	Trafikdræbt	55,428208	11,392723	Land	Positiv	Sjælland	Nej	07.07.2016
229	4	8983	Randers	Han	Trafikdræbt	56,571546	10,116142	Land	Positiv	Jylland syd for Limfjorden	Ja	24.06.2016
234	5	9500	Rebild	Han	Trafikdræbt	56,633424	9,81348	By	Positiv	Jylland syd for Limfjorden	Ja	Sommeren 2016
336	5	4840	Guldborgsund	Hun	Trafikdræbt	54,940548	11,832911	Land	Ukendt	Falster	Ja	29.09.2016
489	6	6100	Haderslev	Han	Naturligt	55,218627	9,55185	Land	Positiv	Jylland syd for Limfjorden	Ja	28.08.2016
539	6	6230	Aabenraa	Hun	Naturligt	55,026866	9,305407	By	Ukendt	Jylland syd for Limfjorden	Ja	16.10.2011
571	11	5884	Svendborg	Han	Naturligt	55,137311	10,730383	Land	Ukendt	Fyn	Ja	26.06.2016
403	13	5250	Odense	Han	Pleje	55,378719	10,357522	By	Ukendt	Fyn	Ja	23.10.2016
242	16	8600	Silkeborg	Han	Pleje	56,166745	9,538739	By	Negativ	Jylland syd for Limfjorden	Ja	10.07.2016

8.3 Resultater fra non-target screening med GC-Orbitrap-HRMS

Med GC-metoden blev 35 kemiske stoffer identificeret, inklusive POP-stoffer som p,p'-DDE, HCB og PCB'er. Der blev fundet 4 bekæmpelsesmidler i prøverne (2 herbicider, 1 fungicid og 1 insekticid). I alle 17 prøver blev der fundet D-homo-5alpha-androstane, et steroid, samt 1,1,4,5,6-pentamethyl-2,3-dihydro-1H-indene, som er et herbicid. I 16 ud af 17 prøver, blev der fundet 2,6-diisopropylnaphthalene, som også er et herbicid. De fundne p,p'-DDE, HCB og PCB'er blev desuden verificeret med target-analyser (PCB-118, PCB-138, PCB-153, PCB-156, PCB-180). Analysen viste flere PCB-toppe, men det er ikke muligt at identificere dem på congener-niveau uden en analysekemisk standard, da flere PCB-congenere kan have det samme massespektrum. Derfor er det kun muligt at bestemme dem på homolog-niveau, det vil sige med hensyn til deres antal Cl-atomer. Tabel 5 viser en oversigt over de fundne stoffer ved GC-metoden.

TABEL 5. Oversigt over identificerede kemiske stoffer ved analyse af 17 pindsvinelever med non-target screening med GC-Orbitrap-HRMS. * Indikerer at stoffets identifikation blev bekræftet ved brug af en analysestandard. ** Angiver de tilfælde hvor det ikke var muligt at identificere det specifikke PCB-nummer. Visse af de fundne stoffer kan anses som værende naturligt forekommende i pindsvin, eller være metabolitter af naturligt forekommende hormoner i pindsvin. Visse af de fundne stoffer kan have adskillige anvendelser, og derfor kan nogle være udeladt fra listen. *** (National Center for Biotechnology Information, 2023).

	Kemisk stof	CAS-nummer	Anvendelse	Kategori	ID	ENVS ID	Positive	% positive
1	1-Hexene, 4,5-dimethyl-	16106-59-5		Metabolit	197	20901	1	6

2	4-tert-butylstyrene	1746-23-2	Bruges ved fremstilling af polyester-, gummi -og plastikprodukter	Industrikemikalie	242 312 539	20907 20909 20913	3	18
3	Benzene, 2,4-diisocyanato-1-methyl-	584-84-9	Bruges til produktion af PU-skum, overfladebehandling, klæbemidler, tætningmidler, isoleringsmateriale, lak, gummi, spraymaling	Industrikemikalie	571	20914	1	6
4	Benzene, 1-(1,5-dimethylhexyl)-4-methyl-	1461-02-5			229 327	21198 21199	2	12
5	1,4,6,7-Tetramethyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene	19160-99-7			239	20906	1	6
6	1,1,4,5,6-Pentamethyl-2,3-dihydro-1H-indene	16204-67-4	Herbicide, men findes også i brændselsolie, samt i produkter, der reducerer skadelige kemikalier i eksempelvis asfalt ***	Herbicide	160 197 202 210 214 234 239 242 247 312 336 403 489 539 571 229 327	20900 20901 20902 20903 20904 20905 20906 20907 20908 20909 20910 20911 20912 20913 20914 21198 21199	17	100
7	1,1,2,2,3,3-Hexamethylindane	91324-94-6			242 403	20907 20911	2	12
8	Naphthalene, 6-butyl-1,2,3,4-tetrahydro-	30654-45-6			160 197 210 214 234 239 247 312 489 539 571 229	20900 20901 20903 20904 20905 20906 20908 20909 20912 20913 20914 21198	12	71
9	Benzene, 1-(1-buten-3-yl)-4-pentyl-				160 239 312 539	20900 20906 20909 20913	4	24

1 0	2,6-Diisopropylnaphthalene	24157-81-1	Væksthæmmer, som forhindrer kartofler i at spire under opbevaring.	Herbucid	197 202 210 214 234 239 242 247 312 336 403 489 539 571 229 327	20901 20902 20903 20904 20905 20906 20907 20908 20909 20910 20911 20912 20913 20914 21198 21199	16	94
1 1	Hexachlorobenzene*	118-74-1	Fungicid til at be- skytte korn af af- grøder mod svampeangreb (forbudt under Stockholm Kon- ventionen). Kan også dannes i in- dustrielle proces- ser.	Fungicid	210 239 242 403 539	20903 20906 20907 20911 20913	5	29
1 2	3,5-di-tert-butyl-4-hydroxy- benzaldehyde	16220-98-0	En metabolit af 2,6-di-tert-butylcy- clohexa-2,5-di- ene-1,4-dione, Syntetisk fenolisk antioxidant. Bru- ges som tilsæt- ningsstof i for- brugsprodukter som fedtholdige varer samt plastik og maling.	Tilsætningsstof	160 489 571	20900 20912 20914	3	18
1 3	di-p-Tolylacetylene	2789-88-0		Industrikemalie	239	20906	1	6
1 4	Galaxolide	1222-05-5	Syntetisk duftstof som bruges i par- fumer	Kemikalie i forbruger- produkter	210 489	20903 20912	2	12
1 5	2-Phenyltetralin	29422-13-7	I kosmetik og ren- gøringsmidler	Kemikalie i forbruger- produkter	239	20906	1	6
1 6	n-Hexadecanoic acid	57-10-3	Den mest almin- delige fedtsyre i dyr, planter og mi- kroorganismer	Fedtsyre	229 327	21198 21199	2	12
1 7	Tetrachlorinated PCB ** RT 21,42		PCB (Industri- kemikalie som blev forbudt i Danmark i 1977 ved brug i byggeriet i åbne systemer, samt i	PCB	202 403 489	20902 20911 20912	3	18

1986 for brug i
lukkende syste-
mer såsom tekni-
ske komponenter)

18	Tetrachlorinated PCB ** RT 21,55		PCB (Industri- kemikalie som blev forbudt i Danmark i 1977 ved brug i byggeriet i åbne systemer, samt i 1986 for brug i lukkende syste- mer såsom tekni- ske komponenter)	PCB	202 403 489	20902 20911 20912	3	18
19	4,4'-Diphenylmethane diiso- cyanate	101-68-8	Bruges til fremstil- ling af poly- urethanskum (PU-skum)	Industrikemikalie	160 197	20900 20901		
20	Pentachlorinated PCB **		PCB (Industri- kemikalie som blev forbudt i Danmark i 1977 ved brug i byggeriet i åbne systemer, samt i 1986 for brug i lukkende syste- mer såsom tekni- ske komponenter)	PCB	20 214 234 242 403 489	20902 20904 20905 20907 20911 20912	6	35
21	D-Homo-5alpha-and- rostane	35575-26-9	Steroid	Lægemiddel, eller mu- ligvis naturligt fore- kommende	160 197 202 210 214 234 239 242 247 312 336 403 489 539 571 229 327	20900 20901 20902 20903 20904 20905 20906 20907 20908 20909 20910 20911 20912 20913 20914 21198 21199	17	100
22	p,p'-DDE *	72-55-9	En metabolit af DDT, et tidligere anvendt insekticid	Insekticid	160 202 210 234 239 242 247 312 336 403	20900 20902 20903 20905 20906 20907 20908 20909 20910 20911	12	71

					571	20914		
					229	21198		
2	Anthracene, 9-butyl-		Polycyklisk Aromatisk Hydrocarbon		160	20900	1	6
3	1,2,3,4-tetrahydro-							
2	2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB-118) *	31508-00-6	PCB (Industriemikalie som blev forbudt i Danmark i 1977 ved brug i byggeriet i åbne systemer, samt i 1986 for brug i lukkede systemer såsom tekniske komponenter)	PCB	403	20911	3	18
4					242	20907		
					202	20902		
2	Tert-octyldiphenylamine	68921-45-9	Bruges i smøremiddel og som stabilisator	Industriemikalie	160	20900	1	6
5								
2	1,3-Dicyclohexylbutane	41851-35-8			160	20900	1	6
6								
2	2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (PCB-153) *	38380-07-3	PCB (Industriemikalie som blev forbudt i Danmark i 1977 ved brug i byggeriet i åbne systemer, samt i 1986 for brug i lukkede systemer såsom tekniske komponenter)	PCB	197	20901	12	71
7					202	20902		
					210	20903		
					214	20904		
					234	20905		
					239	20906		
					242	20907		
					336	20910		
					403	20911		
					489	20912		
					539	20913		
					571	20914		
2	2,2',3,4,4',5'-hexachlorobiphenyl (PCB-138) *	55215-18-4	PCB (Industriemikalie som blev forbudt i Danmark i 1977 ved brug i byggeriet i åbne systemer, samt i 1986 for brug i lukkede systemer såsom tekniske komponenter)	PCB	403	20911	1	6
8								
2	Heptachlorinated PCB **		PCB (Industriemikalie som blev forbudt i Danmark i 1977 ved brug i byggeriet i åbne systemer, samt i 1986 for brug i	PCB	202	20902	3	18
9					210	20903		
					403	20911		

lukkende syste-
mer såsom tekni-
ske komponenter)

3 0	2,3,3',4,4',5-hexachloro- biphenyl (PCB 156) *	38380-08-4	PCB (Industri- kemikalie som blev forbudt i Danmark i 1977 ved brug i byggeriet i åbne systemer, samt i 1986 for brug i lukkende syste- mer såsom tekni- ske komponenter)	PCB	202 403	20902 20911	2	12
3 1	heptachlorobiphenyl (PCB- 180) *	74472-50-7	PCB (Industri- kemikalie som blev forbudt i Danmark i 1977 ved brug i byggeriet i åbne systemer, samt i 1986 for brug i lukkende syste- mer såsom tekni- ske komponenter)	PCB	489 403 202	20912 20911 20902	3	18
3 2	Heptachlorinated PCB **		PCB (Industri- kemikalie som blev forbudt i Danmark i 1977 ved brug i byggeriet i åbne systemer, samt i 1986 for brug i lukkende syste- mer såsom tekni- ske komponenter)	PCB	202 403	20902 20911	2	12
3 3	Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)- 4-hydroxy-, octadecyl ester	2082-79-3	Bruges i en række produkter relateret til over- fladebehandling, rengøringsmidler, luftfriskere, voks, smøremidler, klæ- bemidler, tæt- ningsmidler og poleringsmidler	Industrikemikalie	160	20900	1	6
3 4	1H-Indene, 5-(1,1-di- methylethyl)-2,3-dihydro- 1,1-dimethyl-	38393-97-4			197 202 210 214 234 239 242 312 403 489 539	20901 20902 20903 20904 20905 20906 20907 20909 20911 20912 20913	11	65

3	1,2-Dihydro-3-phenylnaph-	20669-52-7	Metabolit	239	20906	1	6
5	thalene						

8.4 Resultater fra non-target screening med LC-QToF-HRMS

Ved brug af LC-HRMS-metoden blev 38 forskellige stoffer beskrevet. Iblant disse var 24 lægemidler, samt bromadiolon, som også blev undersøgt med de målrettede kemiske analyser. Der blev fundet i alt 11 bekæmpelsesmidler, fordelt på fungicider, herbicider, insekticider og rodenticider. Biocidet 8-Hydroxyquinoline blev desuden fundet i 14 ud af 17 prøver. Tabel 6 viser hvilke stoffer der blev fundet ved LC-metoden.

TABEL 6. Oversigt over identificerede kemiske stoffer ved analyse af 17 pindsvineleverer med non-target screening med LC-QToF-HRMS. Visse af de fundne stoffer kan anses som naturligt forekommende i pindsvin, eller være metabolitter af naturligt forekommende hormoner i pindsvin. Visse af de fundne stoffer kan have adskillige anvendelser, og derfor kan nogle være udeladt fra listen.

	Kemisk stof	CAS-Nummer	Anvendelse	Kategori	ID	ID	Positive	% positive
					ENVS	ENVS		
1	8-Hydroxyquinoline	148-24-3	Biocid (industrikemikalie, desinfektionsmiddel, insekticid, fungicid). Godkendt som biocid indtil 1989.	Biocid/diverse	20900 20902 20903 20904 20905 20906 20907 20908 20909 20910 20911 20912 20914 21198	160 202 210 214 234 239 242 247 312 336 403 489 571 229	14	82
2	Triticonazole	131983-72-7	Fungicid til at rense korn	Fungicid	21199	327	1	6
3	4-Aminobenzoic acid	150-13-0	Fungicid, forekommende i UV-filtre (solcreme), farvestof i madvarer og tekstiler	Fungicid	20913	539	1	6
4	Boscalid	188425-85-6	Fungicid	Fungicid	20912	489	1	6
5	Azoxystrobin	131860-33-8	Fungicid	Fungicid	20912	489	1	6
6	Cyprodinil	121552-61-2	Fungicid	Fungicid	20906 20908	239 247	2	12
7	Fenpropidin	67306-00-7	Fungicid	Fungicid	20904	214	1	6
8	Atrazin	1912-24-9	Herbicid, forbudt i Danmark siden 1994	Herbicid	20903 20906 20910 21198	210 239 336 229	4	24
9	Kortisol	50-23-7	Naturligt hormon	Naturligt hormon	20901 20902 20904 20907 20909 20911	197 202 214 242 312 403	6	35
1 0	Stryknin	57-24-9	Forekommer i vilde planter (rævekage eller bræknødpil). Brugt til be-	Rodenticid, plan-	20914 21198	571 229	2	12

			kæmpele af blandt andet mus og røtter. Findes i Nux Vomica, som er homøopatiske dråber (kvalmestillende).					
1 1	Indoleacetic acid (IAA)	87-51-4	I plantehormoner eller i stoffer der regulerer plantevækst. IAA er også en metabolit af tryptophan, og produceres derfor ofte af bakterieaktivitet i fordøjelseskanalen hos pattedyr	Plantehormoner eller metabolit af tryptophan	20900 20902 20903 20904 20906 20908 20910 20911 20912	160 202 210 214 239 247 336 403 489	9	53
1 2	Bromadiolon	28772-56-7	Rodenticid	Rodenticid	21198 20911	229 403	2	12
1 3	Etofenprox	80844-07-1	Insekticid (insekter, snegle, mider). I loppemiddel til hunde i form af pyrethroid, som er en syntetisk form af pyrethrin, som meget giftig for katte, og menes at kunne være giftig for pindsvin	Insekticid	20901 20912	197 489	2	12
1 4	Hydramethylnon	67485-29-4	Insekticid	Insekticid	20905	234	1	6
1 5	Triamterene	396-01-0	Triamteren er et kaliumbesparende diuretikum	Lægemiddel	20905 20907 20909 20910 20912 20913	234 242 312 336 489 539	6	35
1 6	Scopolamin	51-34-3	Et alkaloid der findes i planter fra nat- skyggefamilien. Bruges som middel mod transportsyge. Kan også bruges veterinært mod kraftige mavesmerter	Lægemiddel, planter	20908 20909 20910	247 312 336	3	18
1 7	Ciprofloxacin	85721-33-1	Antibiotikum	Lægemiddel	20904	214	1	6
1 8	Aminorex (Levamisol)	2207-50-3	Metabolit af Levamisol, der bruges til behandling mod orm hos pindsvin	Lægemiddel	20900 20901 20902 20904 20907 20909 21199	160 197 202 214 242 312 327	7	41
1 9	Sildenafil	139755-83-2	Aktivstoffet i lægemidler, der bruges til at behandle impotens	Lægemiddel	20906 20907 20908 20909 20913	239 242 247 312 539	5	29
2 0	Butorphanol		Syntetisk opioid, smertestillende	Lægemiddel	21199	327	1	6
2 1	Halazepam	23092-17-3	Benzodiazepin, mod angst og søvnforstyrrelser	Lægemiddel	20902	202	1	6
2 2	Norbuprenorphine	78715-23-8	Metabolit af det syntetiske opioid Buprenorphin, som er smertestillende	Lægemiddel	20912	489	1	6

2 3	Gabapentin	60142-96-3	Gabapentin bruges til at behandle epilepsi og perifere neuropatiske smerter	Lægemiddel	20903 20904 20906 20911	210 214 239 404	4	24
2 4	Fluphenazine	69-23-8	Antipsykotikum	Lægemiddel	20907 20909	242 312	2	12
2 5	Oxybutynin	5633-20-5	Oxybutynin er et middel mod overaktiv blære. Virker afslappende på muskelsammentrækninger i urinblæren.	Lægemiddel	20901 20903 20905 20907 20911 20912 20914	197 210 234 242 403 489 571	7	41
2 6	Mazindol	22232-71-9	Et lægemiddel, der stimulerer centralnervesystemet og bruges som middel til at dæmpe sultfølelsen. Bruges i behandling mod fedme. Ikke godkendt i Danmark	Lægemiddel	20901 21198 21199	197 229 327	3	18
2 7	Methyltestosterone	58-18-4	Anabolsk steroid	Lægemiddel	20914 21198 21199	571 229 327	3	18
2 8	Mefloquine	53230-10-7	Malaria medicin	Lægemiddel	20904 20905	214 234	2	12
2 9	N-Propylamphetamin	51799-32-7	Psykoaktivt (euforiserende) stof	Lægemiddel	20902 20903 20912	202 210 489	3	18
3 0	Enrofloxacin	93106-60-6	Antibiotikum	Lægemiddel	20904	214	1	6
3 1	Sarafloxacin	98105-99-8	Antibiotikum	Lægemiddel	20904	214	1	6
3 2	Thiopropazate	84-06-0	Antipsykotikum	Lægemiddel	20902 20905	202 234	2	12
3 3	Thiopropazine	316-81-4	Antipsykotikum	Lægemiddel	20905	234	1	6
3 4	Methylphenidate	113-45-1	Ritalin. Lægemiddel mod narkolepsi og forstyrrelse af opmærksomhed, aktivitet og impulsivitet (ADHD).	Lægemiddel	20906	239	1	6
3 5	Dihydromorphine	509-60-4	Semi-syntetisk opioid	Lægemiddel	20906	239	1	6
3 6	Salicylsyre	69-72-7	Metabolit af acetylsalicylsyre (smertestillende), men forekommer også i produkter til at opløse det yderste hudlag, til behandling af eksempelvis ringorm eller aktinisk keratose	Lægemiddel, planter (pil)	20906 20910 20912 20914 21198	239 336 489 571 229	5	29
3 7	Erythromycin	114-07-8	Antibiotikum	Lægemiddel	20911	403	1	6
3 8	Genistein	446-72-0	Angiogenesehæmmer (kræftbehandling) og et naturligt forekommende phytoøstrogen i planter	Lægemiddel, planter (derfor måske forekomme i kattermad via soja)	20900 20903 20906 20908 20910 20912	160 210 239 247 336 489	8	47

20913	539
21199	327

9. Diskussion

9.1 Sammenligning med tidligere studier

I de målrettede kemiske analyser fandt vi en høj forekomst af de tre hovedgrupper af bekæmpelsesmidler, vi undersøgte. Der blev fundet rodenticider i 84% af prøverne, insekticider i 43% af prøverne og herbicider i 50% af prøverne. Så vidt vi ved, er der på nuværende tidspunkt ikke tidligere publiceret undersøgelser af forekomsten af insekticider og herbicider i pindsvin. Et britisk studie fra 2010 undersøgte forekomsten af seks forskellige rodenticider i pindsvin, der døde i pleje i England fra 2004-2006 og fandt at i alt 67% af 120 undersøgte pindsvinelever indeholdt rodenticider. Flocoumafen, som vi ikke testede for i nuværende undersøgelse, blev kun fundet i et enkelt tilfælde i det britiske studie, hvorimod difenacoum, der oftest blev detekteret, blev fundet i 48% af prøverne (N= 57/120) (Dowding et al., 2010a). I nuværende undersøgelse, fandt vi difenacoum i 27% af prøverne (N= 31/115), hvorimod bromadiolon blev fundet i 79% af alle prøverne (N= 91/115), imod 19% i de britiske prøver. Detektionsfrekvenserne er dog ikke nødvendigvis direkte sammenlignelige, da kvantificeringsgrænserne sandsynligvis vil være forskellige mellem to undersøgelser. De to undersøgelser analyserede fire af de samme rodenticider: bromadiolon, difenacoum, coumatetralyl og brodifacoum. Medianværdierne for koncentrationerne i de danske og britiske pindsvin, var forskellige, da de britiske prøver viste langt højere koncentrationer, end de danske for alle fire stoffer. Bromadiolon (DK= 0,003 µg/g versus UK= 0,05 µg/g), difenacoum (DK= 0.0002 µg/g versus UK= 0,06 µg/g), coumatetralyl (DK= 0,0006 µg/g versus UK= 0,06 µg/g), og brodifacoum (DK= 0,0003 µg/g versus UK= 0,06 µg/g).

Et dansk studie fra 2015 (Elmeros et al., 2015) beskriver en høj forekomst af bromadiolon i husmår (99%) og ildere (94%), samt en lavere forekomst på mellem 5-21% i småpattedyr som mus og spidsmus. Det høje detektionsniveau i rovdirene er interessant, da pindsvin er ådselsædere, og dermed også er eksponeret for sekundær forgiftning ved at spise forgiftede mus og rotter. Studiet fandt koncentrationer af bromadiolon på mellem 0-364 ng/g wet weight (ww) i småpattedyrene, og op til 2355 ng/g ww for mårdyrene (Elmeros et al., 2015). Vi detekterede koncentrationer af bromadiolon på mellem 0-2833 ng/g ww i pindsvinene, hvilket er på niveau med koncentrationerne fundet i mårdyrene, der også præderer på småpattedyr. Fundet af rodenticider i 84% af vores 115 prøver fra pindsvin, bidrager yderligere til at påvise, hvor udbredte rodenticiderne er i fødekæderne i den danske natur.

9.2 Detektionsfrekvenser og statistiske analyser

Da detektionsfrekvenserne for en del af de analyserede stoffer i vores målrettede kemiske analyser var ganske lave (se Tabel 2), påvirkede dette også vores statistiske analyser. Prøvestørrelsen kunne være for lav til at stofferne kunne indgå i de statistiske tests, eller overordnet set for lav til at vise effekt af de faktorer, vi testede for. Derfor var det ikke overraskende, at det kun var for stoffet bromadiolon at vi fandt en sammenhæng mellem dødsårsagen og koncentrationen, da dette stof havde den højeste detektionsfrekvens på 79%, og dermed gav en større prøvestørrelse af analysere. Vi havde forventet at se højere koncentrationer af rodenticider i pindsvin, der døde af naturlige årsager (døde i naturen af en anden årsag end trafik) eller døde i pleje, da pindsvineplejerne jævnligt rapporterer om pindsvin, der indlægges med forgiftningssymptomer, ofte med døden til følge. Dog viste den statistiske analyse i dette tilfælde, at koncentrationerne af bromadiolon var signifikant højere i trafikdræbte pindsvin sammenlignet med individer, der blev fundet døde af andre årsager i naturen. Dette kan muligvis skyldes, at der var en højere repræsentation af trafikdræbte pindsvin (N= 43) i prøvestørrelsen sammenlignet med plejede (N= 20) og individer der døde naturligt (N= 28). Desuden var fordelingen af aldersgrupper også varierende i de tre kategorier af dødsårsager.

I det hele taget ville de statistiske analyser være blevet stærkere hvis det havde været muligt at analysere et højere antal prøver. Der er stadig omtrent 300 pindsvinelever tilbage fra Det Danske Pindsvineprojekt, som kan anvendes i eventuelle fremtidige projekter.

9.3 Forekomsten af ikke-godkendte kemiske stoffer og naturligt forekommende stoffer

De bekæmpelsesmidler, der blev testet i de målrettede kemiske analyser, var alle godkendt til brug i Danmark i 2016. Men blandt de 16 bekæmpelsesmidler, der blev fundet i forbindelse med non-target screening af lever fra 17 pindsvin, var 12 ikke tilladt til brug i Danmark i 2016, eller helt fraværende i Bekæmpelsesmiddeldatabasen (Miljøstyrelsen, 2023).

Herbicidet atrazin har været forbudt i Danmark siden 1994, men blev fundet i 4 ud af 17 testede pindsvin. En mulig forklaring er langvarig persistens i miljøet og fortsat forekomst i pindsvins habitater og fødeemner 20 år efter udfasningen, men det kan heller ikke udelukkes at stoffet fortsat blev anvendt efter forbuddets ikrafttræden. Fundet af atrazin illustrerer tydeligt, at et stof kan forblive i miljøet længe efter, det blev forbudt, i dette tilfælde tilbage i 1994. Det samme gælder den høje forekomst af PCB, tilhørende gruppen af POP-stoffer eller "evigheds-kemikalier", i prøverne, da de blev udfaset helt i Danmark i 1986. PCB'er forekommer stadig i en del materialer produceret før 1986, såsom byggematerialer og elektronik. Desuden fandt vi lægemidler, som tilsyneladende ikke er godkendt af de danske myndigheder til brug i Danmark, inklusive stoffet mazindol, der blev tentativt identificeret ved non-target screening i hele 3 pindsvin ud af 17 testede. Da det har egenskaber tilsvarende amfetamin, er det ikke utænkeligt at det er i omløb som narkotikum i Danmark, men det er i så fald bekymrende, at det fører til eksponering af pindsvin. Det bør understreges, at kun de non-target screening resultater, der er bekræftet med analysekemiske standarder (p,p'-DDE, HCB, forskellige PCB'er) kan anses for sikre, mens usikkerheden er større for de øvrige non-target screening resultater (Schymanski et al., 2015). Desuden kan non-target screening også detektere stoffer, eller metabolitter af stoffer, der er naturligt forekommende i pindsvin. Et eksempel er stresshormonet kortisol, som blev fundet i koncentrationer over detektionsgrænsen i 6 ud af 17 testede pindsvin.

9.4 Forskelle i forekomst af bekæmpelsesmidler baseret på regioner

Prøvematerialet indeholdt lever fra pindsvin indsamlet over hele Danmark (se eventuelt Figur 6). Ved sammenligning af detektionsfrekvenserne af de testede bekæmpelsesmidler i vores målrettede kemiske screening, fandt vi tre statistisk signifikante forskelle. For rodenticidet difenacoum var der en højere forekomst i pindsvin fra Jylland syd for Limfjorden (46,5%) sammenlignet med Sjælland (21,6%), mens rodenticidet difethialon og insekticidet imidacloprid viste en højere detektionsfrekvens iblandt individer fra Sjælland (henholdsvis 37,8% og 45,9%) sammenlignet med Jylland syd for Limfjorden (henholdsvis 16,3% og 23,2%). Dette tyder på forskellige forbrugsmønstre mellem Sjælland og Jylland, men årsagerne er spekulative. Når man sammenligner den estimerede gennemsnitsforekomst af hunde og katte hos danskere i Region Syddanmark og Region Midtjylland, sammenlignet med Region Hovedstaden og Region Sjælland, har 22% hunde mod 21% på Sjælland, og 14% har katte sammenlignet med 17% på Sjælland (Lund og Sandøe, 2021) kan det ikke umiddelbart forklare den højere forekomst af insekticidet imidacloprid, der er aktivstoffet i visse loppemidler til kæledyr, i pindsvin fra Sjælland. Muligvis kan tilgængelighed i grænsehandlen eller engrossalg til landmænd, sammenlignet udbuddet til private forbrugere i hovedstadsområdet, spille en rolle for forekomsten af disse tre stoffer.

9.5 Sammenligning af niveauer i hanner og hunner

De statistiske analyser viste ikke tegn på forskelle i forekomsten af bekæmpelsesmidler i hanner og hunpindsvin. Tidligere studier af blandt andet isbjørne har vist, at mængden af eksempelvis POP-stoffer bliver reduceret under diegivning, da stofferne overføres via modermælken til afkommet, og derved reduceres i de voksne, diegivende hunner sammenlignet med hanner

(Daugaard-Petersen et al., 2018). For isbjørne er modermælken særdeles fedtholdig (mellem 27,5-35,8% fedt) (Derocher et al., 1993), hvilket betyder at POP-stoffer, der er lipofile stoffer, lettere optages i, og udskilles via, modermælken. Fedtprocenten i pindsvinmodermælk er blot 10% (Reeve, 1994) og dette kan muligvis forklare hvorfor vi ikke ser en lavere forekomst af de testede bekæmpelsesmidler, i hunpindsvin sammenlignet med hanpindsvin. Samtidig er de fysiske-kemiske egenskaber af de udvalgte stoffer forskellige fra typiske POP-stoffer, idet de fleste er mindre lipofile og nemmere at nedbryde.

9.6 Helbredsmæssige konsekvenser af tilstedeværelsen af bekæmpelsesmidler i pindsvin

Det har indtil videre kun været muligt at påvise konkrete, helbredsmæssige konsekvenser for pindsvinene såsom nogle enkelte, fatale tilfælde af forgiftning med høje koncentrationer af rodenticider. Man har fundet en potentiel ikke akut toksisk effekt af tilstedeværelsen af tungmetaller i pindsvin, i form af et øget antal fund af hyperplasi i galdeblærene hos pindsvin med højere koncentrationer af tungmetaller i kroppen (Baptista et al., 2023). En fremtidig histologisk undersøgelse af organer fra de pindsvin, der har indgået i vores undersøgelse, ville muligvis kunne belyse helbredsmæssige konsekvenser af tilstedeværelsen af de kemiske stoffer vi fandt i pindsvinene.

Da der ikke findes LD50 værdier for pindsvin for de stoffer, vi har testet for i denne undersøgelse, har vi for sammenligningens skyld anvendt nogle litteraturværdier for rotter.

Den højeste koncentration af bromadiolon vi fandt i pindsvinene, som var det oftest detekterede rodenticid blandt de otte testede, med 91 positive ud af 115 testede pindsvin, var 2,8 µg/g pindsvinelever. Denne koncentration blev fundet i en etårig han fra Nordjylland, der var trafikdræbt. LD50 for oral toksicitet for bromadiolon er 0,4 mg/kg kropsvægt for rotter, svarende til 0,4 µg/g kropsvægt (Alomar et al., 2018). Hvis LD50 for bromadiolon er sammenlignelig for pindsvin og rotter, viser det, at koncentrationen i leveren på det døde pindsvin, kunne have været letale. Det skal dog bemærkes, at koncentrationer i leveren sandsynligvis vil være højere end værdier i resten af dyret. Dog var medianværdierne for de positive prøver langt lavere, rangerende imellem 0,0004 µg/g til 0,0954 µg/g (se bilag 2).

For permethrin er LD50 oral dosering 480 mg permethrin/kg kropsvægt for pattedyr ved primær forgiftning (European Chemicals Agency ECHA, 2019). Det ville svare til en LD50 på 0,48 mg/g kropsvægt. Den højeste koncentration af permethrin i de 23 pindsvin ud af 115, der testede positiv for dette bekæmpelsesmiddel, var 23,8 ng/g, svarende til 0,024 µg/g, hvilket antageligt derfor ikke har været en dødelig koncentration. Det er blevet foreslået, at LD50 for katte skulle være 100 mg/kg, svarende til 100 µg/g, da katte, som beskrevet tidligere, ikke kan metabolisere stoffet. Dette kan også være gældende for pindsvin, men selv med en LD50 på 100 µg/g, er koncentrationerne af permethrin fundet i pindsvinene ikke dødelige.

Blandt de pindsvin, som testede positiv for imidacloprid, var den højeste koncentration 0,808 ng/g i leveren, svarende til 0,0008 µg/g, men medianværdien for de 39 positive prøver, var blot 0,0003 µg/g. Den akutte toksicitet for imidacloprid er lav, med LD50 oral dosering fra mellem 511-1084 mg/kg kropsvægt hos rotter varierende mellem studier, svarende til 511-1084 µg/g kropsvægt, samt >5000 µg/g kropsvægt når stoffet påføres rotters hud (Talcott, 2013). Dermed tyder det ikke på at der var letale doser af imidacloprid i de undersøgte pindsvin.

9.7 Lægemidler i pindsvin

Da Danmark har adskillige af Miljøstyrelsen godkendte plejestationer til pindsvin, er det almen praksis, at de danske pindsvin behandles med visse lægemidler, hvis de kommer i pleje grundet behandlingskrævende tilstande. Ingen lægemidler er som udgangspunkt godkendt til behandling af pindsvin, men der er skabt en praksis baseret på erfaring både i Danmark og i andre europæiske lande, hvor man har udviklet medicinlister og protokoller for medicinsk behandling af pindsvin. Efter at have konsulteret to dyrlæger med relevant faglig og praktisk erfaring med behandling af europæiske pindsvin, kan vi konstatere, at en række af de lægemidler

(mindst 12), som blev tentativt identificeret i pindsvinene i forbindelse med non-target screening, med sandsynlighed ikke anvendes til behandling af pindsvin (pers. comm. Rikke Hansen og Helle Hydeskov). Som beskrevet tidligere, er resultaterne fra non-target screening mere usikre end fra konventionelle analysekemiske metoder, og skal derfor tages med forbehold. Hvis tilstedeværelsen af disse lægemidler bekræftes, vil der sandsynligvis være andre eksponeringskilder end pindsvinenes behandling. Dette kan være via direkte indtag, hvilket højst sandsynligt er tilfældet med individ 202, der blev fundet død i en have i Rødovre med forgiftningssymptomer, med euforiserende stoffer og antipsykotiske midler i kroppen. I dette tilfælde kunne pindsvinet være kommet i kontakt med narkotika, der var blevet gemt eller smidt i en busk. Der er også tilfælde, der ikke umiddelbart kan forklares med direkte indtag, såsom den tentative identifikation af sildefanil, aktivstoffet i lægemidler til behandling af impotens, i 5 pindsvin (4 hunner og 1 han), der stammede fra henholdsvis Kerteminde, Silkeborg, Ikast-Brande, Allerød og Åbenrå. Eksponeringen for lægemidler kunne forekomme via spildevandsslam (indeholdende medicinrester fra mennesker) eller gylle (med medicinrester fra produktionsdyr), der spredes på markerne, hvor pindsvinene fouragerer, i bortskaftet affald eller i spildevand, eller i vores drikkevand (Miljøstyrelsen, 2015), men det forbliver på nuværende tidspunkt spekulativt. Pindsvin vil sjældent komme i kontakt med spildevand, medmindre de drikker vand fra søer eller vandløb hvortil der udledes spildevand. Desuden kan det ikke udelukkes, at pindsvin i særtilfælde kunne have adgang til septiktanke i landlige områder. En anden eksponeringskilde for kemikalier kan også være kattermad, som pindsvinene ofte bliver suppleringsfodret med i folks haver. Kattermad kan blandt andet indeholde fiskemel, der tilsyneladende var kilden til den høje forekomst af PFAS i økologiske æg fra høns, der blev fodret med produkter indeholdende fiskemel (DTU National Food Institute, 2023a, 2023b). Uanset kilden til eksponeringen, må det konstateres, at pindsvinene udsættes for en lang række lægemidler ved deres blotte tilstedeværelse i miljøet.

Desuden kunne den relativt hyppige forekomst af permethrin i de testede pindsvin (N= 23/115) tyde på, at også pindsvin, ligesom katte, kan have udfordringer ved at metabolisere dette stof, da det ifølge en række videnskabelige undersøgelser skulle være udskilt via urinen allerede indenfor få dage efter endt behandling i rotter og mennesker (Tornero-Velez et al., 2012), og at flere af de pindsvin, der testede positiv for dette stof, ikke døde i pleje, hvor de formodes at kunne være blevet behandlet med loppemiddel indeholdende permethrin.

10. Konklusion

Da pindsvinet deler levesteder med mange andre vertebrater, kan det betragtes som en relevant indikatorart for eksponering og forekomst af miljøfremmede stoffer som bekæmpelsesmidler. Pindsvinet viste sig at være en pålidelig indikatorart for optagelsen af bekæmpelsesmidler, idet det var muligt at påvise et bredt spektrum af kemiske stoffer, heriblandt ikke længere tilladte POP-stoffer, i de undersøgte pindsvinelever. På baggrund af denne undersøgelse af døde pindsvin indsamlet i 2016, kan det konkluderes, at pindsvin er eksponeret for forskellige miljøfremmede stoffer i Danmark, herunder en række lægemidler beregnet til behandling af mennesker. Om de miljøfremmede stoffer udgør en risiko for pindsvins helbred, forbliver uvist, da der mangler data om toksiske tærskelniveauer for europæiske pindsvin. På baggrund af denne undersøgelse, er eksponeringen af de undersøgte stoffer generelt jævn, med undtagelse af nogle få regionale forskelle, og er dermed ikke påvirket af faktorer som pindsvinens alder, køn, habitattype, eller hvorvidt de bærer endoparasitter eller *mecC-MRSA*.

11. Perspektivering

Som beskrevet i metodeafsnittet, blev enkelte stoffer fra den oprindelige prioriteringsliste udeladt, da de ikke kunne analyseres med den samme analysekemiske metode. Dog mener vi stadig de er relevante at undersøge i fremtidige projekter. Det drejer sig blandt andet om glyphosat-baserede herbicider, den tidligere mest anvendte herbicidtype, samt stoffet metaldehyd, der var det aktive stof i sneglegift, der særligt blev benyttet i villahaverne i kampen mod dræbersneglene, indtil det blev forbudt i 2001. Det formodes, at borgere kunne have indkøbt og benyttet stoffet i grænsehandlen efterfølgende. Derudover ville det også være relevant at analysere forekomsten af endnu flere insekticider, samt forskellige POP-stoffer, inklusive bromerede flammehæmmere (BFR), og PFAS. Indikationen af en lang række lægemidler i pindsvinelever, giver også anledning til yderligere undersøgelser, for at bekræfte resultaterne fra non-target screening og undersøge mulige eksponeringskilder. Dette kunne også føre til hypoteser, om og hvordan, mennesker udsættes for samme præparater via denne eksponeringskilde, da vi i høj grad deler levesteder med pindsvinene. Derudover ville det være relevant at foretage analyser af den helbredsmæssige effekt af de kemiske stoffer for pindsvin, og stoffernes indflydelse på individernes fitness.

12. Referenceliste

Alleva, E., Francia, N., Pandolfi, M., De Marinis, A. M., Chiarotti, F., & Santucci, D. (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), 123-134. <https://doi.org/10.1007/s00244-005-0218-1>

Alomar, H., Chabert, A., Coeurdassier, M., Vey, D., & Berny, P. (2018). Accumulation of anti-coagulant rodenticides (chlorophacinone, bromadiolone and brodifacoum) in a non-target invertebrate, the slug, *Deroceras reticulatum*. *Science of the Total Environment*, 610, 576-582.

Andrews, N., Odenkirchen, E., & Hetrick, J. (2007). Fipronil, Environmental Fate and Ecological Effects Assessment and Characterization for Section 18 Registration of In-Furrow Applications to Rutabaga and Turnips. https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/cleared_reviews/csr_PC-129121_18-Apr-07_a.pdf

European Food Safety Authority (EFSA), (2018). Peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance imidacloprid considering the uses as seed treatments and granules. *EFSA Journal*, 16(2), e05178.

Baptista, C. J., Seixas, F., Gonzalo-Orden, J., Patinha, C., Pato, P., da Silva, E. F., Casero, M., Brazio, E., Brandão, R., & Costa, D. (2023). Hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) as bioindicators of heavy metal (loid) pollution. *Scientific Letters*, 1(Sup 1).

Baptista, C. J., Seixas, F., Gonzalo-Orden, J. M., Patinha, C., Pato, P., Silva, E. F. d., Casero, M., Brazio, E., Brandão, R., & Costa, D. (2023). High Levels of Heavy Metal (loid) s Related to Biliary Hyperplasia in Hedgehogs (*Erinaceus europaeus*). *Animals*, 13(8), 1359.

Beasley, V. R. (2020). Direct and indirect effects of environmental contaminants on amphibians. Amsterdam: Elsevier. doi: 10.1016/b978-0-12-409548-9.11274-6

Boland, L. A., & Angles, J. M. (2010). Feline permethrin toxicity: retrospective study of 42 cases. *Journal of feline medicine and surgery*, 12(2), 61-71.

Brakes, C. R., & Smith, R. H. (2005). Exposure of non-target small mammals to rodenticides: short-term effects, recovery and implications for secondary poisoning. *Journal of Applied Ecology*, 42(1), 118-128. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2005.00997.x>

British Hedgehog Preservation Society & People's Trust for Endangered Species. (2015). The State of Britain's Hedgehogs 2015. British Hedgehog Preservation Society & People's Trust for Endangered Species. https://www.britishhedgehogs.org.uk/pdf/SoBH_2015.pdf

British Hedgehog Preservation Society & People's Trust for Endangered Species. (2018). The State of Britain's Hedgehogs 2018. British Hedgehog Preservation Society & People's Trust for Endangered Species. <https://www.britishhedgehogs.org.uk/pdf/sobh-2018.pdf>

British Trust for Ornithology (BTO), commissioned by British Hedgehog Preservation Society and People's Trust for Endangered Species. (2011). The state of Britain's Hedgehogs 2011. <https://www.britishhedgehogs.org.uk/leaflets/sobh.pdf>

- Bunnell, T. (2009, October). An effective, harmless treatment for tick (*Ixodes hexagonus*) infestation in the hedgehog (*Erinaceus europaeus*). https://www.tonibunnell.co.uk/hedgehog_rehab.html
- Campbell, I. (2007). Chi-squared and Fisher–Irwin tests of two-by-two tables with small sample recommendations. *Statistics in medicine*, 26(19), 3661-3675.
- Christensen, T. K., Lassen, P., & Elmeros, M. (2012). High exposure rates of anticoagulant rodenticides in predatory bird species in intensively managed landscapes in Denmark. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 63, 437-444.
- Chrustek, A., Hołyńska-Iwan, I., Dziembowska, I., Bogusiewicz, J., Wróblewski, M., Cwynar, A., & Olszewska-Słonina, D. (2018). Current Research on the Safety of Pyrethroids Used as Insecticides. *Medicina*, 54(4), 61. <https://www.mdpi.com/1648-9144/54/4/61>
- Cravedi, J. P., Delous, G., Zalko, D., Viguié, C., & Debrauwer, L. (2013). Disposition of fipronil in rats. *Chemosphere*, 93(10), 2276-2283. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.07.083>
- d'Havé, H., Covaci, A., Scheirs, J., Schepens, P., Verhagen, R., & De Coen, W. (2005b). Hair as an indicator of endogenous tissue levels of brominated flame retardants in mammals. *Environmental science & technology*, 39(16), 6016-6020.
- d'Havé, H., Scheirs, J., Covaci, A., Schepens, P., Verhagen, R., & De Coen, W. (2006a). Non-destructive pollution exposure assessment in the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*): III. Hair as an indicator of endogenous organochlorine compound concentrations. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 25(1), 158-167.
- d'Havé, H., Scheirs, J., Covaci, A., van den Brink, N. W., Verhagen, R., & De Coen, W. (2007). Non-destructive pollution exposure assessment in the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*): IV. Hair versus soil analysis in exposure and risk assessment of organochlorine compounds. *Environmental Pollution*, 145(3), 861-868.
- d'Havé, H., Scheirs, J., Mubiana, V. K., Verhagen, R., Blust, R., & De Coen, W. (2005a). Non-destructive pollution exposure assessment in the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*): I. Relationships between concentrations of metals and arsenic in hair, spines, and soil. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 24(9), 2356-2364.
- d'Havé, H., Scheirs, J., Mubiana, V. K., Verhagen, R., Blust, R., & De Coen, W. (2006b). 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), 438-448.
- D'Havé, H. (2009). De egel als bio-indicator. Monitoring van milieuvervuiling. *Zoogdier*, 20(3), 12-15.
- Daugaard-Petersen, T., Langebæk, R., Rigét, F. F., Letcher, R. J., Hyldstrup, L., Jensen, J.-E. B., Bechshoft, T., Wiig, Ø., Jenssen, B. M., & Pertoldi, C. (2018). Persistent organic pollutants, skull size and bone density of polar bears (*Ursus maritimus*) from East Greenland 1892–2015 and Svalbard 1964–2004. *Environmental research*, 162, 74-80.
- Derocher, A. E., Andriashek, D., & Arnould, J. P. (1993). Aspects of milk composition and lactation in polar bears. *Canadian Journal of Zoology*, 71(3), 561-567.

Dickman, C. R. (1988). Age-related dietary change in the European hedgehog, *Erinaceus europaeus*. *Journal of Zoology*, 215, 1-14. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1988.tb04881.x>

Dimelow, E. (1963). Observations on the feeding of the hedgehog (*Erinaceus europaeus* L.). *Proceedings of the Zoological Society of London*,

Dowding, C. V., Shore, R. F., Worgan, A., Baker, P. J., & Harris, S. (2010a). Accumulation of anticoagulant rodenticides in a non-target insectivore, the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*). *Environmental Pollution*, 158(1), 161-166.

Dowding, C. V., Harris, S., Poulton, S., & Baker, P. J. (2010b). Nocturnal ranging behaviour of urban hedgehogs, *Erinaceus europaeus*, in relation to risk and reward. *Animal Behaviour*, 80(1), 13-21. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2010.04.007>

DTU National Food Institute. (2023a). Indhold af PFAS i fiskemel og via indhold i økologisk foder i økologiske æg. <https://www.food.dtu.dk/-/media/institutter/foedevareinstituttet/publikationer/pub-2023/pfas-i-oekologiske-aeg-og-foder-jan-2023.pdf?la=da&hash=308F1446F9AEC8E6746F84482DBDF5F84B2FD766>

DTU National Food Institute. (2023b). PFAS found in organic eggs in Denmark. Retrieved February from <https://www.food.dtu.dk/english/news/pfas-found-in-organic-eggs-in-denmark?id=789f9ba1-bdfc-4a7d-908b-fc6ccff4742>

Dymond, N. L., & Swift, I. M. (2008). Permethrin toxicity in cats: a retrospective study of 20 cases. *Australian Veterinary Journal*, 86(6), 219-223. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2008.00298.x>

Elliott, J. E., Hindmarch, S., Albert, C. A., Emery, J., Mineau, P., & Maisonneuve, F. (2014). Exposure pathways of anticoagulant rodenticides to nontarget wildlife. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186, 895-906.

Elmeros, M., Topping, C. J., Christensen, T. K., Lassen, P., & Bossi, R. (2015). Spredning af antikoagulerende rodenticider med mus og eksponeringsrisiko for rovdyr. (Bekæmpelsesmiddel-forskning, Issue. <https://www2.mst.dk/Udgiv/publikationer/2014/11/978-87-93283-12-1.pdf>

Ensley, S. (2007). CHAPTER 44 - Imidacloprid. In R. C. Gupta (Ed.), *Veterinary Toxicology* (pp. 505-507). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-012370467-2/50141-3>

EU (2018). COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2018/783 (Official Journal of the European Union, Issue. http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2018/783/oj

EU (2021). Kommissionens gennemførelsesforordning (EU) 2021/621 af 15. april 2021 https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/TA-9-2021-0284_DA.html

European Chemicals Agency (ECHA). (2019). PRODUCT ASSESSMENT REPORT OF A BIOCIDAL PRODUCT FOR NATIONAL AUTHORISATION APPLICATIONS. Product type 18: Permethrin. BC-YR023158-12. <https://www.echa.europa.eu/documents/10162/1edeb341-4d8b-67df-03c4-46c90e72b31f>

European Chemicals Agency ECHA. (2020). PRODUCT ASSESSMENT REPORT OF A BIOCIDAL PRODUCT (FAMILY) FOR NATIONAL AUTHORISATION APPLICATIONS. Product type: PT 18. Pyriproxyfen and Permethrin. Case Number in R4BP: BC-GY023113-30.

https://echa.europa.eu/documents/10162/4987673/105066_EU+BPR+-+Indorex+fam-ily+PAR+-+PT+18+-+Permethrin+-+Pyriproxyfen+-+Virbac+-+Non-confidential.pdf/4b5c6f45-6e17-57be-61b1-9821bdf2d46e

Fay, M. P., & Proschan, M. A. (2010). Wilcoxon-Mann-Whitney or t-test? On assumptions for hypothesis tests and multiple interpretations of decision rules. *Statistics surveys*, 4, 1.

Garcês, A., Soeiro, V., Lóio, S., Sargo, R., Sousa, L., Silva, F., & Pires, I. (2020). Outcomes, Mortality Causes, and Pathological Findings in European Hedgehogs (*Erinaceus europaeus*, Linnaeus 1758): A Seventeen Year Retrospective Analysis in the North of Portugal. *Animals*, 10(8), 1305. <https://www.mdpi.com/2076-2615/10/8/1305>

Gazzard, A., Boushall, A., Brand, E., & Baker, P. J. (2021). An assessment of a conservation strategy to increase garden connectivity for hedgehogs that requires cooperation between immediate neighbours: A barrier too far? *PLoS One*, 16(11), e0259537.

Gazzard, A., Yarnell, R. W., & Baker, P. J. (2022). Fine-scale habitat selection of a small mammalian urban adapter: the West European hedgehog (*Erinaceus europaeus*). *Mammalian Biology*, 102(2), 387-403.

Gemmeke, H. (1995). Untersuchungen über die Gefahr der Sekundärvergiftung bei Iqeln (*Erinaceus europaeus* L.) durch metaldehydvergiftete Ackerschnecken. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 47(9), 237-239.

Gibbons, D., Morrissey, C., & Mineau, P. (2015). A review of the direct and indirect effects of neonicotinoids and fipronil on vertebrate wildlife. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 103-118. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3180-5>

Haigh, A., O'Riordan, R. M., & Butler, F. (2012). Nesting behaviour and seasonal body mass changes in a rural Irish population of the Western hedgehog (*Erinaceus europaeus*). *Acta Theriologica*, 57(4), 321-331. <https://doi.org/10.1007/s13364-012-0080-2>

Hainzl, D., Cole, L. M., & Casida, J. E. (1998). Mechanisms for selective toxicity of fipronil insecticide and its sulfone metabolite and desulfinyl photoproduct. *Chemical research in toxicology*, 11(12), 1529-1535.

Hajeb, P., Zhu, L., Bossi, R., & Vorkamp, K. (2022). Sample preparation techniques for suspect and non-target screening of emerging contaminants. *Chemosphere*, 287, 132306.

Hof, A. R., & Bright, P. W. (2010). The value of agri-environment schemes for macro-invertebrate feeders: hedgehogs on arable farms in Britain. *Animal Conservation*, 13(5), 467-473. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2010.00359.x>

Hof, A. R., & Bright, P. W. (2016). Quantifying the long-term decline of the West European hedgehog in England by subsampling citizen-science datasets. *European Journal of Wildlife Research*, 62(4), 407-413. <https://doi.org/10.1007/s10344-016-1013-1>

Hubert, P., Julliard, R., Biagianti, S., & Poulle, M.-L. (2011). Ecological factors driving the higher hedgehog (*Erinaceus europaeus*) density in an urban area compared to the adjacent rural area. *Landscape and Urban Planning*, 103(1), 34-43. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2011.05.010>

Huijser, M. P., & Bergers, P. J. M. (2000). The effect of roads and traffic on hedgehog (*Erinaceus europaeus*) populations. *Biological Conservation*, 95(1), 111-116.

Imamura, L., Hasegawa, H., Kurashina, K., Hamanishi, A., Tabuchi, A., & Tsuda, M. (2000). Repression of activity-dependent c-fos and brain-derived neurotrophic factor mRNA expression by pyrethroid insecticides accompanying a decrease in Ca²⁺ influx into neurons. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 295(3), 1175-1182.

Jackson, D., Cornell, C. B., Luukinen, B., Buhl, K., & Stone, D. (2009). Fipronil Technical Fact Sheet. National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services. Retrieved October from <http://npic.orst.edu/factsheets/archive/fiptech.html>

Jones, C., Moss, K., & Sanders, M. (2005). Diet of hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) in the upper Waitaki Basin, New Zealand: implications for conservation. *New Zealand Journal of Ecology*, 29-35.

Keymer, I., Gibson, E., & Reynolds, D. (1991). Zoonoses and other findings in hedgehogs (*Erinaceus europaeus*): a survey of mortality and review of the literature. *The Veterinary Record*, 128(11), 245-249.

Krange, M. (2015). Change in the occurrence of the West European Hedgehog (*Erinaceus europaeus*) in western Sweden during 1950–2010. [MSc thesis, Karlstad University]. Sweden.

Larsen, J., Raisen, C. L., Ba, X., Sadgrove, N. J., Padilla-González, G. F., Simmonds, M. S. J., Loncaric, I., Kerschner, H., Apfalter, P., Hartl, R., Deplano, A., Vandendriessche, S., Černá Bolfiková, B., Hulva, P., Arendrup, M. C., Hare, R. K., Barnadas, C., Stegger, M., Sieber, R. N., . . . Larsen, A. R. (2022). Emergence of methicillin resistance predates the clinical use of antibiotics. *Nature*, 602(7895), 135-141. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04265-w>

Lee, S., Kim, K., Jeon, J., & Moon, H.-B. (2019). Optimization of suspect and non-target analytical methods using GC/TOF for prioritization of emerging contaminants in the Arctic environment. *Ecotoxicology and environmental safety*, 181, 11-17.

Lestremau, F., Willemin, M. E., Chatellier, C., Desmots, S., & Brochot, C. (2014). Determination of cis-permethrin, trans-permethrin and associated metabolites in rat blood and organs by gas chromatography–ion trap mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406(14), 3477-3487. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7774-z>

Lund, T. B., & Sandøe, P. (2021). Resultater fra undersøgelse af danskernes hold af og tilknytning til kæle- og hobbydyr gennemført i 2021 (IFRO Dokumentation Nr. 2021/5, Issue. https://static-curis.ku.dk/portal/files/275490890/IFRO_Dokumentation_2021_5.pdf

Mathews, F., & Harrower, C. (2020). IUCN – compliant Red List for Britain's Terrestrial Mammals. Assessment by the Mammal Society under contract to Natural England, Natural Resources Wales and Scottish Natural Heritage.

Miljøstyrelsen (2015). NOVANA-Screeningsundersøgelse for humane lægemidler i vandmiljøet. <https://naturstyrelsen.dk/media/133385/screening-for-humane-laegemidler-i-vandmiljoeet.pdf>

Miljøstyrelsen (2017). Bekæmpelsesmiddelstatistik 2016: Behandlingshyppighed og pesticidbelastning baseret på salg og forbrug. Redaktion: Jens Erik Ørum og Maria Sommer Holtze. (Orientering fra Miljøstyrelsen nr. 22). <https://www2.mst.dk/udgiv/publikationer/2017/11/978-87-93614-41-3.pdf>

Miljøstyrelsen (2018). Undersøgelse af forbruget af pesticider på offentlige arealer i 2016. Redaktion: Carsten Ellegaard, Mathias S. Halfdaner, Helene Fog og Jesper Kjølholt. (Miljøprojekt nr. 2038). <https://www2.mst.dk/Udgiv/publikationer/2018/08/978-87-93710-71-9.pdf>

Miljøstyrelsen (2019). Salg af pesticider til brug i private haver 2017. Redaktion: Kirsten Østergaard Martensen. (Orientering fra Miljøstyrelsen nr. 28). <https://mst.dk/service/publikationer/publikationsarkiv/2019/jan/salg-af-pesticider-til-brug-i-private-haver-2017/>

Miljøstyrelsen (2021). Bekæmpelsesmiddel-statistik 2019: Behandlingshyppighed og pesticid-belastning baseret på salg og forbrug (Orientering fra Miljøstyrelsen nr. 48). <https://www2.mst.dk/Udgiv/publikationer/2021/03/978-87-7038-279-3.pdf>

Miljøstyrelsen (2023). Bekæmpelsesmiddeldatabasen. <https://mst.dk/kemi/database-for-bekampelsesmidler/bmd/>

Miller, R. G., & Miller, R. G. (1981). Normal univariate techniques. Simultaneous statistical inference, 37-108.

Morris, P. (2018). Hedgehog (Collins New Naturalist Library Book 137). Collins. UK.

Müller, F. (2018). Langzeit-Monitoring der Strassenverkehrstopfer beim Igel (*Erinaceus europaeus* L.) zur Indikation von Populationsdichteveränderungen entlang zweier Teststrecken im Landkreis Fulda. Beiträge zur Naturkunde in Osthessen, 54, 21-26.

National Center for Biotechnology Information. (2023). PubChem Compound Summary for CID 14838848, Indan, 1,1,4,5,6-pentamethyl Retrieved April from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Indan_-1_1_4_5_6-pentamethyl

Pagh, S. (2004). Pindsvin og iberisk skovsnegl. Rapport for Dyrenes Beskyttelse.

Pagh, S. (2007). Pindsvin. In Dansk Pattedyratlas (pp. 20-23). Gyldendal.

Pettett, C. E., Moorhouse, T. P., Johnson, P. J., & Macdonald, D. W. (2017a). Factors affecting hedgehog (*Erinaceus europaeus*) attraction to rural villages in arable landscapes. European Journal of Wildlife Research, 63(3), 12, Article 54. <https://doi.org/10.1007/s10344-017-1113-6>

Rasmussen, S. L., Berg, T. B., Dabelsteen, T., & Jones, O. R. (2019). The ecology of suburban juvenile European hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) in Denmark. Ecology and Evolution, 9, 13174– 13187. <https://doi.org/10.1002/ece3.5764>

Rasmussen, S. L., Berg, T. B., Martens, H. J., & Jones, O. R. (2023). Anyone Can Get Old— All You Have to Do Is Live Long Enough: Understanding Mortality and Life Expectancy in European Hedgehogs (*Erinaceus europaeus*). Animals, 13(4), 626.

Rasmussen, S. L., Hallig, J., van Wijk, R. E., & Petersen, H. H. (2021). An investigation of endoparasites and the determinants of parasite infection in European hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) from Denmark. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2021.10.005>

Rasmussen, S. L., Larsen, J., van Wijk, R. E., Jones, O. R., Berg, T. B., Angen, O., & Larsen, A. R. (2019). European hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) as a natural reservoir of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying *mecC* in Denmark. PLoS One, 14(9), e0222031- e0222031. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222031>

- Rasmussen, S. L., Nielsen, J. L., Jones, O. R., Berg, T. B., & Pertoldi, C. (2020). Genetic structure of the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) in Denmark. *PLoS One*, 15(1): e0227205. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227205>
- Rasmussen, S. L., Schrøder, A. E., Mathiesen, R., Nielsen, J. L., Pertoldi, C., & Macdonald, D. W. (2021). Wildlife Conservation at a Garden Level: The Effect of Robotic Lawn Mowers on European Hedgehogs (*Erinaceus europaeus*). *Animals*, 11(5), 1191. <https://www.mdpi.com/2076-2615/11/5/1191>
- Rasmussen, S. L., Yashiro, E., Sverrisdóttir, E., Nielsen, K. L., Lukassen, M. B., Nielsen, J. L., Asp, T., & Pertoldi, C. (2019). Applying the GBS Technique for the Genomic Characterization of a Danish Population of European Hedgehogs (*Erinaceus europaeus*). *Genetics and Biodiversity (GABJ)*, 3(2), 78-86. https://www.researchgate.net/publication/335740671_Applying_the_GBS_technique_for_the_genomic_characterization_of_a_Danish_population_of_European_hedgehogs_Erinaceus_europaeus
- Rautio, A., Isomursu, M., Valtonen, A., Hirvela-Koski, V., & Kunnasranta, M. (2016). Mortality, diseases and diet of European hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) in an urban environment in Finland. *Mammal Research*, 61(2), 161-169. <https://doi.org/10.1007/s13364-015-0256-7>
- Rautio, A., Kunnasranta, M., Valtonen, A., Ikonen, M., Hyvärinen, H., Holopainen, I. J., & Kukkonen, J. V. (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, 642-651.
- Reeve, N. (1994). *Hedgehogs*. Poyser. London.
- Riber, A. B. (2006). Habitat use and behaviour of European hedgehog *Erinaceus europaeus* in a Danish rural area. *Acta Theriologica*, 51(4), 363-371. <https://doi.org/10.1007/bf03195183>
- Rice, W. R. (1989). Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 43(1), 223-225.
- Rundlöf, M., Andersson, G. K., Bommarco, R., Fries, I., Hederström, V., Herbertsson, L., Jonsson, O., Klatt, B. K., Pedersen, T. R., & Yourstone, J. (2015). Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. *Nature*, 521(7550), 77-80.
- Schanzer, S., Kröner, E., Wibbelt, G., Koch, M., Kiefer, A., Bracher, F., & Müller, C. (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, 130434.
- Schymanski, E. L., Singer, H. P., Slobodnik, J., Ipolyi, I. M., Oswald, P., Krauss, M., Schulze, T., Haglund, P., Letzel, T., & Grosse, S. (2015). Non-target screening with high-resolution mass spectrometry: critical review using a collaborative trial on water analysis. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 407, 6237-6255.
- Singh, N. S., Sharma, R., Singh, S. K., & Singh, D. K. (2021). A comprehensive review of environmental fate and degradation of fipronil and its toxic metabolites. *Environmental Research*, 199, 111316. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111316>
- Snodgrass Jr, H. L., & Nelson, D. C. (1982). Dermal penetration and distribution of ¹⁴C-labeled permethrin isomers.
- Spurr, E., & Drew, K. (1999). Invertebrates feeding on baits used for vertebrate pest control in New Zealand. *New Zealand Journal of Ecology*, 167-173.

Stocker, L. (2014). Notes from St Tiggywinkles: The scandal of toxic flea spray
<http://www.hedgehog-rescue.org.uk/documents/frontline.pdf>

Talcott, P. A. (2013). Chapter 28 - Miscellaneous Herbicides, Fungicides, and Nematocides. In M. E. Peterson & P. A. Talcott (Eds.), *Small Animal Toxicology* (Third Edition) (pp. 401-408). W.B. Saunders. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0717-1.00028-4>

Taucher, A. L., Gloor, S., Dietrich, A., Geiger, M., Hegglin, D., & Bontadina, F. (2020). Decline in Distribution and Abundance: Urban Hedgehogs under Pressure. *Animals*, 10(9), Article 1606. <https://doi.org/10.3390/ani10091606>

Teerlink, J., Hernandez, J., & Budd, R. (2017). Fipronil washoff to municipal wastewater from dogs treated with spot-on products. *Science of the Total Environment*, 599-600, 960-966. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.219>

Topping, C. J., & Elmeros, M. (2016). Modeling exposure of mammalian predators to anticoagulant rodenticides. *Frontiers in Environmental Science*, 4, 80.

Tornero-Velez, R., Davis, J., Scollon, E. J., Starr, J. M., Setzer, R. W., Goldsmith, M.-R., Chang, D. T., Xue, J., Zartarian, V., De Vito, M. J., & Hughes, M. F. (2012). A Pharmacokinetic Model of cis- and trans-Permethrin Disposition in Rats and Humans With Aggregate Exposure Application. *Toxicological Sciences*, 130(1), 33-47. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfs236>

Tudi, M., Daniel Ruan, H., Wang, L., Lyu, J., Sadler, R., Connell, D., Chu, C., & Phung, D. T. (2021). Agriculture development, pesticide application and its impact on the environment. *International journal of environmental research and public health*, 18(3), 1112.

U.S. Environmental Protection Agency. (1996). New Pesticide Fact Sheet - Fipronil.

van de Poel, J. L., Dekker, J., & van Langevelde, F. (2015). Dutch hedgehogs *Erinaceus europaeus* are nowadays mainly found in urban areas, possibly due to the negative effects of badgers *Meles meles*. *Wildlife Biology*, 21(1), 51-55. <https://doi.org/10.2981/wlb.00072>

Vermeulen, F., Covaci, A., d'Havé, H., Van den Brink, N. W., Blust, R., De Coen, W., & Bervoets, L. (2010). Accumulation of background levels of persistent organochlorine and organobromine pollutants through the soil–earthworm–hedgehog food chain. *Environment International*, 36(7), 721-727.

Vermeulen, F., d'Havé, H., Mubiana, V. K., Van den Brink, N. W., Blust, R., Bervoets, L., & De Coen, W. (2009). Relevance of hair and spines of the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) as biomonitoring tissues for arsenic and metals in relation to blood. *Science of the Total Environment*, 407(5), 1775-1783.

Wembridge, D., Johnson, G., Al-Fulaij, N., & Langton, S. (2022). The State of Britain's Hedgehogs 2022. British Hedgehog Preservation Society & People's Trust for Endangered Species. <https://www.hedgehogstreet.org/wp-content/uploads/2022/02/SoBH-2022-Final.pdf>

Williams, B. M., Baker, P. J., Thomas, E., Wilson, G., Judge, J., & Yarnell, R. W. (2018). Reduced occupancy of hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) in rural England and Wales: The influence of habitat and an asymmetric intra-guild predator. *Sci Rep*, 8(1), 12156. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30130-4>

Wright, P. G., Coomber, F. G., Bellamy, C. C., Perkins, S. E., & Mathews, F. (2020). Predicting hedgehog mortality risks on British roads using habitat suitability modelling. *PeerJ*, 7, e8154.

Wroot, A. J. (1984). Feeding Ecology of the European hedgehog, *Erinaceus europaeus*. [PhD thesis, University of London]. England.

Yalden, D. (1976). The food of the hedgehog in England. *Acta Theriologica*, 21(30), 401-424.

Yamamoto, I., Yabuta, G., Tomizawa, M., Saito, T., Miyamoto, T., & Kagabu, S. (1995). Molecular mechanism for selective toxicity of nicotinoids and neonicotinoids. *Journal of Pesticide Science*, 20(1), 33-40.

Young, R. P., Davison, J., Trewby, I. D., Wilson, G. J., Delahay, R. J., & Doncaster, C. P. (2006). Abundance of hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) in relation to the density and distribution of badgers (*Meles meles*). *Journal of Zoology*, 269(3), 349-356.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2006.00078.x>

Bilag 1. Oversigt over samlede resultater fra de målrettede kemiske analyser

Oversigt over individer, baggrundsinformation og resultaterne fra de målrettede kemiske analyser med koncentrationer målt i ng/g.

ENVS batch nr.	ID nummer	Al-der	Post-nummer	Køn	Døds-årsag	Habitat-type	MR SA	Re-gi-O-ne-r	Endo-parasitter	Coumate-ryl	Bro-mad-lo-n	Difena-coum	Brodifa-coum	Difethi-alon	Alpha-chloral-ose	Beta-chloral-ose	Imidac-loprid	Per-met-hrin (cis)	Permeth-rin (trans)	Difufe-nican	Prosul-focarb	MCPA	2,4-D	Fluro-xypr	Meta-mitron	Benta-zon	Pen-dimetha-lin
#22-27	4	4	4800	Han	Natur-ligt	Byom-råde	ne-ga-tiv	Fa-list-er	Ja	0,548	1,051		0,621														
#22-27	14	5	8370	Han	Trafik-dræbt	Land-område		Jyl-land-syd-for-Li-mj-or-de-n	Nej		458.446	0,215	10,647	0,102	0,088									2,194	0,174		
#22-25	16	10	8471	Han	Natur-ligt	Land-område	po-sitiv	Jyl-land-syd-for-Li-mj-or-de-n	Ja	4,141	0,954	3,723					0,518								0,231		0,14
#22-27	24	5	8860	Han	Pleje	Land-område	po-sitiv	Jyl-land-syd-for-Li-mj-or-de-n	Ja	0,107	0,482		0,097				0,243	13,227						0,164			
#22-27	48	4	4990	Uke-ndt	Trafik-dræbt	Land-område	po-sitiv	Lol-land	Ja	6,165	1,796	0,192					0,282										
#22-27	58	5	3230	Han	Pleje	Land-område	ne-ga-tiv	Sj-æll-an-d	Ja		0,459		0,178				0,408										
#22-27	60	9	4990	Han	Trafik-dræbt	Byom-råde	po-sitiv	Lol-land	Nej	2,869	272.448	2,409	0,103				0,269	0,068						1,831			
#22-27	61	4	3120	Han	Natur-ligt	Byom-råde	po-sitiv	Sj-æll-an-d	Ja	1,217	3,112		0,153	0,25			0,265	0,072									
#22-27	108	1	2300	Han	Trafik-dræbt	Byom-råde	po-sitiv	Sj-æll-an-d	Ja									0,069									
#22-27	111	0	2980	Hun	Pleje	Byom-råde	po-sitiv	Sj-æll-an-d	Ja								0,565	0,073									
#22-25	160	4	4200	Hun	Trafik-dræbt	Land-område	po-sitiv	Sj-æll-an-d	Nej	12,431	0,379						0,278							0,362		0,7	
#22-29	171	5	2990	Han	Pleje	Byom-råde	po-sitiv	Sj-æll-an-d	Ja	0,694	1189,877	1,412	2,559	0,108													
#22-33	182	0	4800	Uke-ndt	Trafik-dræbt	Land-område	ne-ga-tiv	Fa-list-er	Ja									0,06									
#22-27	184	0	4913	Han	Natur-ligt	Land-område	po-sitiv	Lol-land	Ja	0,319	0,592		0,108	0,175			0,184	0,064		0,229							
#22-33	193	0	4000	Hun	Pleje	Byom-råde	po-sitiv	Sj-æll-an-d	Ja		0,114			0,173				0,06									
#22-29	195	0	4736	Hun	Natur-ligt	Land-område	ne-ga-tiv	Sj-æll-an-d	Nej		0,657	0,478				0,086	0,215			0,114	0,114	0,113	2,461				
#22-29	196	0	4654	Hun	Natur-ligt	Byom-råde	po-sitiv	Sj-æll-an-d	Nej								0,457								0,158		

#22-25	197	1	4654	Hun	Naturligt	Byområde	positiv	Sjælland	Ja	0,174	34,721	0,144	0,069	0,336	0,284
#22-27	199	0	2400	Hun	Naturligt	Byområde	negativ	Sjælland	Ja	9,456	0,107			0,361	0,061
#22-25	202	0	2610	Han	Naturligt	Byområde	positiv	Sjælland	Nej	0,303	0,13	0,096	0,714	0,402	0,183
#22-27	206	0	2840	Hun	Pleje	Byområde	positiv	Sjælland	Ja						23,831
#22-33	207	0	2720	Hun	Pleje	Byområde	positiv	Sjælland	Nej	0,154					
#22-27	208	0	2000	Han	Naturligt	Byområde	positiv	Sjælland	Nej		0,499		0,076	0,808	0,072
#22-33	209	0	Nejrd-sjælland	Han	Pleje		positiv	Sjælland	Ja		0,163			0,16	
#22-25	210	3	4780	Han	Naturligt	Byområde	positiv	Møn	Ja		0,36			0,204	0,459
#22-29	211	1	4771	Han	Naturligt	Landområde	negativ	Sjælland	Ja	0,755	3,642	1,123			7,204
#22-29	212	1	4720	Han	Pleje	Landområde	positiv	Sjælland	Ja	3,902	4,527	2,047			
#22-25	214	1	4654	Han	Naturligt	Byområde	negativ	Sjælland	Ja		1,165	0,23	0,293	0,063	0,403
#22-33	215	0		Han	Trafikdræbt			Sjælland	Ja		76,508	0,183	0,477		0,078
#22-27	220	2	3700	Han	Trafikdræbt	Landområde	positiv	Bornholm	Ja	0,295	39,75		0,279	0,233	0,429
#22-27	222	0	4220	Han	Trafikdræbt	Byområde	negativ	Sjælland	Ja					0,654	0,069
#22-27	223	3	6000	Han	Trafikdræbt	Landområde	negativ	Jylland syd for Limfjorden	Ja		0,118		0,118	0,225	0,059
#22-27	225	2	6000	Han	Trafikdræbt	Byområde	positiv	Jylland syd for Limfjorden	Ja		2,144			0,247	0,067
#22-27	226	1	9210	Han	Trafikdræbt	Byområde	negativ	Jylland syd for Limfjorden	Ja	2832,767	0,37	0,079		0,073	

#22-27	227	0	9400	Han	Trafikdræbt	Byområde	positiv	Jylland nord for Limfjorden	Ja	0,296					0,262	0,072		
#22-27	228	0	9000	Han	Pleje	Byområde	negativ	Jylland syd for Limfjorden	Ja	0,693					0,267	0,066	0,18	0,408
#22-28	229	4	8983	Han	Trafikdræbt	Landområde	positiv	Jylland syd for Limfjorden	Ja	0,196	103,81	0,115						
#22-28	230	3	7000	Han	Pleje	Landområde	positiv	Jylland syd for Limfjorden	Ja	20,643	0,208	3,676	0,092		0,187			
#22-25	234	5	9500	Han	Trafikdræbt	Byområde	positiv	Jylland syd for Limfjorden	Ja	2,144	492,959	0,099	10,269		0,323	0,569		0,305
#22-29	235	2	6760	Han	Trafikdræbt	Landområde	positiv	Jylland syd for Limfjorden	Ja		713,631	1,389	3,547			0,121		
#22-29	236	1	6715	Han	Trafikdræbt	Landområde	positiv	Jylland syd for Limfjorden	Ja	0,295					1,278		0,17	0,387
#22-29	237	3	8600	Han	Pleje	Landområde	positiv	Jylland syd for Limfjorden	Ja	0,598	0,259	0,13						
#22-25	239	2	5290	Hun	Trafikdræbt	Byområde	positiv	Fyn	Nej		23,881		0,432			0,21	0,89	
#22-30	240	1	5540	Hun	Trafikdræbt	Byområde	positiv	Fyn	Ja	2,806		0,141	0,094		0,066			

#22-25	242	16	8600	Han	Pleje	Byområde	negativ	Jylland syd for Limfjorden	Ja	1,069	78,802	0,15	0,944	0,085	0,097	0,334	0,355	
#22-25	247	0	8766	Hun	Naturligt	Byområde	negativ	Jylland syd for Limfjorden	Ja			0,097	0,517		0,405	0,1	8,487	0,438
#22-28	257	1	9000	Hun	Pleje	Byområde	positiv	Jylland syd for Limfjorden	Ja	0,58	67,912	0,18						0,127
#22-28	258	3	9000	Hun	Pleje	Byområde	positiv	Jylland syd for Limfjorden	Ja		43,494		0,882					
#22-28	262	3	8800	Han	Trafikdræbt	Landområde	negativ	Jylland syd for Limfjorden	Nej									0,192
#22-28	264	1	8800	Han	Trafikdræbt	Byområde	negativ	Jylland syd for Limfjorden	Nej			0,9					0,094	0,112
#22-28	267	3	4000	Han	Trafikdræbt	Landområde	positiv	Sjælland	Nej	0,206	7,777	0,133	1,271					
#22-28	268	2	4000	Han	Trafikdræbt	Landområde	positiv	Sjælland	Ja	2,525	0,533	0,778	0,217		0,348		0,609	0,117
#22-28	273	1	8464	Hun	Trafikdræbt	Byområde	negativ	Jylland syd for Limfjorden	Ja									
#22-28	278	6	8860	Han	Trafikdræbt	Landområde		Jylland syd for Limfjorden	Ja		1,812	0,211						

#22-28	281	6	9510	Han	Trafikdræbt	Landområde	positiv	Jylland syd for Limfjorden	Ja	169,752	0,139							
#22-28	305	6	6640	Han	Trafikdræbt	Landområde		Jylland syd for Limfjorden	Ja	2,227	1066,402	0,363	6,349					
#22-30	311	2	4760	Han	Pleje	Landområde		Sjælland	Ja	0,738				0,683				
#22-25	312	3	3450	Hun	Naturligt	Byområde	negativ	Sjælland	Ja	0,465			0,103	0,077	0,291	0,316		0,235
#22-28	326	1	6715	Han	Trafikdræbt	Byområde	positiv	Jylland syd for Limfjorden	Ja	0,587							0,167	0,195
#22-28	327	1	2840	Han	Naturligt	Byområde	negativ	Sjælland	Ja	0,121					0,238			
#22-28	328	3	4250	Han	Trafikdræbt	Byområde		Sjælland	Ja	0,14	38,363		0,139	0,963				0,469
#22-28	329	3	4200	Han	Trafikdræbt	Byområde		Sjælland	Ja	0,098	174,661	0,121						
#22-28	330	3	4700	Han	Naturligt	Landområde		Sjælland	Ja		20,786							1,198
#22-30	331	3	4800	Hun	Naturligt	Byområde		Falster	Ja	0,89	566,515		0,189	0,12				
#22-33	332	0	4800	Hun	Pleje	Byområde		Falster	Ja						0,389			1,724
#22-30	333	2	4840	Han	Naturligt	Landområde		Falster	Ja									
#22-33	334	0	Falster	Han	Naturligt			Falster	Ja		0,345							0,345
#22-25	336	5	4840	Hun	Trafikdræbt	Landområde		Falster	Ja		1,062		0,272	0,498	0,241		0,18	0,397
#22-33	337	0	4840	Hun	Naturligt	Landområde		Falster	Ja	0,225	0,943							
#22-28	343	10	4242	Han	Trafikdræbt	Landområde		Sjælland	Nej		0,226							
#22-28	345	4	4200	Hun	Trafikdræbt	Landområde		Sjælland	Nej	0,068	104,559	0,081		0,194				0,123
#22-29	361	2	4840	Hun	Trafikdræbt	Landområde		Falster	Ja	0,21	345,294		0,772	0,099				0,142
#22-33	362	0	2640	Hun	Pleje	Byområde	negativ	Sjælland	Nej		0,48							

														an d				
#22-29	365	1	3720	Hun	Trafik- dræbt	Land- område	posi- tiv	Bo- m hol- m	Ja	2,338	15,295			0,164	0,157			
#22-33	366	3	3720	Han	Trafik- dræbt	Land- område	ne- ga- tiv	Bo- m hol- m	Ja	3,613		0,0 77						
#22-29	371	0	3700	Han	Trafik- dræbt	Byom- råde	ne- ga- tiv	Bo- m hol- m	Ja	0,13	0,179	0,205		0,162				
#22-29	373	2	3700	Uke- ndt	Trafik- dræbt	Land- område	ne- ga- tiv	Bo- m hol- m	Nej	14,881		0,328						
#22-29	377	9	7000	Han	Natur- ligt	Land- område	posi- tiv	Jyl- lan- d sy- d for Li- mj- or- de- n	Ja	0,18	1,219	1,322		0,394				
#22-30	380	5	4160	Hun	Trafik- dræbt	Land- område		Sj- æll- an- d	Ja	0,162	247,533	0,215	0,357		0,174			
#22-30	385	4	4180	Han	Trafik- dræbt	Land- område		Sj- æll- an- d	Nej	7,072				0,081				
#22-30	397	2	8464	Han	Trafik- dræbt	Byom- råde	ne- ga- tiv	Jyl- lan- d sy- d for Li- mj- or- de- n	Nej	96,187		2,288						
#22-25	403	13	5250	Han	Pleje	Byom- råde		Fy- n	Ja	0,739	994,094	3,043	2,319	1,809	0,486	0,459	0,959	0,151
#22-33	407	0	4241	Han	Natur- ligt	Byom- råde		Sj- æll- an- d				0,365						
#22-33	408	0	4241	Han	Natur- ligt	Byom- råde		Sj- æll- an- d	Nej									
#22-30	414	0	7160	Han	Trafik- dræbt	Land- område	ne- ga- tiv	Jyl- lan- d sy- d for Li- mj- or- de- n	Nej			103,638						
#22-33	428	0	7100	Han	Pleje	Byom- råde	posi- tiv	Jyl- lan- d sy- d for Li- mj- or- de- n	Nej	0,683			0,108					
#22-33	429	0	7000	Hun	Pleje	Byom- råde	posi- tiv	Jyl- lan- d sy- d for Li- mj- or- de- n	Nej									

#22-30	431	0	6000	Hun	Pleje	Land- område	po- sitiv	Jyl lan d sy d for Li mj or- de n	Ja		
#22-30	432	0	8722	Han	Natur- ligt	Land- område	po- sitiv	Jyl lan d sy d for Li mj or- de n	Nej		
#22-33	433	0	9900	Hun	Pleje	Byom- råde		Jyl lan d no rd for Li mj or- de n	Nej		
#22-33	434	0	9800	Hun	Pleje	Byom- råde		Jyl lan d no rd for Li mj or- de n	Ja		
#22-33	435	0	9900	Hun	Pleje	Byom- råde		Jyl lan d no rd for Li mj or- de n	Nej	0,566	
#22-30	436	3	9900	Han	Trafik- dræbt	Byom- råde	po- sitiv	Jyl lan d no rd for Li mj or- de n	Ja	1,037	1,03
#22-30	438	0	7330	Han	Pleje	Byom- råde	po- sitiv	Jyl lan d sy d for Li mj or- de n	Ja	1,905	
#22-30	439	3	8870	Hun	Pleje	Byom- råde	ne- ga- tiv	Jyl lan d sy d for Li mj or- de n	Ja	0,254	
#22-30	440	2	7860	Han	Natur- ligt	Byom- råde	po- sitiv	Jyl lan d sy d for Li mj	Ja	2,24	

									ord den										
#22-30	442	1	6000	Hun	Trafik- dræbt	Land- område	ne- ga- tiv	Jyl lan d sy d for Li mj or- de n	Ja	0,261									
#22-33	445	0	5200	Hun	Pleje	Byom- råde		Fy n	Nej	0,107									
#22-30	451	3	5800	Hun	Trafik- dræbt	Byom- råde	po- sitiv	Fy n	Nej	0,151	166,946		0,118			0,221			
#22-30	459	4	6600	Hun	Natur- ligt	Land- område	ne- ga- tiv	Jyl lan d sy d for Li mj or- de n	Ja	0,343	0,258					0,248			0,17
#22-30	487	1	8930	Hun	Trafik- dræbt	Byom- råde	ne- ga- tiv	Jyl lan d sy d for Li mj or- de n	Ja	171,991	0,369	0,416					0,354		
#22-25	489	6	6100	Hun	Natur- ligt	Land- område	po- sitiv	Jyl lan d sy d for Li mj or- de n	Ja	12,925	1,979	0,363				0,328			0,511
#22-30	490	4	8920	Hun	Trafik- dræbt	Land- område	ne- ga- tiv	Jyl lan d sy d for Li mj or- de n	Ja	74,835									
#22-29	502	4	5260	Hun	Pleje	Land- område		Fy n	Nej	253,573		0,167							
#22-25	539	6	6230	Hun	Natur- ligt	Byom- råde		Jyl lan d sy d for Li mj or- de n	Ja	0,116	22,588	0,156	0,238			0,114			0,404
#22-30	562	5	9200	Hun	Trafik- dræbt	Byom- råde		Jyl lan d sy d for Li mj or- de n	Ja	23,68	189,381	1,83				13,909	0,217		
#22-28	571	11	5884	Hun	Natur- ligt	Land- område		Fy n	Ja	2,579		0,086			0,126	2,375			0,133
#22-29	589	4	8600	Hun	Pleje	Byom- råde		Jyl lan d sy	Ja	0,165	983,435	2,644	0,653						

							d for Li mj or- de n											
#22-29	593	5	8380	Hun	Natur- ligt	Land- område	Jyl lan d sy d for Li mj or- de n	Ja	0,182	162.507	29.718	18.578	0,081	0,093				
#22-29	604	5	4200	Han	Trafik- dræbt	Land- område	Sj æll an d	Nej		0,252								
#22-33	631	4	5700	Hun	Trafik- dræbt	Land- område	Fy n			305.497		0,275	59.223		0,0 66			
#22-29	671	4	6900	Han	Natur- ligt	Byom- råde	Jyl lan d sy d for Li mj or- de n			0,162					0,176			
#22-29	684	5	8381	Han	Natur- ligt	Byom- råde	Jyl lan d sy d for Li mj or- de n			1,29	1.775			0,202				
#22-29	687	5	8420	Hun	Natur- ligt	Byom- råde	Jyl lan d sy d for Li mj or- de n		0,146	36.285	0,254				0,135		0,729	
#22-33	696	4	6400	Hun	Natur- ligt	Byom- råde	Jyl lan d sy d for Li mj or- de n		4,987	874.855					0,0 56			

Bilag 2. Overblik over resultaterne fra de målrettede kemiske analyser.

Bilag 2. Et overblik over resultaterne for test af de 19 udvalgte stoffer i de 115 leverprøver fra pindsvin, fordelt på de 8 regioner. Antal positive prøver (N), procentvis fordeling af positive prøver (%), medianværdierne for de positive prøver (Median), minimum koncentration (Min), maksimum koncentration (Max), samt interkvartilområder (interquantile range (IQR)). For Median, Min, Max), samt IQR er værdierne angivet i ng/g. Stoffet fipronil er udeladt af tabellen, da der aldrig blev fundet niveauer over detektionsgrænsen for dette bekæmpelsesmiddel.

Region	Sjælland	Jylland nord for Limfjorden	Møn	Lolland	Jylland syd for Limfjorden	Fyn	Falster	Bornholm	
Prøvestørrelse	37	5	1	3	47	8	9	5	
Rodenticider									
Coumatetralyl	N	16 (43.2%)	1 (20%)	1 (100%)	2 (66.7%)	17 (36.2%)	3 (37.5%)	4 (44%)	2 (40%)
	Min	0,068	0,319	6,165	0,180	0,107	0,151	0,210	0,130
	Max	12,431	0,319	6,165	2,869	23,68	0,890	2,338	0,295
	Median	0,384	0,319	6,165	1,525	0,598	0,739	0,387	0,213
	25% IQR	0,156	0,319	6,165	0,180	0,1725	0,151	0,214	0,130
	75% IQR	2,198	0,319	6,165	2,869	3,184	0,890	1,891	0,295
Bromadiolon	N	28 (75.7%)	2 (40%)	1 (100%)	3 (100%)	38 (88.4%)	8 (100%)	6 (66.7%)	5 (100%)
	Min	0,107	0,296	0,360	0,592	0,118	0,107	0,345	0,179
	Max	1189,877	1,037	0,360	272,448	2832,767	994,094	566,515	39,750
	Median	0,952	0,667	0,360	1,796	17,757	95,414	1,057	14,881
	25% IQR	0,284	0,296	0,360	0,592	0,561	2,636	0,794	1,896
	75% IQR	31,237	1,037	0,360	272,448	170,312	292,516	400,599	27,523
Difenacoum	N	8 (21.6%)			2 (66.7%)	20 (46.5%)	1 (12.5%)		
	Min	0,081			0,192	0,099	3,043		
	Max	1,412			2,409	29,718	3,043		
	Median	0,164			1,301	0,311	3,043		
	25% IQR	0,124			0,192	0,162	3,043		
	75% IQR	0,637			2,409	1,928	3,043		
Brodifacoum	N	10 (27.0%)			2 (66.7%)	16 (37.2%)	5 (62.5%)	4 (44%)	
	Min	0,096			0,103	0,097	0,118	0,189	
	Max	2,559			0,108	18,578	2,319	0,772	
	Sum	6,069			0,211	55,419	3,020	1,854	
	Median	0,198			0,106	0,768	0,167	0,447	
	25% IQR	0,130			0,103	0,269	0,130	0,210	

	75% IQR	1,160			0,108	5,649	1,297	0,734	
Difethialon	N	14 (37.8%)			1 (33.3%)	7 (16.3%)	5 (62.5%)	3 (33.3%)	1 (20%)
	Min	0,069			0,175	0,079	0,086	0,099	0,279
	Max	2,047			0,175	0,517	59,223	0,498	0,279
	Median	0,325			0,175	0,092	0,432	0,120	0,279
	25% IQR	0,157			0,175	0,081	0,090	0,099	0,279
	75% IQR	0,776			0,175	0,118	30,516	0,498	0,279
α -chloralose	N					3 (7.0%)			1 (20%)
	Min					0,088			0,233
	Max					0,097			0,233
	Median					0,093			0,233
	25% IQR					0,088			0,233
	75% IQR					0,097			0,233
β -chloralose	N	3 (8.1%)							
	Min	0,063							
	Max	0,086							
	Median	0,076							
	25% IQR	0,063							
	75% IQR	0,086							
Insekticider									
Imidacloprid	N	17 (45.9%)	2 (40%)	1 (100%)	3 (100%)	10 (23.2%)	2 (25%)	3 (33.3%)	2 (40%)
	Min	0,160	0,262	0,204	0,184	0,187	0,221	0,224	0,205
	Max	0,808	0,566	0,204	0,282	0,518	0,486	0,389	0,429
	Median	0,361	0,414	0,204	0,269	0,295	0,354	0,241	0,317
	25% IQR	0,272	0,262	0,204	0,184	0,239	0,221	0,224	0,205
	75% IQR	0,511	0,566	0,204	0,282	0,352	0,486	0,389	0,429
Permethrin (cis)	N	8 (21.6%)	1 (20%)	1 (100%)	1 (33.3%)	6 (13.9%)	2 (25%)	2 (22.2%)	1 (20%)
	Min	0,060	0,072	0,064	0,068	0,056	0,066	0,060	0,067
	Max	23,831	0,072	0,064	0,068	13,227	0,066	0,077	0,067
	Variance	70,585	0,000	0,000	0,000	28,877	0,000	0,000	0,000
	Stand. dev	8,401	0,000	0,000	0,000	5,374	0,000	0,012	0,000
	Median	0,071	0,072	0,064	0,068	0,067	0,066	0,069	0,067
	25% IQR	0,063	0,072	0,064	0,068	0,058	0,066	0,060	0,067
	75% IQR	0,073	0,072	0,064	0,068	3,362	0,066	0,077	0,067
Permethrin (trans)	N	1 (2.7%)							
	Min	0,316							
	Max	0,316							
	Median	0,316							
	25% IQR	0,316							
	75% IQR	0,316							
Herbicider									
Diflufenican	N	3 (8.1%)		1 (100%)		7 (16.3%)	2 (25%)		

	Min	0,078		0,459	0,114	0,126		
	Max	0,174		0,459	1,278	0,459		
	Median	0,114		0,459	0,248	0,293		
	25% IQR	0,078		0,459	0,121	0,126		
	75% IQR	0,174		0,459	0,569	0,459		
Prosulfocarb	N	1 (2.7%)		1 (33.3%)	2 (4.6%)			1 (20%)
	Min	0,114		0,229	0,100			0,153
	Max	0,114		0,229	0,180			0,153
	Median	0,114		0,229	0,140			0,153
	25% IQR	0,114		0,229	0,100			0,153
	75% IQR	0,114		0,229	0,180			0,153
MCPA	N	3 (8.1%)	1 (20%)		6 (13.9%)	1 (12.5%)	2 (22.2%)	1 (20%)
	Min	0,113	1,030		0,176	2,375	0,180	0,328
	Max	0,469	1,030		103,638	2,375	1,724	0,328
	Median	0,365	1,030		5,388	2,375	0,952	0,328
	25% IQR	0,113	1,030		1,036	2,375	0,180	0,328
	75% IQR	0,469	1,030		36,341	2,375	1,724	0,328
2,4-D	N	2 (5.4%)		1 (33.3%)	9 (20.9%)	1 (12.5%)		1 (20%)
	Min	0,609		1,831	0,094	0,210		0,164
	Max	2,461		1,831	3,106	0,210		0,164
	Median	1,535		1,831	0,170	0,210		0,164
	25% IQR	0,609		1,831	0,150	0,210		0,164
	75% IQR	2,461		1,831	1,301	0,210		0,164
Fluroxypyr	N				1 (2.3%)			
	Min				0,174			
	Max				0,174			
	Sum				0,174			
	Median				0,174			
	25% IQR				0,174			
	75% IQR				0,174			
Metamitron	N	9 (24.3%)		1 (100%)	15 (20.9%)	3 (37.5%)	3 (33.3%)	2 (40%)
	Min	0,081		7,204	0,108	0,133	0,142	0,157
	Max	0,481		7,204	0,729	0,959	0,397	0,162
	Median	0,183		7,204	0,305	0,890	0,345	0,160
	25% IQR	0,120		7,204	0,170	0,133	0,142	0,157
	75% IQR	0,323		7,204	0,404	0,959	0,397	0,162
Bentazon	N	2 (5.4%)			1 (2.3%)			
	Min	0,100			0,101			
	Max	0,700			0,101			
	Median	0,400			0,101			
	25% IQR	0,100			0,101			
	75% IQR	0,700			0,101			
Pendimethalin	N				1 (2.3%)	1 (12.5%)		

Min	0,140	0,151
Max	0,140	0,151
Median	0,140	0,151
25% IQR	0,140	0,151
75% IQR	0,140	0,151

I dette projekt undersøgte vi forekomsten af pesticider og biocider i individer i den danske pindsvinebestand. Vi vurderede faktorer, der potentielt kunne forklare bekæmpelsesmidlernes niveauer i pindsvinene, såsom køn, alder, lokation, dødsårsag, habitattype samt tilstedeværelsen af *mecC*-MRSA og endoparasitter i de testede pindsvin.

I projektet blev der anvendt leverprøver fra 115 døde pindsvin indsamlet af frivillige borgere over hele Danmark i 2016, i Det Danske Pindsvineprojekt. Vi analyserede disse prøver for et udvalg af rodenticider (N= 7), insekticider (N= 4) og herbicider (N= 8). Derudover analyserede vi leverprøver fra 17 udvalgte pindsvin med non-target screening.

Rodenticider blev fundet i 84% af prøverne (N= 97/115), insekticider i 43% af prøverne (N= 50/115) og herbicider i 50% af prøverne (N= 58/115).

Non-target analyserne af 17 udvalgte pindsvin viste henholdsvis 35 og 38 kemiske stoffer. Der blev blandt andet tentativt identificeret 12 POP-stoffer, 16 bekæmpelsesmidler og 24 forskellige lægemidler.

Sammenfattende viste undersøgelsen, at en række bekæmpelsesmidler, samt andre menneskeskabte kemikalier såsom lægemidler og POP-stoffer, kan påvises i leverprøver fra danske pindsvin. Det er dog ikke muligt at fastslå med sikkerhed, om denne eksponering udgør en risiko for pindsvinenes helbred, da der mangler data vedrørende toksiske effektgrænser for pindsvin. Positive fund omfattede både godkendte og ikke-godkendte bekæmpelsesmidler, samt kemikalier, der tidligere lovligt har været anvendt i Danmark. Med undtagelse af nogle få regionale forskelle i detektionsfrekvenserne, viste vores analyser, at eksponeringen for bekæmpelsesmidler var jævnt fordelt blandt de undersøgte pindsvin, og derfor tilsyneladende ikke var påvirket af faktorer som alder, køn, habitattype, dødsårsag og forekomsten af *mecC*-MRSA og endoparasitter.



Miljøstyrelsen
Tolderlundsvej 5
5000 Odense C

www.mst.dk