# STRESZCZENIE

Rodentycydy antykoagulacyjne to związki pochodne 4-hydroksykumaryny, indandionu lub tiokumaryny stosowane przede wszystkim do zwalczania gryzoni. Łatwy dostęp oraz intensywne ich stosowanie spowodowały, że powszechnie występują w środowisku, w szczególności w łańcuchach żywieniowych zwierząt wolnożyjących. Rodentycydy antykoagulacyjne dobrze wchłaniają się z przewodu pokarmowego i przechodzą do tkanek oraz narządów, w których mogą pozostawać przez długi czas. Nowe substancje (II generacja) mają znacząco wydłużony czas działania, co sprzyja kumulowaniu się w organizmie drapieżników (zatrucia wtórne), osiągając efekt toksyczny już po jednokrotnym spożyciu. Ponadto mogą być przyczyną przypadkowych lub celowych zatruć zwierząt towarzyszących, głównie psów i kotów. W związku z tym istnieje konieczność stosowania metod analitycznych umożliwiających wykrycie tych związków oraz potwierdzenia ich obecności w materiale biologicznym pochodzącym od zatrutych zwierząt.

We wstępie pracy przedstawiono rys historyczny odkrycia związków hydroksykumarynowych, rozwoju prac nad nowymi substancjami oraz ich roli w medycynie i ochronie płodów rolnych. Szczególną uwagę poświęcono charakterystyce rodentycydów, ich budowie chemicznej, toksykodynamice i toksykokinetyce oraz zagadnieniom analitycznym związanym ze sposobem przygotowania próbek, zastosowaniu odpowiedniej techniki analitycznej, jak również kryteriom stawianym metodom, które są stosowane w weterynaryjnej diagnostyce toksykologicznej.

W dalszej części przedstawiono cel i założenia pracy, opisano sposób postępowania z poszczególnymi rodzajami próbek oraz substancjami i roztworami wzorcowymi oraz wieloskładnikową metodę przesiewową, która umożliwia wykrycie różnych potencjalnie toksycznych dla zwierząt substancji, w tym również rodentycydów. Opisano sposób postępowania przy opracowywaniu odpowiednio precyzyjnej, szybkiej i dokładnej metody analitycznej dedykowanej oznaczaniu rodentycydów antykoagulacyjnych, którą następnie poddano procesowi walidacji. W obu metodach do wykrywania i oznaczania analizowanych substancji wykorzystano chromatografię cieczową sprzężoną z tandemową spektrometrią mas (LC-MS-MS).

Obie metody, zarówno przesiewowa jak i potwierdzająca, posłużyły do wykonania oznaczeń rodentycydów w 509 próbkach wątrób oraz 27 surowicach pochodzących od psów, kotów, ptaków oraz myszy.

W analizowanych próbkach wątrób wykrywano głównie brodifakum i bromadiolon, odpowiednio w 80% i 59% próbek pobranych od ptaków oraz w 19% i 42% próbek od psów i kotów, co może wskazywać na powszechne stosowanie w Polsce produktów zawierających te związki. Badania stabilności bromadiolonu wykazały dużą trwałość tego związku i tym samym zdolność do pozostawania w środowisku.

Otrzymane wyniki wskazują na duże zagrożenie występowania zatruć rodentycydami antykoagulacyjnymi, drugiej generacji, zwłaszcza u ptaków drapieżnych jak i innych gatunków zwierząt wolnożyjących w Polsce.

Analiza przeciętnej diety badanych zwierząt drapieżnych i padlinożernych pozwala wnioskować, że w wielu przypadkach istnieje ryzyko pośredniej ekspozycji na zatrucie rodentycydami antykoagulacyjnymi, obejmujące zarówno narażenie ze strony bezpośrednich konsumentów trucizny, padłe myszy i szczury, jak i wtórnie np. spożycie lisów przez ptaki drapieżne.

W przypadku zwierząt towarzyszących związki te stanowią realne zagrożenie nie tylko w zatruciach celowych, ale także w wyniku przypadkowego spożycia.

# SUMMARY

Anticoagulant rodenticides are compounds derived from
4-hydroxycoumarin, indandione or thiocoumarin, used primarily for rodent control. The wide availability and extensive use of anticoagulant rodenticides has resulted in their widespread occurrence in the environment and especially in the food chains of wildlife. Anticoagulant rodenticides are well absorbed from the gastrointestinal tract and pass into tissues and organs, where they can remain for a long time. The new substances (2nd generation) have a significantly prolonged time of action, already achieving a toxic effect after a single ingestion, which supports accumulation in the body of predators (secondary poisoning). In addition to this, they can cause accidental or intentional poisoning of companion animals, mainly dogs and cats. Therefore, there is a need to have analytical methods to detect these compounds and to confirm their presence in biological samples from poisoned animals.

The paper's introduction provides a historical overview of the discovery of hydroxycoumarin compounds, the development of new substances, their role in medicine, and the protection of agricultural crops.

Particular attention was paid to the characterisation of rodenticides, their chemical structure, toxicodynamic and toxicokinetic, and analytical issues such as the analytical techniques that can be used, sample preparation methods, or the criteria for methods that are used in veterinary toxicological diagnostics.

The aim and objectives of the work are then presented and the handling of the different sample types, substances, and standard solutions is described. A routine, multi-component screening method used in the laboratory for the detection of various substances potentially toxic to animals, including rodenticides, is presented. Following this, a description of the procedure for the development of a method dedicated to the determination of anticoagulant rodenticides - a suitably precise, rapid and accurate analytical method which was then subjected to a validation process. In both methods, liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS-MS) was used for the detection and determination of the analysed substances.

Both screening and confirmatory methods dedicated to the determination of rodenticides were used to perform determinations in 509 liver samples and 27 sera from dogs, cats, birds and mice.

In the livers analysed, mainly brodifacoum and bromadiolone were detected in 80% and 59% of the samples from birds and in 19% and 42% of the samples from dogs and cats, respectively which may indicate the common usage of products containing these compounds. Stability studies of bromadiolone showed a high persistence of this compound and thus its ability to remain in the environment.

The results obtained show a widespread risk in Poland, for wild animals (mainly birds of prey and carrion birds), resulting from poisoning with second generation of anticoagulant rodenticides.

On the basis of an analysis of the average diet of the animals studied, it can be concluded that in many cases there is a risk of indirect exposure to poisoning by anticoagulant rodenticides, including both exposure to direct consumers of the poison and also tertiary exposure, e.g. consumption of foxes by birds of prey.

In companion animals, these compounds pose a real risk not only in cases of accidental ingestion, but also in intentional poisoning.