



الجمهورية العربية السورية

جامعة حماة

كلية الطب البيطري

قسم التشريح المرضي

التأثيرات السمية للبروديفاكوم في أنسجة الكبد والكلى والصورة الدموية لدى دجاج اللحم

رسالة أعدت لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية

اختصاص الطب الشرعي

لطالبة الدراسات العليا

حنين محمود الراشد

بإشراف:

أ.د. سمير حمود

(مُشرفاً مشاركاً)

أستاذ في قسم علم الحياة
كلية العلوم - جامعة البعث

د. واصل الوسوف

(مُشرفاً علمياً)

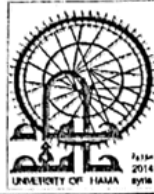
مدرس في قسم التشريح المرضي
كلية الطب البيطري - جامعة حماة

2023 م - 1444 هـ

Syrian Arab Republic

Hama Universit

Faculty of Veterinary.-Medicine



الجمهورية العربية السورية

جامعة حماة

كلية الطب البيطري

هاتف : ٢٥١٠١٨٠ - ٢٥١٠١٨١ - ٠٠٩٦٣٣٣ فاكس : ٠٠٩٦٣٣٣٢٥١٠٥١٤ - بريد الكتروني : vet-med@net.sy

التصنيف :

الرقم :

الموضوع :

التاريخ :

الأستاذ الدكتور عميد كلية الطب البيطري

بعد الاطلاع على الأطروحة المعدلة من رسالة الماجستير المقدمة من قبل المرشحة لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية طالبة الدراسات العليا حنين الراشد (المعيدة الموفدة داخلياً) في قسم التشريح المرضي اختصاص (الطب الشرعي) بعنوان :

" التأثيرات السمية للبروديلاكوم في أنسجة الكبد والكلى والصورة الدموية لدى دجاج اللحم " تفيدكم بأن الأطروحة بشكلها الحالي قد استوفت التعديلات التي أشارت لها لجنة الحكم والمناقشة التي عقدت يوم الأربعاء بتاريخ ٢٠٢٣ / ٨ / ٣٠ لمناقشة الرسالة، ونعتبر أن الرسالة بهذه الصورة جاهزة للطباعة بشكلها النهائي.

يرجى التكرم بالإطلاع

٢٠٢٣ / /

رئيس اللجنة
أ.د. سمير حمود

عضو
أ.م.د. وديع شديد

عضو
د. طلة قنبر

رئيس قسم التشريح المرضي

الدكتور واصف الوسوف

مصدق عميد الكلية
الأستاذ الدكتور عبد الكريم قلب اللوز



الرقم :

التاريخ :

اختصاص علم الأدوية والعقاقير
كلية الطب البيطري - جامعة حماه

شهادة

أشهد بأن هذا العمل الموصوف في هذه الرسالة، هو نتيجة بحث قامت به المرشحة الطَّبَّية البيطريَّة: حنين محمود الراشد؛ لنيل درجة الماجستير في العلوم الطَّبَّية البيطريَّة، باختصاص الطب الشرعي بإشراف الدكتور: واصف الوسوف المدرس في قسم التشريح المرضي في كلية الطب البيطري في جامعة حماه، وبمشاركة الدكتور: سمير حمود دكتوراه في الطب الشرعي الأستاذ في قسم علم الحياة في كلية العلوم في جامعة البعث، وأيُّ رجوع إلى بحث آخر في هذا الموضوع مُوثَّق في النّص.

المشرف المشارك

أ.د. سمير حمود

المشرف العلمي

د. واصف الوسوف

المرشحة

حنين محمود الراشد

التاريخ: 2023/6/11

Certificate

It is Hereby Certified that the Work Described in this Thesis is the Result of the Author's Own Investigation Vet Haneen Mahmoud Al Rashid specialization Forensic medicine, Under the Supervision of Dr. Wasef Al Wassouf Lecturer in the Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine at the University of Hama, and Pro. Dr. Sameer Hammod Doctorate degree in Forensic medicine, Professor in the Department of Biology, Faculty of Science aet Al-Baath University, and any reference to other researcher work has been acknowledged in the paragraphs.

Candidate

Haneen Mahmoud Al Rashid
Hammod

Supervision

Dr. Wasef Al Wassouf Pro. Dr. Sameer

Date: 11/6/2023

تصريح

أُصرح بأنَّ هذا البَحث المَوْسُوم بعنوان:

التأثيرات السمية للبروديفاكوم في أنسجة الكبد والكلَى والصورة الدموية لدى دجاج اللحم

لم يَسْبِقْ له أن حصل على أيّة شهادة في كَلِيّة أخرى، ولا هو مقدم حالياً للحصول على شهادة أخرى.

المُرشّحة: حنين محمود الراشد

التاريخ: 2023/6/11

Declaration

It is Hereby Declared that this Work Under Title:

**The Toxic Effects of Brodifacoum on the Tissues of Liver, Kidneys
and Bloody Picture of Broiler Chicken**

Has not already been accepted for any degree, nor is being submitted concurrently
for any other degree.

Candidate: Haneen Mahmoud Al Rashid

Date: 11/6/2023

فهرس المحتويات		
الصفحة	الموضوع	الفصل
1	ملخص البحث	
2	ملخص البحث باللغة العربية	
4	المقدمة وأهداف البحث	الفصل الأول
5	المقدمة	1-1
6	أهمية البحث	2-1
6	أهداف البحث	3-1
7	الدراسة المرجعية	الفصل الثاني
8	مبيدات القوارض المضادة لتخثر الدم	1-2
8	اكتشاف المبيدات مضادات التخثر وتطورها	2-2
9	تصنيف مبيدات القوارض المضادة للتخثر	3-2
9	البروديفاكوم	4-2
10	الاسم والصيغة الجزيئية والهيكلية للبروديفاكوم	1-4-2
11	الحرائكية السمية	2-4-2
13	طرائق التعرض للمادة	5-2
13	الجرعات السمية	6-2
14	آلية العمل	7-2
15	آلية تأثير البروديفاكوم	8-2
16	التخثر	9-2
19	تشخيص التعرض لمبيدات القوارض المضادة للتخثر	10-2
20	المعالجة	11-2
20	الأعراض المرضية للتسمم بالبروديفاكوم عند الحيوانات المختلفة	12-2
23	مراجعة الجوانب النسيجية	13-2
23	الكبد	1-13-2
23	الكلى	2-13-2
24	المكونات الخلوية لدم الطيور	3-13-2
27	الدراسات التشريحية العيانية والنسجية لحالات التسمم بالبروديفاكوم لدى الحيوانات المختلفة	14-2
29	الدراسات الفيزيولوجية الدموية	15-2

32	مواد وطرائق العمل	الفصل الثالث
33	حيوانات التجربة	1-3
33	المادة المستخدمة في التجربة	2-3
34	تصميم التجربة	3-3
34	حساب الجرعة	4-3
36	دراسة الأعراض المرضية المشاهدة على طيور التجربة	5-3
36	دراسة التغيرات التشريحية المرضية العيانية والنسجية في الكبد والكلى	6-3
36	جمع عينات الدم	7-3
37	تعيين زمن تخثر الدم	1-7-3
37	التعداد الكلي لخلايا الدم الحمر	2-7-3
38	التعداد الكلي لخلايا الدم البيض	3-7-3
40	التعداد التفريقي لخلايا الدم البيض	4-7-3
40	مكداس الدم	5-7-3
41	عد الصفائح الدموية	6-7-3
42	الفحص النسيجي	8-3
42	التحليل الإحصائي	9-3
43	النتائج	الفصل الرابع
44	الأعراض المرضية الظاهرة على الطيور (قبل الذبح)	1-4
45	التغيرات التشريحية المرضية العيانية	2-4
45	التغيرات التشريحية المرضية العيانية في الكبد	1-2-4
48	التغيرات التشريحية المرضية العيانية في الكلى	2-2-4
51	التغيرات العيانية في أكباد وكلى الطيور النافقة	3-2-4
52	التغيرات التشريحية المرضية العيانية الأخرى المسجلة خلال هذه الدراسة	4-2-4
54	التغيرات التشريحية المرضية المجهرية	3-4
54	التغيرات التشريحية المرضية المجهرية في الكبد	1-3-4
59	التغيرات التشريحية المرضية المجهرية في الكلى	2-3-4
63	التغيرات التشريحية المرضية المجهرية لدى الطيور النافقة	3-3-4
64	تغيرات الصورة الدموية الناتجة عن التسمم بالبروديفاكوم	4-4
66	تأثير البروديفاكوم في العدد الكلي لخلايا الدم الحمر	5-4

67	تأثير البروديلاكوم في العدد الكلي لخلايا الدم الببيض	6-4
69	تأثير البروديلاكوم في العد التفريقي لكريات الدم الببيض	7-4
69	المفاويات	1-7-4
70	المستغيرات	2-7-4
71	الحمضات	3-7-4
73	الأسسات	4-7-4
74	الوحدات	5-7-4
75	تأثير البروديلاكوم في عدد الصفحات الدموية	8-4
77	تأثير البروديلاكوم في مكدهاس الدم	9-4
78	تأثير البروديلاكوم في زمن التخثر	10-4
80	المناقشة	الفصل الخامس
81	الأعراض المرضية الظاهرة (قبل الذبح)	1-5
82	التغيرات التشريحية المرضية	2-5
82	الكبد	1-2-5
85	الكلى	2-2-5
86	التغيرات الدموية	3-5
90	الاستنتاجات	الفصل السادس
91	الاستنتاجات	6
92	التوصيات	الفصل السابع
93	التوصيات	7
94	المراجع	الفصل الثامن
95	المراجع	8
113	ملخص البحث باللغة الإنكليزية	

قائمة الجداول		
الرقم	عنوان الجدول	الصفحة
1	الجرعات السامة عند الكائنات الحية المختلفة	14
2	تقسيم مجموعات التجربة والجرعات المستخدمة في كل منها	34
3	حساب جرعات البروديفاكوم الواجب إعطاؤها لكل طائر من طيور مجموعات التجربة	35
4	متوسط $\bar{x}$ قيم العدد الكلي لخلايا الدم الحمر (TRBCs)	66
5	متوسط $\bar{x}$ قيم العدد الكلي لخلايا الدم البيض (TWBCs)	68
6	متوسط $\bar{x}$ تعداد اللمفاويات	69
7	متوسط $\bar{x}$ تعداد المستغيرات	70
8	متوسط $\bar{x}$ تعداد الحمضات	72
9	متوسط $\bar{x}$ تعداد الأسسات	73
10	متوسط $\bar{x}$ تعداد الوحيدات	74
11	متوسط $\bar{x}$ قيم العدد الكلي للصفائح الدموية (PLT)	76
12	متوسط $\bar{x}$ قيم مكداس الدم (PCV)	77
13	متوسط $\bar{x}$ قيم زمن تخثر الدم (CT)	79

قائمة المخططات البيانية		
الرقم	عنوان المخطط	الصفحة
1	العدد الكلي لخلايا الدم الحمر (TRBCs)	67
2	لعدد الكلي لخلايا الدم البيض (TWBCs)	68
3	متوسط النسب المئوية لللمفاويات	70
4	متوسط النسب المئوية للمستغيرات	71
5	متوسط النسب المئوية للحمضات	72
6	متوسط النسب المئوية للأسسات	74
7	متوسط النسب المئوية للوحيدات	75
8	العدد الكلي للصفائح الدموية (PLT)	76
9	متوسط النسبة المئوية لمكداس الدم (PCV)	78
10	متوسط قيم زمن تخثر الدم (CT)	79

قائمة الصور والأشكال		
الرقم	عنوان الشكل	الصفحة
1	الصيغة الهيكلية للبروديفاكوم	10
2	يوضح عملية تثبيط البروديفاكوم لدورة فيتامين K عن طريق تثبيط "VKOR"	16
3	شلال التخثر	17
4	الحالة الصحية الجيدة للصيصان بعمر أسبوع	33
5	مبيد القوارض بروديفاكوم 0.005% المستخدم في التجربة	33
6	عملية وزن الصيصان	35
7	عملية وزن البروديفاكوم	35
8	عملية تشريح طيور التجربة وجمع العينات	36
9	عملية سحب الدم من وريد الجناح لأحد طيور التجربة	37
10	عملية تعيين زمن التخثر على الشريحة	37
11	رسم تخطيطي لعدادة نيوباور المحسنة	38
12	يوضح كيفية تصبغ خلايا الدم وتوزعها ضمن شبكة العد	39
13	عملية قراءة قيم مكداس الدم بواسطة مسطرة هاكسلي	40
14	كيفية فرد قطرة الدم على الشريحة الزجاجية للحصول على فيلم دموي	41
15	الشرائح النسيجية المصبوغة	42
16	يوضح خمول أحد طيور المجموعات بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم	44
17	يوضح الاضطرابات العصبية لدى أحد طيور المجموعة الرابعة	44
18	يوضح النزف في العين، والأذن، وتحت الجناح لدى أحد طيور المجموعة الرابعة	45
19	يوضح نفوق أحد طيور التجربة في اليوم الرابع من إعطاء البروديفاكوم	45
20	المظهر الطبيعي في كبد طيور المجموعة الاولى (الشاهد)	46
21	التغيرات المرضية العيانية في كبد طيور المجموعة الثانية بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم	47
22	التغيرات المرضية العيانية في أكباد طيور المجموعة الرابعة بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم	47
23	التغيرات المرضية العيانية لكبد طيور مجموعات التجربة الثانية G2 والرابعة G4 في اليوم الخامس من التجربة	47
24	التغيرات المرضية العيانية لكبد طيور مجموعات التجربة الثانية G2 والرابعة G4 في اليوم الخامس من التجربة	47

25	التغيرات المرضية العيانية لأكباد المجموعتين الثانية G2 والثالثة G3 في اليوم التاسع من إعطاء البروديفاكوم	48
26	التغيرات المرضية العيانية لأكباد المجموعتين الثانية G2 والثالثة G3 في اليوم التاسع من إعطاء البروديفاكوم	48
27	المظهر الطبيعي للكلى لدى طيور مجموعة الشاهد	49
28	التغيرات المرضية العيانية لكلى طيور المجموعة الرابعة بعد 24 ساعة من الإعطاء	49
29	التغيرات المرضية العيانية لكلى طيور مجموعات التجربة الثالثة G3 والرابعة G4 في اليوم الخامس بعد إعطاء البروديفاكوم	50
30	التغيرات المرضية العيانية لكلى طيور مجموعات التجربة الثالثة G3 والرابعة G4 في اليوم الخامس بعد إعطاء البروديفاكوم	50
31	التغيرات المرضية العيانية لكلى طيور المجموعتين الثالثة والرابعة في اليوم التاسع بعد إعطاء البروديفاكوم	50
32	التغيرات المرضية العيانية لكلى طيور المجموعتين الثالثة والرابعة في اليوم التاسع بعد إعطاء البروديفاكوم	50
33	التغيرات المرضية العيانية لكبد طائر نافق من المجموعة الثانية في اليوم الرابع بعد إعطاء البروديفاكوم	51
34	التغيرات المرضية العيانية لكبد نافق طائر من المجموعة الرابعة في اليوم الخامس بعد إعطاء البروديفاكوم	51
35	التغيرات المرضية العيانية لكلى لطائر نافق من المجموعة الثانية في اليوم الرابع بعد إعطاء البروديفاكوم	51
36	التغيرات المرضية العيانية لكلى لطائر نافق من المجموعة الرابعة في اليوم الخامس بعد إعطاء البروديفاكوم	51
37	يوضح النزف النقطي والكدمي على عضلات الفخذ (السطح الوحشي) لدى طيور المجموعة الثانية بعد إعطاء البروديفاكوم	52
38	يوضح النزف الشديد على سطح عضلات الصدر لدى طائر من المجموعة الثالثة في اليوم السادس بعد إعطاء البروديفاكوم	52
39	يوضح النزف الكدمي الشديد على عضلات الفخذ لدى طائر نافق من المجموعة الثالثة في اليوم الخامس بعد إعطاء البروديفاكوم	53

40	يوضح الاحتقان الشديد في الاوعية الدموية لمساريقا الامعاء لدى طيور مجموعات التجربة G3 في اليوم التاسع بعد إعطاء البروديفاكوم	53
41	يوضح النزف الحَبْرِي لدى أدمغة طيور مجموعات التجربة G3 في اليوم التاسع بعد إعطاء البروديفاكوم	53
42	مقطع نسيجي في كبد مجموعة الشاهد	55
43	مقطع نسيجي في كبد المجموعة الثانية بعد 24 ساعة من الإعطاء	55
44	مقطع نسيجي في كبد المجموعة الثالثة بعد 24 ساعة من الإعطاء	56
45	مقطع نسيجي في كبد المجموعة الثانية في اليوم الخامس من الإعطاء	56
46	مقطع نسيجي في كبد المجموعة الثانية في اليوم الخامس من الإعطاء	56
47	مقطع نسيجي في كبد المجموعة الثالثة في اليوم الخامس من الإعطاء	57
48	مقطع نسيجي في كبد المجموعة الرابعة في اليوم الخامس من الإعطاء	57
49	مقطع نسيجي في كبد المجموعة الثانية في اليوم التاسع من الإعطاء	58
50	مقطع نسيجي في كبد المجموعة الثالثة في اليوم التاسع من الإعطاء	58
51	مقطع نسيجي في كبد المجموعة الرابعة في اليوم التاسع من الإعطاء	58
52	مقطع نسيجي في الكلى لمجموعة الشاهد	60
53	مقطع نسيجي في كلى المجموعة الثانية بعد 24 ساعة من الإعطاء	60
54	مقطع نسيجي في كلى المجموعة الثالثة بعد 24 ساعة من الإعطاء	61
55	مقطع نسيجي في كلى المجموعة الرابعة بعد 24 ساعة من الإعطاء	61
56	مقطع نسيجي في كلى المجموعة الثالثة في اليوم الخامس من الإعطاء	61
57	مقطع نسيجي في كلى المجموعة الثالثة في اليوم الخامس من الإعطاء	62
58	مقطع نسيجي في كلى المجموعة الثانية في اليوم التاسع من الإعطاء	62
59	مقطع نسيجي في كلى المجموعة الثالثة في اليوم التاسع من الإعطاء	62
60	مقطع نسيجي في الكبد لطير نافق من المجموعة الرابعة في اليوم الخامس بعد الإعطاء	63
61	مقطع نسيجي في الكلى لطير نافق من المجموعة الرابعة في اليوم الخامس بعد الإعطاء	64
62	مسحة دموية طيرية مصبوعة بجيمزا من المجموعة الأولى	65
63	مسحة دموية طيرية مصبوعة بجيمزا من المجموعة الثانية بعد 24 ساعة	65
64	مسحة دموية طيرية مصبوعة بجيمزا من المجموعة الثانية في اليوم الخامس	65
65	مسحة دموية طيرية مصبوعة بجيمزا من المجموعة الثالثة في اليوم التاسع	65

قائمة الاختصارات العلمية		
الاختصار	المصطلح باللغة الانكليزية	المصطلح باللغة العربية
AR	Anticoagulant rodenticides	مبيدات القوارض المضادة لتخثر الدم
SWs	Superwarfarins	الوارفيريئات الفائقة
VKOR	Vitamin K epoxide reductase	الايبوكسيد المختزل لفيتامين K
BDF	Brodifacum	البروديفاكوم
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry	الاتحاد الدولي للكيمياء البحثية والتطبيقية
t _{1/2}	Half-life	عمر النصف
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء
MS/MS	Tandem Mass Spectrometry	القياس الطيفي الكتلي
LD ₅₀	Median lethal dose	الجرعة القاتلة للنصف
LC ₅₀	Lethal Concentration	التركيز المميت للنصف
LDL ₀	The lowest lethal dose	أقل جرعة قاتلة
TDL ₀	Lowest published toxic dose	أقل جرعة سامة منشورة
VKDPs	Vitamin K-dependent proteins	البروتينات المعتمدة على فيتامين k
GGC	γ-glutamylcysteine	غاما غلوتاميل سستئين
I	fibrinogen	العامل الأول
II	prothrombin	العامل الثاني
III	tissue factor	العامل الثالث
IV	ionized calcium	العامل الرابع
V	labile factor or proaccelerin	العامل الخامس
VII	stable factor or proconvertin	العامل السابع
VIII	antihemophilic factor	العامل الثامن
IX	Christmas factor	العامل التاسع
X	Stuart-Prower factor	العامل العاشر

XI	plasma thromboplastin antecedent	العامل الحادي عشر
XII	Hageman factor	العامل الثاني عشر
XIII	fibrin–stabilizing factor	العامل الثالث عشر
TF	tissue factor	العامل النسيجي
GGT	Gamma–glutamyl transpeptidase	إنزيم غاما غلوتاميل كربوكسيليز
APC	C activator protein	بروتين C المنشط
ZPI	Protein Z–related protease inhibitor	إنزيم البروتياز المرتبط بالبروتين Z
LC– MS/MS	Liquid chromatography–mass spectrometry	الاستشراب السائلي المزود بمقياس طيف الكتلة
PTT	Partial thromboplastin time	زمن الثرومبوبلاستين الجزئي
PT	Prothrombin time	زمن البروثرومبين الأحادي
EPO	Erythropoietin	الهرمون المكون لكريات الدم الحمراء
FLMP	Formyl–methionyl–phenylalanine	فورميل ميثيونيل فينيل آلانين
CBC	Complete blood count	تعداد الدم الكامل
CT	Clotting Time	زمن التخثر
TRBCs	Total Red Blood Cells Count	التعداد الكلي لخلايا الدم الاحمر
TWBCs	Total White Blood Cells Count	التعداد الكلي لخلايا الدم البيض
PCV	Hematocrit (packed cell volume)	مكداس الدم
PLT	Platelet count	عد الصفيحات الدموية

ROS	Reactive oxygen species	مركبات الاوكسجين التفاعلية
GPX	Glutathione peroxidase	غلوتاثيون بيروكسيداز
SOD	Superoxide dismutase	فوق الأوكسيد ديسميوتاز
COX	Cyclooxygenase	أنزيمات الأوكسدة الحلقية
LOX	Lipoxygenase	أنزيمات أكسدة الدهون

مُلَخَّصُ البَحْثِ

Abstract

المُلخَص باللغة العربية:

يهدف هذا البحث إلى دراسة الأعراض المرضية، والتغيرات التشريحية العيانية والمجهريّة في أنسجة الكبد والكلّى، وتغيرات الصورة الدموية التي يحدثها البروديفاكوم لدى دجاج اللحم.

أُجريت التجربة على (48) طائراً من دجاج اللحم بعمر أسبوعين واستمرت (9) أيام، قُسمت إلى أربع مجموعات، تضم الواحدة منها (12) طائراً، أُعطيت المجموعات باستثناء الشاهد جرعة واحدة فقط من البروديفاكوم 0.005% عن طريق الفم، بجرعات (2.25، 4.5، 9) ملغ/كغ على الترتيب، وسُجلت الأعراض المرضية ونسبة النفوق خلال التجربة.

أُختيرت عينة عشوائية مؤلفة من أربعة طيور من كل مجموعة جُمعت منها عينات الدم بعد 24 ساعة، وفي اليومين الخامس والتاسع بعد إعطاء البروديفاكوم، ثم دُبحت وسُجلت التغيرات التشريحية المرضية العيانية، وأُخذت عينات من أنسجة الكبد والكلّى؛ بهدف دراسة التغيرات المرضية النسيجية. أظهرت النتائج بعض الاضطرابات العصبية لدى الطيور قبل النفوق إضافة للنزف في العينين، والأذنين، وتحت الجلد،

لُوحِظت تغيرات مرضية عيانية واضحة في الكبد، على شكل احتقان واصفرار ونزف تحت المحفظة، وتضخم الكبد.

أما التغيرات المرضية النسيجية فكانت على شكل احتقان الجيبانات الدموية والأوردة المركزية، ولُوحِظ التورم الغيمي والتتكس المائي في خلايا الكبد بعد 24 ساعة من الإعطاء، وظهر التتكس الدهني والنخر في اليومين الخامس والتاسع من الإعطاء.

ترافقت هذه التغيرات مع ردود فعل التهابية تمثلت بزيادة ارتشاح خلايا كوبفر و المستغيرات والبلاعم واللمفاويات حول المسافات البابية وبالقرب من الأوردة المركزية.

تجلّت التغيرات المرضية في الكلّى على شكل تضخم خفيف في فصوصها وخاصة الأمامية إضافة لحدوث النزف والاحتقان في المجموعتين الثالثة والرابعة بعد 24 ساعة، وبدت بلون شاحب في المجموعتين الثالثة والرابعة في اليوم الخامس من الإعطاء. ازداد التضخم والنزف في الفصوص الأمامية للكلّى لدى جميع طيور المجموعات في اليوم الأخير من التجربة.

تمثلت التغيرات النسيجية المرضية باحتقان الأوعية الدموية، والتتكس المائي والنخر في ظهارة النبيبات الكلوية والكبيبات والقنوات الجامعة، إضافة للنزف ضمن لمعة بعض النبيبات الكلوية الدانية والقاصية

والقنوات الجامعة لدى المجموعات التي تناولت الجرعات العالية في اليومين الخامس، والتاسع من إعطاء البروديفاكوم، وتمثل رد الفعل الالتهابي بارتشاح المستغيرات وبعض اللمفاويات.

أظهرت نتائج دراسة المعايير الدموية انخفاضاً معنوياً ($P \leq 0.05$) في كل من العدد الكلي لخلايا الدم الأحمر، والصفائح الدموية، ومكداس الدم، كما أظهرت ارتفاعاً معنوياً ($P \leq 0.05$) مُهماً في العدد الكلي لكريات الدم البيض واللمفاويات والمستغيرات، وزمن التخثر بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم، واستمرت هذه التغيرات حتى نهاية التجربة في اليوم التاسع.

تشير نتائجنا المجهرية جنباً إلى جنب مع المعايير الدموية إلى التأثير السام للبروديفاكوم على دجاج اللحم، وأن ما يُحدثه من تغيرات مرضية تزداد شدتها بازدياد الجرعة وبمرور الوقت، إذ بلغت ذروتها لدى طيور المجموعة الرابعة التي تناولت أعلى جرعة من البروديفاكوم.

الكلمات المفتاحية: مبيدات القوارض - البروديفاكوم - التغيرات التشريحية المرضية - الكبد - الكلى - الصورة الدموية - دجاج اللحم.

الفصل الأول

المقدمة وأهداف البحث

Introduction and Objectives of Research

1-1- المقدمة introduction :

تُشكل القوارض مُشكلة كبيرة في جميع أنحاء العالم لما تسببه من خسائر اقتصادية وصحية، لذا فإنّ مكافحتها يُعدّ أمراً في غاية الأهمية (Buckle & Smith, 2015). أُستخدِمت طرائق عديدة للتعامل مع هذه المخاطر والسيطرة على القوارض، أحدها الطريقة الكيميائية. إذ أُستخدِمت مضادات تخثر الدم بنوعيتها الجيل الأول والثاني.

تُعدّ هذه المواد سامة للحيوان والإنسان، وبما أنها تُستخدم في أماكن وجود القوارض في المنازل، الحقول، والمزارع؛ لذلك قد تكون الكائنات الحية الأخرى عُرضة لتسممات عَرَضِيَّة أولية، أو ثانوية.

يحدث التسمم العرضي في قطعان الدواجن على نحو كبير؛ نظراً للتربية المكثفة، وكثافة استخدام السموم لمكافحة القوارض ولطبيعة تركيب وتخزين أعلاف الدواجن، إضافة إلى أنّ الدواجن تُقبل على كُل ما يُقدّم بِغَض النظر عن كون هذه المواد ضارّة أم غير ذلك.

يُثير الإِستِخدام الواسِع لمبيدات القوارض المُضادّة للتخثر (AR) Anticoagulant rodenticides - التي تُعدّ حَجَر الزاوية في مُكافحة القوارض في العالم - تساؤلات حَوْل التَّعَرُّض لهذه المواد ومخاطر التسمم بها ومدى سلامتها.

أُستخدِمت المبيدات المضادة للتخثر مُنذ أربعينات القرن الماضي، كان الوارفارين أول المركبات المستخدمة؛ لكنّ استخدامهُ لفترة طويلة من الزمن أدّى إلى ظهور سلالات مُقاومة من القوارض؛ ممّا استدعى الحاجة لإِستِنباط جيل ثاني من مُضادات التخثر أكثر كفاءة ضد السلالات المُقاومة، المُسمّاة مُضادات التخثر طويلة المفعول أو الوارفارينات الفائقة (SWs) Superwarfarins (Lefebvre et al., 2017).

هذه المُركبات أكثر فعالية من مركبات الجيل الأول نظراً لطول عِمَرها النصفِي، ما يعني أنها تبقى لفترة أطول في الأنسجة. هُنالك تناقض كبير بين احتفاظ الأنسجة بالجيل الأول والجيل الثاني، إذ أنّ جُزيئات الجيل الأول لها ثبات في الأنسجة لبُضعة أيام في حين أنّ الجيل الثاني لديه إمكانية بقاء في الأنسجة لبُضعة أسابيع (Vandenbroucke et al., 2008)، هذا الثبات يستدعي إطالة مُدة العلاج بالترياق إثر التعرُّض علاوة على انبعاثه بتركيز أكبر من جُزيئات المبيد في أجسام القوارض بعد موتها، ويُزيد بذلك من حَظَر التسمم الثانوي للحيوانات غير المُستهدفة المُفترسة أو التي تتغذى على الجردان المُعرّضة، وفضلات الطعام الملوثة. إضافة للخطر الناجم عن تراكم جُزيئات المبيد في لحوم الدجاج ممّا يُشكل حَظراً على صِحّة وحياة الإنسان.

تَمَّت دِرَاسَة تَأثير مُبيدات القوارض على عددٍ من الحيوانات مثل الجرذان، والكلاب، والسَّمان، لكن أُجريت مُعظم هذه الدراسات على الفئران، و هَدَفَت لتحديد فعالية واستساغة القوارض للطعوم الحاوية على مُضادات التَّخثر (El-Bahrawy & Morsy, 1990; Gill, 1992).

1-2- أهمية البحث :Importance of the study

تأتي أهمية البحث الحالي من الإِستخدام الكثيف لمبيدات القوارض المضادة للتخثر، وَقِلَة الدراسات التجريبية المُتعلقة بأنواع أُخرى من الحيوانات، ومدى خطورة هذه المُبيدات على الصحة العامة، والكائنات الحية، ومنها دجاج اللحم، وما يَنجُم عنها من مخاطر جَدِيَة بيئية وصحية واقتصادية، وكان هذا دافِعاً لإجراء الدراسة الحالية و تَسْلِي ط الصَّوء على بعض جوانب التسمم بالبروديفاكوم، وتحديدًا التَّأثيرات السُّمية التي يُحدِثُها في أنسجة الكبد، والكلَى، والصورة الدموية لدى دجاج اللحم.

1-3- أهداف البحث :Objectives of Research

1. دِرَاسَة الأعراض المرضية الظاهرة على دَجاج اللَّحْم نتيجة التسمم بالبروديفاكوم .
2. دِرَاسَة التَّغْيِرات النَشْرِيحية المرضية العَيَانِيَّة، والنسيجية التي يُحدِثُها البروديفاكوم في أنسجة الكبد والكلَى لدى دجاج اللَّحْم .
3. دِرَاسَة تأثير التسمم بالبروديفاكوم على الصورة الدموية لدى دجاج اللحم، وتحديدًا عدد خلايا الدم الحمر، والعدد الكلي، والتفريقي لخلايا الدم البيض، وعدد الصُّفِيحات الدموية، ومِكداس الدَّم، وزَمَن التَّخثر.

الفصل الثاني

الدراسة المرجعية

Literature Review

2- الدراسة المرجعية Literature Review:

2-1- مبيدات القوارض المضادة لتخثر الدم (AR) Anticoagulant rodenticides:

يُعد هذا النوع من المبيدات الأكثر استخداماً لمكافحة القوارض، ويُشار إلى الجيل الثاني من مبيدات القوارض المستخدمة حالياً في جميع أنحاء العالم باسم الوارفارينات الفائقة (SWs) Superwarfarins، وهي مواد منخفضة السمية للإنسان، لكنها أكثر سُمية للحيوانات، بما في ذلك الأليفة مقارنة بالبشر (Zawadzki & Szpot, 2019).

ربما يعود السبب في هذا لزيادة درجة حساسية الحيوانات لهذه المجموعة من المركبات، وقد يكون تسمم الحيوانات عَرَضِيّاً أو مُتَعَمِّداً (Zawadzki et al., 2007).

يحدث التسمم عند الطيور نتيجة لتناول طعم مبيد القوارض مباشرة، أو تغذي الطيور الجارحة على القوارض التي ابتَلَعَت الطَّعْم، أو الطيور الآكلة للحشرات المُلوثة (Brakes & Smith, 2005).

إنَّ لِمُبيدات القوارض المضادة للتخثر (AR) تاريخاً طويلاً من الاستخدام الناجح لمكافحة القوارض (Jacob & Buckle, 2018)، ولا تزال واحدة من المجموعات الكيميائية الرئيسة في صناعة مبيدات القوارض العالمية، في حين أدت مخاطرها على الأطفال، والحيوانات المصاحبة، والحياة البرية غير المستهدفة إلى بعض القيود على استخدام الجيل الثاني، والذي يعد أكثر خطورة مقارنةً بالجيل الأول (Elliott et al., 2016; Buckle & Prescott, 2018).

2-2- اكتشاف المبيدات مضادات التخثر وتطورها:

اكتُشِفَت مضادات التخثر في القرن العشرين عندما حدث تفش لاضطراب نزفي Hemorrhagic disorder غير عادي في الماشية في الولايات المتحدة، وكندا؛ عَزِيَ هذا إلى تناول علف البرسيم الحلو، مما أدى في النهاية إلى اكتشاف مضادات التخثر النباتية 4-هيدروكسي كومارين عام 1940، الذي تم تصنيعه في جامعة ويسكنسن عام 1948 وسُمي الوارفارين، تم اعتماده لاحقاً للاستخدام كمبيد للقوارض في الولايات المتحدة، وكذلك للاستخدام السريري لمنع تجلط الدم، وأصبح الوارفارين أكثر المواد شيوعاً في السيطرة على أعداد القوارض، ومع ذلك فقد بدأت فعاليته بالإنخفاض في السبعينات بسبب الاستخدام المكثف له (Pirmohamed, 2006)، ونتيجة لفقدان فعالية الوارفارين كمبيد للقوارض بعد عدة سنوات من التعرض له طُوِّرَت القوارض مُقاومة شبه كاملة لهذا المُركَّب.

ظَهَرَت هذه المُقاومة كصفة جسمية سائدة أحادية الجين، عندها أصبح من الضروري إنتاج مُبيدات قوارض تكون الحيوانات حساسة لها مما استدعى إنتاج الجيل الثاني من مبيدات القوارض المسمى بالوارفارينات الفائقة (SWs) (Zawadzki *et al.*, 2007).

الوارفارينات الفائقة Superwarfarins: هي مضادات تخثر من الجيل الثاني من الكومارين التي تتميز بعمر نصفي أطول، وذلك لإرتباطها بالإيبوكسيد المُختَزَل لفيتامين K 2,3 Vitamin K epoxide reductase (VKOR) وهذا الارتباط بين السوبر وارفارين وVKOR أقوى حتى 100 ضعف مقارنة بالوارفارين (watt *et al.*, 2005).

أما الإجراء الثانوي للسوبر وارفارين فهو تثبيط الكربوكسيل من العوامل التي تعتمد على فيتامين K العامل الثاني، والسابع، والتاسع، والعاشر (II, VII, IX, X) في الكبد (Chua & Friedenber, 1998). تتميز مُركبات الجيل الثاني بأنها أكثر فعالية؛ ويعود هذا إلى التقارب الأكبر لمواقع الارتباط في الكبد وبذلك زيادة التراكم والاستمرارية، ويتأثر استمراره في الأنسجة بعد الابتلاع والامتصاص بالجرعة المتناولة والألفة بين المركب ومواقع الارتباط، وقابلية التشبع بمضادات التخثر (Huckle *et al.*, 1988). كما يُزيد العمر النصفي الطويل والفعالية المُتزايدة للسوبر وارفارين من خطر تلوث المياه، أو الطعام، وبذلك الإضرار بالبيئة، والكائنات الحية غير المستهدفة (Gómez *et al.*, 2014).

2-3- تصنيف مبيدات القوارض المضادة للتخثر:

تُصنّف مبيدات القوارض المضادة للتخثر اعتماداً على تركيبها الكيميائي، في مجموعتين رئيسيتين هي:

1. هيدروكسي كومارين Hydroxycoumarin :

التي تقسم إلى الجيل الأول (وارفارين، كوماكلور، كومافوريل، كوماتيتريل)

والجيل الثاني (بروديفاكوم، بروماديولون، ديفيناكوم، مركبات ديفثيالون، فلوكومافين)

2. ومركبات الإندانديون indandione (كلوروفاسينون، ديفاسينون، بيندون، فالون)

(Valchev *et al.*, 2008).

2-4- البروديفاكوم (BDF) Brodifacum:

هو مُضاد تخثر قوي من مركبات الجيل الثاني تم تطويره في منتصف السبعينيات للتخلص من الفئران المقاومة للوارفارين، وتم استخدامه بنجاح في استئصال القوارض، بالإضافة إلى استخدامه بنجاح للقضاء على الأرانب، وحيوان البوسوم، ومكافحة الوب (Robertson *et al.*, 1993).

يُعد البروديفاكوم Brodifacum (BDF) أكثر أنواع السوبروارفارين شيوعاً (Berny *et al.*, 1995)، وهو السبب الرئيس للتسمم في الحيوانات الأليفة (Chua & Friedenberg, 1998).

يُعد البروديفاكوم مركباً واسع الطيف شديد السُمية، مما يُشكل خطراً على الثدييات والطيور غير المستهدفة التي قد تتعرض له إما مباشرة أثناء استهلاك الطعوم، أو على نحو غير مباشر أثناء التعرض لأنسجة الحيوانات المسمومة بالبروديفاكوم "التسمم الثانوي". أشارت الكثير من التقارير على مدى العقدين الماضيين إلى التسمم الثانوي ووجود بقايا البروديفاكوم في أنسجة الحيوانات غير المستهدفة، ولاسيما الثدييات والطيور (Eason *et al.*, 2002).

يُمثل البروديفاكوم خطراً مرتفعاً نسبياً للتسمم الثانوي مقارنة بالمبيدات الأخرى بسبب استمرار ثباته لفترات طويلة لاسيما في الكبد (Erickson & Urban, 2004)، كما يُشكل خطراً لتلوث ذبائح الأغنام، والدواجن عن طريق تناول كميات قد تكون مميتة من المركب، فأتثناء تسميم الأرانب والقوارض قد تتعرض حيوانات أخرى إلى الطعوم السامة التي تكون مستساغة بالنسبة لهم، ومع تزايد استخدام هذا النوع من الطعوم في المناطق الزراعية من المحتمل أن تتعرض المزيد من الأنواع غير المستهدفة للخطر، وبذلك القلق من التعرض البشري للبروديفاكوم نتيجة استهلاك لحوم الحيوانات المتسممة به (Mendenhall & Pank, 1980).

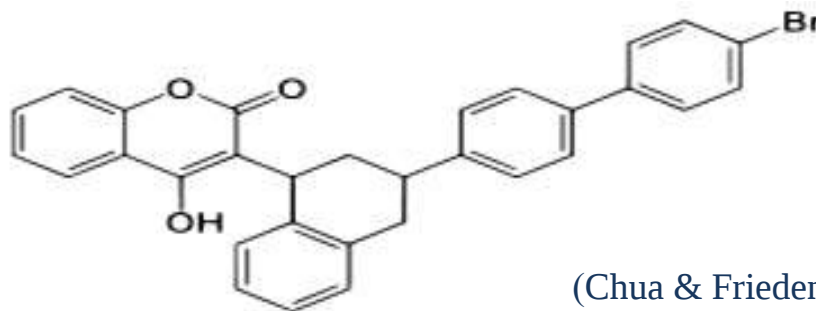
2-4-1- الاسم والصيغة الجزيئية والهيكلية للبروديفاكوم:

الاسم: International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC):

3-[3-[4-(4-bromophenyl) phenyl]-1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1-yl]-4-hydroxychromen-2-one,

الصيغة الجزيئية: C₃₁H₂₃BrO₃

الصيغة الهيكلية:



(Chua & Friedenberg, 1998)

الشكل رقم (1): يوضح الصيغة الهيكلية للبروديفاكوم

2-4-2- الحرائكية السمية Toxic kinetics:

يدخل البروديفاكوم الجسم عبر القناة الهضمية، إذ يتميز بامتصاصية عالية، وسريعة (Vandenbroucke *et al.*, 2008)، ليصل ذروة تركيزه في البلازما خلال 12 ساعة من الابتلاع (Olmos & López, 2007).

وفي دراسة حرائكيته وصل البروديفاكوم في بلازما الأرانب إلى أقصى تركيز له بعد 24 ساعة من الإعطاء، وتناقصت التراكيز في الأيام الأربعة التالية (Hauck, 2017)، وفي دراسة أخرى وصلت ذروة تركيزه في البلازما خلال دقيقة إلى ساعة واحدة بعد تناوله عن طريق الفم (Talcott & Peterson, 2012). يتوزع البروديفاكوم في جميع أنحاء الجسم، وقد يبقى في البلازما لمدة تصل إلى 180 يوم (Watt *et al.*, 2005).

في دراسة أجريت على الجرذان، والأرانب لتحديد الأنسجة المتأثرة والحرائكية السمية للبروديفاكوم، أظهرت النتائج تراكم البروديفاكوم في أنسجة المخ، والكبد، والكلية، والبنكرياس، والقلب، والرئة، إذ أظهر الكبد أعلى تركيز واستمر الارتفاع في الأيام الأربعة الأولى باستثناء الغدة الصعترية، إذ انخفضت مستوياته فيها. كذلك استمرت مستوياته في الأنسجة في الارتفاع من اليوم الرابع وحتى اليوم الثامن من الإعطاء، وبحلول اليوم العاشر أظهرت جميع الأنسجة باستثناء الكبد مستويات منخفضة من البروديفاكوم، كما يتراكم البروديفاكوم في العديد من الأنسجة الدهنية؛ ولكن 90% من الكمية المتناولة تتراكم في الكبد إذ يُحدث معظم الضرر، كما تم الكشف عنه في الدماغ، والطحال، والصفراء، والدم، والطريق الرئيسية لإطراحه بعد تناوله عن طريق الفم هي البراز، والبول (Watt *et al.*, 2005; King & Tran, 2015; Hauck, 2017).

أظهرت نتائج تجربة مخبرية أجريت على الفئران ارتباطاً إيجابياً وثيقاً بين تراكيز البروديفاكوم المتبقية في الكبد، وكمية البروديفاكوم المتناولة، إذ تم إفراز ما يقدر بـ 14-22% من البروديفاكوم المبتلع في الفئران (Gebauer, 2007).

على عكس الوارفارين، فإن للبروديفاكوم عمر نصف حيوي طويل للغاية، وقدرة على البقاء في الدم، والأنسجة لمدة من 130-20 يوماً وحتى 6 أشهر بفضل الحد الأدنى من التمثيل الغذائي والإطراح، وبذلك يمكن أن يُكشف عن هذه المادة في دم المصاب بعد التسمم بعدة أشهر (Lo *et al.*, 2008; Marangoni *et al.*, 2016).

يمكن الكشف عن ثمالات الجرعات شبه القاتلة من البروديفاكوم في كبد الأغنام لأكثر من 16 أسبوعاً وتستمر مع عمر نصفي كبدي يزيد عن 114 يوماً بالنسبة للأنواع الحيوانية المختلفة (Laas *et al.*, 1985).

تم تحديد عمر النصف $t_{1/2}$ Half-life للبروديفاكوم لدى الفئران في دراسة حديثة باستخدام تقنية التحليل الكمي والنوعي بوساطة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) High Performance Liquid Chromatography والقياس الطيفي الكتلي Tandem Mass Spectrometry (MS/MS)، بمتوسط 91.7 يوم (Vandenbroucke *et al.*, 2008)، وأظهرت نتائج تحديد الجرعة السامة بالكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) في حالة تسمم بالبروديفاكوم بقاء المادة حتى 209 يوم بعد التسمم في دم المصاب (Olmos *et al.*, 2007). تم الإبلاغ عن عمر النصف و الإطراح للبروديفاكوم ما بين 15 و 30 يوماً (Lo *et al.*, 2008).

لقد أظهرت نتائج (Fisher, 2009) بقاء تراكيز البروديفاكوم في كبد الدجاج في حالة ثبات نسبي على مدار 14 يوماً بعد التعرض، وكان تركيزه في الكبد أعلى بـ 10 مرات من تركيزه في العضلات، والدهون، والذي انخفض في الأيام 4، 7، 14، أما تركيزه في البلازما في اليوم الأول كان مرتفعاً تقريباً مماثلاً لتركيزه في الكبد؛ لكنه انخفض بعد اليوم الرابع. وقدر عمر النصف في العضلات بمتوسط 5.3 يوم، والدهون 2.7، للمبيض 3.17، وللبلازما 1.14 يوم.

أشارت نتائج (Rattner *et al.*, 2020) إلى استمرار بقايا البروديفاكوم في الكبد، والكلى لدى طيور العوسق الأمريكية (Falco sparverius) في فترة التعافي البالغة 28 يوماً إذ قدر عمر النصف النهائي بأكثر من 50 يوماً.

ترجع السمية الشديدة للبروديفاكوم جزئياً إلى طول عمر النصف، ومقاومته لعملية التمثيل الغذائي؛ نظراً لأن الطريق الأساس للتخلص منه هي عبر الأفضية الصفراوية، ومع ذلك فإن ألفته للدهون تؤدي إلى إعادة امتصاصه في القناة الهضمية، ومن ثم يخضع لعملية إعادة تدوير معوية كبدية مما يساهم في إطالة عمره النصفي (Hauck, 2017).

تشير الدراسات إلى أن البروديفاكوم يرتبط على نحو خاص مع خلايا الكبد بعد 24 ساعة الأولى من تناول جرعة واحدة عن طريق الفم (Bachmann & Sullivan, 1983)، وكان أعلى مستوى للإطراح عن طريق البراز بعد 24 ساعة الأولى من إعطاء البروديفاكوم ثم انخفض بسرعة بعد ذلك، لم يكشف عن أي مُستقلبات للبروديفاكوم في البلازما، والأنسجة، والبراز، والبول، فهو يتميز بالإفراز دون تغيير (Vandenbroucke *et al.*, 2008 ; Watt *et al.*, 2005).

أشار كل من (Talcott & Peterson, 2012) إلى أن مبيدات القوارض المضادة للتخثر (AR) قد تنتشر إلى أنسجة عديدة في الجسم؛ لكن البلازما، والكبد، والحليب، والأجنة هي الأكثر أهمية في الطب البيطري. وإن طول عمر النصف مفيد من أجل إجراء تحاليل الدم للحيوانات المعرضة، أما بعد النفوق فالنسيج المفضل لتحليل العينات هو الكبد في حالات تشريح الجثة إذ أنه يحوي على أعلى تركيز للمبيد.

2-5- طرائق التعرض للمادة:

تحدث حالات التسمم الأكثر شيوعاً بمركبات الهيدروكسي كومارين غالباً بالابتلاع عن طريق الفم، فضلاً عن طرائق التعرض الأخرى وتشمل الإمتصاص عبر الجلد والجهاز التنفسي، إذ أن بعض الحيوانات كالأرانب، وخنزير غينيا يمكنهما امتصاص كمية كبيرة من السم عن طريق الجلد مما يؤدي إلى التسمم الحاد (Nicpoń et al., 2007).

يُعد التسمم العرضي بالبروديفاكوم الشكل الأكثر شيوعاً للتعرض يليه استخدامه عند البشر كوسيلة للانتحار ومن ثم الإضرار المتعمد جنائياً (King & Tran, 2015).

2-6- الجرعات السمية Toxic doses:

تتطلب مركبات الجيل الثاني جرعة واحدة فقط لقتل الفئران، في حين أن مركبات الجيل الأول تحتاج لعدة جرعات قبل إنجاز تأثيرها (Petterino & Paolo, 2001; Erickson & Urban, 2004). تختلف سُمية البروديفاكوم في كل من الثدييات والطيور، تُقدر كميات الطعوم المُستخدمة معيارياً بالاعتماد على الجرعة القاتلة للنصف (LD50) Median lethal dose، إذ تُقدر الجرعة القاتلة للنصف عند الدواجن بـ 4.5 ملغ/كغ (Worthing, 1991).

تحتوي معظم طعوم القوارض على تراكيز متفاوتة صغيرة جداً من المادة الفعالة وتتراوح على نحو عام بين 0.005 % إلى 0.25 % (Campbell & Chapman, 2000).

الجدول رقم (1): يوضح الجرعات السامة عند الكائنات الحية المختلفة

النوع	نوع الجرعة *	مصدر الجرعة	الجرعة ملغ/كغ وزن حي	المصدر
كلاب	LD50	فموي	25	Worthing, 1991
قطط	LD50	فموي	0.25	Worthing, 1991
دجاج	LD50	فموي	4.5	Worthing, 1991
فئران	LD50	فموي	0.29	Worthing, 1991
جرذان	LD50	فموي	0.16	Worthing, 1991
	LD50	جلد	200	Worthing, 1991
	LC50	استنشاق	0.5	Worthing, 1991
بط	LD50	فموي	2	Worthing, 1991
اغنام/ماعز	LDL0	فموي	3	Godfrey <i>et al.</i> , 1985
خنزير غينيا	LD50	فموي	2.8	Worthing, 1991
أرانب	LD50	فموي	0.20	Godfrey <i>et al.</i> , 1981
	LDL0	جلد	2.5	National Technical information service
رجال	TDL0	فموي	0.12	Sheen <i>et al.</i> , 1994; Morgan <i>et al.</i> , 1996
نساء	TDL0	فموي	0.167	

*LD₅₀: الجرعة القاتلة للنصف، LC₅₀: التركيز المميت للنصف

LDL₀: الجرعة غير القاتلة، TDL₀: أقل جرعة سامة منشورة

2-7- آلية العمل Mechanism of action:

تتماثل آلية عمل جميع مبيدات القوارض المضادة لتخثر الدم (AR) مع الوارفارين (Hadler & Shadbolt, 1975)، وهي تُحدث تأثيرها عن طريق تثبيط إنزيم الايبوكسيد المختزل لفيتامين K₁ "VKOR" ثم تثبيط إعادة تدوير فيتامين K كينون (K₁)، وهو عامل مساعد ذو أهمية أساسية يخضع له تغيرات دورية مختلفة بفعل إنزيم ايبوكسيد ريدوكتاز لتفعيل عوامل تجلط الدم "الثاني، والسابع، والتاسع، والعاشر" مما يؤدي إلى استنفاد فيتامين K₁ النشط وإضعاف تخليق عوامل التجلط سالفة الذكر وتبقى غير وظيفية لأنها تعتمد

على فيتامين ك، وكذلك البروتينات المضادة للتخثر C و S مما يؤدي إلى حدوث نزيف دموي شديد، قد يستمر هذا التأثير فترة طويلة جداً (أسابيع أو أشهر) بعد تناول جرعة واحدة من السم (Oldenburg *et al.*, 2006; Wetiz, 2011; Laszkowska-lewko *et al.*, 2017).

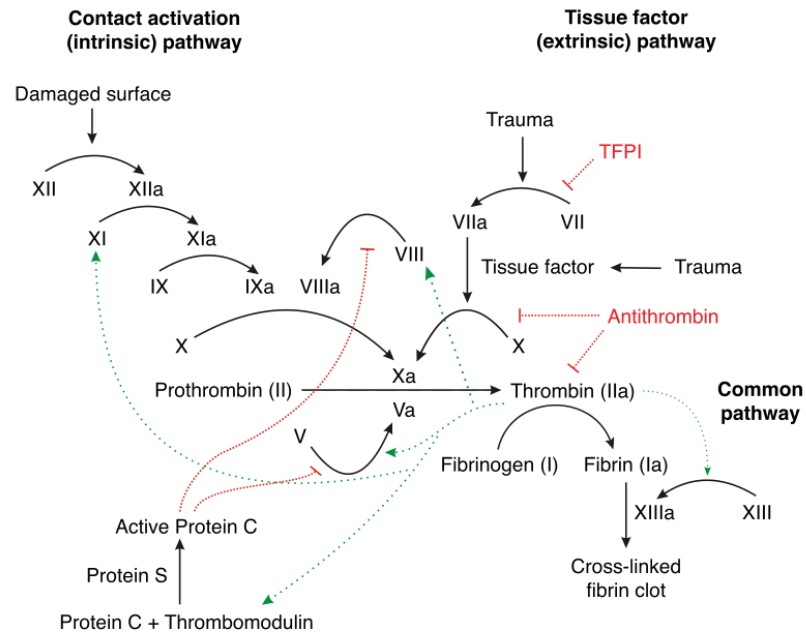
2-8- آلية تأثير البروديفاكوم:

يعمل البروديفاكوم مثل سائر مركبات السوبر وارفاين، عن طريق التداخل مع التركيب الطبيعي لفيتامين K بتنشيط الإنزيم المختزل لفيتامين K2-3 ومقاطعة دورة فيتامين K ومنع تكون الخثرة، وكذلك عن طريق تنشيط الكربوكسيل لاصطناع عوامل التخثر في كبد الفقاريات. عندما يحدث هذا التنشيط ضمن فترة زمنية كافية، يفشل الدم في التخثر استجابة للإصابة بالإضافة إلى ذلك يُزيد البروديفاكوم من نفاذية الشعيرات الدموية؛ إذ تبدأ بلازما الدم، والدم بالتسرب من أصغر الأوعية الدموية، ويعاني الحيوان المتسمم من نزيف داخلي حاد وفقر دم شديد، مما يؤدي إلى الصدمة Shock وفقدان الوعي Coma والنفوق في نهاية المطاف (Chua & Friedenber, 1998; Eckhardt, 2008; King & Tran, 2015).

إضافة إلى تأثيرات البروديفاكوم المضادة للتخثر فإن له تأثيرات سمية عصبية مباشرة قد تكون مرتبطة بالنفاذية الغشائية الخلوية للعصبونات (Marangoni *et al.*, 2016)، إذ أن للبروتينات المعتمدة على فيتامين K Vitamin K-Dependenz Proteins K (VKDPs) أهميتها في وظائف المخ والتوازن (Ferland, 2012)، يعمل فيتامين K في الدماغ بوساطة دوره كعامل مساعد للكربوكسيل في إنزيم غاما غلوتاميل سستئين γ -Glutamylcysteine (GGC)، وهو المسؤول عن فيزيولوجيا الخلايا العصبية والخلايا الدبقية وتكوين النخاعين Myelin، كما يمكن أن يكون للبروديفاكوم آثاراً سلبية على نمو الدماغ، و وظائف الأعضاء بسبب هذه التأثيرات على VKDPs في الدماغ (Eckhardt, 2008).

بينما يشمل المسار المشترك على عوامل التخثر X و V و II و I و XIII العاشر أو ستينيات برآور و طليعة الاكسليرين، والثاني أو البروثرومبين، والأول أو الفيبرينوجين، والثالث عشر أو عامل تثبيت الفبرين على التوالي. أما عامل التخثر الرابع والذي هو أيون الكالسيوم Ca^{++} فيلعب دوراً مهماً في جميع المسارات الثلاثة.

تُصنع الغالبية العظمى من عوامل التخثر على نحو أساسي في خلايا الكبد المسؤولة عن تزويد الجسم بعوامل التخثر XIII و XII و XI و X و IX و VII و V و II و I باستثناء العامل الثالث، والرابع، والثامن (Swieringa *et al.*, 2018).



الشكل رقم (3): يوضح شلال التخثر Coagulation cascade

عوامل التخثر (بروتينات التخثر) (clotting factors (coagulation proteins):

هي جواهر وأهم مكونات نظام التخثر والإرقاء، التي تدخل في تفاعلات معقدة تؤدي إلى تحويل مولد الليفين القابل للذوبان إلى خيوط الليفين غير الذوابة. إنّ غالبية عوامل التخثر هي طلائع الإنزيمات المُحللة للبروتين المعروفة باسم zymogens والتي تنتشر على نحو غير نشط.

تخضع هذه البروتينات لتعديل انتقالي (يعتمد على فيتامين $K \gamma$ الكربوكسيل لبقايا حمض الجلوتاميك) والتي تمكنها من ربط الكالسيوم وغيره من الكاتيونات ثنائية التكافؤ والمشاركة في شلال التخثر، يؤدي

نقص فيتامين K أو تناول مضادات فيتامين K "الوارفارين" إلى منع تخثر الدم (Pallister & Watson, 2010).

يُعد فيتامين K في الحالة الطبيعية عاملاً أساسياً في شلال التخثر بالنسبة لإنزيم غاما غلوتاميل كربوكسيليز (GGT) Gamma-glutamyl transpeptidase الذي يفرزه الكبد والذي يضيف مجموعة كربوكسيل إلى رواسب حمض الغلوتاميك الموجودة في العوامل II و VII و IX و X، بالإضافة إلى عدد من البروتينات مثل بروتين S و C و Z. أثناء إضافة مجموعة غاما كربوكسيل لرواسب الغلوتامات الموجودة على عوامل التجلط غير النشطة فإن فيتامين K نفسه يتأكسد، وهناك إنزيم آخر يسمى إنزيم الإيبوكسيد المختزل لفيتامين K (VKOR) يقوم بإعادة فيتامين K إلى حالته النشطة (Tie & Stafford, 2008).

VKOR (Vitamin K epoxide Reductase) هو مركب بروتيني إنزيمي مسؤول عن اختزال فيتامين K 2,3-epoxide إلى شكله النشط المهم للتخثر الفعال، وهو إنزيم رئيس في دورة فيتامين K، يشارك VKOR فيها عن طريق اختزال فيتامين K إيبوكسيد إلى فيتامين K، وهي الخطوة المحددة لإعادة تدوير فيتامين K، بعد ذلك يكون اختزال إيبوكسيد فيتامين K مسؤولاً عن إضافة الكربوكسيل لبقايا حمض الغلوتاميك في بعض بروتينات تخثر الدم بما في ذلك العامل الثاني، والسابع، والتاسع، والعاشر (Garcia & Reitsma, 2008; Owen et al., 2010).

فيتامين K: هو فيتامين غذائي مهم يضبطه الجسم بإحكام، لا يتم اصطناعه في الجسم ويجب الحصول عليه من المكملات الغذائية أو الأطعمة، يتم تنظيم فيتامين K عبر دورة فيتامين K ويُخزن على شكل كينون، ويختزل إلى شكل هيدروكينون نشط عند الحاجة عن طريق اختزال إيبوكسيد فيتامين K، ويعمل الهيدروكينون بوساطة الكربوكسيل للبروتينات المعتمدة على فيتامين K، ويقوم اختزال فيتامين K إيبوكسيد بعد ذلك بتحويله إلى فيتامين K كينون، والذي يُخزن لحين الحاجة (Beulens & Booth, 2013).

يُعد بروتين C أحد العناصر الفيزيولوجية الرئيسة المضادة لتجلط الدم، إذ أنه يُنشط إنزيم السيرين بروتياز الذي يعتمد على فيتامين K بوساطة الثرومبين وتحويله إلى بروتين C المنشط C activator protein (APC)، تتم عملية تنشيط بروتين C عبر سلسلة تبدأ بارتباط كل من بروتين C، والثرومبين ببروتين الثرومبوموديولين Thrombomodulin الموجود في غشاء الخلايا المبطنة للأوعية الدموية ومن ثم يربط الثرومبوموديولين بين هذه البروتينات بدرجة تعمل على تنشيط البروتين C.

أما البروتين S فهو بروتين سكري موجود في بلازما الدم يعتمد في تركيبه على فيتامين K ويُعد العامل المساعد لبروتين C المنشط (APC) الذي يصبح غير فعال عندما يرتبط بالبروتين المكمل C4b.

يعمل بروتين Z كوسيط يساعد في التصاق الثرومبين بجزيئات الفوسفوليبيد ويحفز تنشيط نشاط العامل X بفعل مثبط إنزيم البروتياز المرتبط بالبروتين Z (ZPI) (Ezihe-Ejiofor & Hutchinson, 2013). يُنتج العامل II (البروثرومبين) في الكبد ويُحوّل بعدة تفاعلات تعتمد على فيتامين K الذي يحول 10-12 من أحماض الغلوتاميك في الطرف N في الجزيء إلى حمض غاما كاربوكسي غلوتاميك. تعزز بقايا حمض غاما كاربوكسي غلوتاميك بوجود الكالسيوم ارتباط البروثرومبين بالطبقات الفوسفورية. يثبط نقص فيتامين K أو إعطاء مادة مضادة للتخثر إنتاج مستقلبات حمض غاما كاربوكسي غلوتاميك، مما يؤدي إلى إبطاء تنشيط عملية التخثر. يقوم العامل IIa النشط بتنشيط مجموعة من عوامل تجلط الدم ألا وهي I و V و VII و VIII و XI و XIII وبروتين C والصفائح.

يُعد العامل السابع (بروكونفيرتين) Proconvertin وهو واحد من بروتينات تجلط الدم وإنزيم من عائلة سيرين البروتياز، ويعد ضرورياً لتكوين البروثرومبين المنشط، يتلخص دوره في تجلط الدم: بدعم التحويل، وتنشيط العاملين IX و X.

العامل التاسع IX أو عامل كريسماس Christmas factor، هو أحد بروتينات سيرين البروتياز التي تدخل في عملية نظام التخثر، وينتمي إلى عائلة الببتيداز، ينشط العامل X: الذيل يشترك مع العامل VIII في تكوين المركب الإنزيمي.

العامل العاشر X أو عامل ستيورات براور Stuart-Prower factor أحد إنزيمات عملية تجلط الدم وينتمي لعائلة سيرين البروتياز، يُصنع العامل العاشر في الكبد ويتطلب تخليقه لفيتامين K، يُنشّط من قبل كل من العامل التاسع (مع العامل المساعد له وهو العامل الثامن في مسار التخثر الداخلي) والعامل السابع مع العامل المساعد له وهو العامل النسيجي (Tissue factor) TF (في مسار التخثر الخارجي)، وهو أول عضو في المسار المشترك النهائي أو مسار الثرومبين، ودوره في عملية تخثر الدم هو تنشيط العامل II، إذ يشترك مع العامل V في تكوين مركب البروثرومبين (Jin & Gopinath, 2016).

2-10- تشخيص التعرض لمبيدات القوارض المضادة للتخثر:

يُعد التشخيص الطبي الشرعي لحالات التسمم بمبيدات القوارض المضادة للتخثر (AR) مُعقداً ويستند إلى عدة عناصر منها الصورة السريرية والتشريح المرضي والفحوصات النسيجية ونتائج الاختبارات السمية ومعايير الرقاع، إذ أن طرائق الكشف عن مضادات التخثر في العينات البيولوجية والفحص السريري إذا كانت متوافرة لاختصاصي الطب الشرعي فهي متعددة وواسعة جداً؛ لكن لا تشمل الاختبارات

المخبرية للتخثر أو السُممية الروتينية؛ نظراً لعدم توافر طرائق التحليل المتقدمة في علم السموم البيطرية (Zawadzki *et al.*, 2007).

يُعد الكشف عن المبيد واختيار الأنسجة المناسبة للفحص والتي تحوي على أكبر كمية من بقايا المركب الأصلي أمراً مهماً في حوادث التسمم، ويشيع استخدام الكبد لأنه يعرف بتراكم مضادات التخثر فيه لمدة طويلة إضافة لسهولة اخذ عيناته لتأكيد التسمم بهذه المواد في الحيوانات النافقة (Berny *et al.*, 1995). تتمثل الطرائق البسيطة لتحديد التسمم بمضادات التخثر الاختبارات الدموية واختبارات التخثر، أما الطريقة الأكثر دقة فهي اختبار مستوياتها البلازمية والتي تتم بطريقة الاستشراب السائلي المزود بمقياس طيف الكتلة LC-MS/MS Liquid chromatography–mass spectrometry (Hauck, 2017).

2-11 - المعالجة:

يعد تناول فيتامين K1 هو العلاج الوحيد للتسمم بالبروديافاكوم حالياً ، نظراً لطول عمر النصف قد تكون هناك حاجة لمكملات الفيتامين K1 لفترة طويلة (King & Tran, 2015; Watt *et al.*, 2005). تمت الإشارة في دراسة حديثة (Zowail *et al.*, 2019) إلى أنه للمستخلص المائي لنبات الزنجبيل تأثيراً وقائياً من التأثير الضار لمبيد البروديافاكوم.

2-12 - الأعراض المرضية للتسمم بالبروديافاكوم عند الحيوانات المختلفة:

يتجلى التسمم بمضادات التخثر بنزيف حاد داخلي وأحياناً خارجياً مع ضعف تخثر الدم، وترتبط العلامات السريرية الأولية بفقر الدم، شحوب الأغشية المخاطية، وضعف وعدم انتظام دقات القلب Arrhythmia (Berny, 2007). والأعراض الأكثر شيوعاً هي ضيق التنفس Dyspnea، والسعال cough، وشحوب الأغشية المخاطية، والأقل تكراراً هي الرعاف Rhinorrhagia، ونزيف اللثة Ulemorrhagia، والعلامات العصبية (Haines, 2008).

تصنف الأعراض حسب شدة التسمم على الشكل الآتي: في حالات التسمم البسيطة قد تظهر الأعراض على شكل نزيف طفيف من الأنف epistaxis، أو غياب تام للأعراض المرضية Asymptomatic، أما حالات التسمم المعتدلة فتُظهر نزيفاً في الأغشية المخاطية، وكدمات Ecchymosis، ورُعاف، ونزيفاً في القناة الهضمية العلوية، وبيلة دموية Hematuria، ونفث الدم Hemoptysis. وفي حالات التسمم

الخطيرة تظهر الأعراض بهيئة نزيف دماغي Cerebral hemorrhage، ونزيف حاد في الأعضاء التناسلية أو الجهاز التنفسي.

أشارت التقارير إلى حالات موت ناتجة عن التسمم بالبروديفاكوم مصحوبة بنزيف رئوي شديد Pneumonorrhagia؛ إضافة للأعراض السابقة، ونزيف تحت عنكبوتي Subarachnoid hemorrhage (Kruse & Carlson, 1992).

أشار (Palmer *et al.*, 1999) إلى أن الصورة الإكلينيكية للتسمم بمضادات التخثر قد تكون غامضة وتشبه أعراض ابيضاض الدم Leukemia، أو الأمراض المعدية مثل الانتان الجرثومي Bacterial infection، والريكتسيات Rickettsia، والطاعون Plague، وداء البريميات Leptospirosis. بينما أشار (Kuhn & Hendrix, 2013) لعرض غير عادي وحيد نتيجة لابتلاع البروديفاكوم ظهر بهيئة نزف أحادي الجانب تحت الملتحمة Unilateral Subconjunctival Hemorrhage، ونزف حول وخلف مقلة العين Retrobulbar Hemorrhage، دون ملاحظة أي انحلال Hemolysis أو فقر دم Anemia.

كما تشير بعض التقارير لحالات من التعرض غير النمطي لتحلل الدم بسبب مبيدات القوارض المضادة للتخثر، تشمل العرج Arthritis الناجم عن التهاب المفاصل (Bellah & Weigel, 1983). بينما أشار (Dpakauskas *et al.*, 2005) لسمية البروديفاكوم للفئران والجرذان البيض إثر تجريبها البروديفاكوم عن طريق الفم بجرعات قاتلة للنصف بلغت 0.4 ملغ/كغ للفئران، و0.3 ملغ/كغ للجرذان، وظهور الأعراض السمية بعد 24-36 ساعة على هيئة خمول Lethargy، وفقدان الشهية Anorexia، وضعف عام Weakness، واضطرابات عصبية Neurotica، وصعوبة تنفس Dyspnea، ونزف Hemorrhage في الأغشية المخاطية من العينين والأنف والفم، إضافة لتلون البول والبراز باللون الأحمر Hematuria and Hemafecia، والإقياء مدمى Bloody vomiting، و النفوق بعد سبعة أيام.

أظهرت نتائج دراسة (Gül *et al.*, 2016) التي أجريت على الفئران المعرضة لمبيدات القوارض، اضطرابات سلوكية Behaviour disorder بعد 24 ساعة من التعرض ونزوفاً خارجية، نتج عنها حدوث وفيات بعد سبعة أيام مصحوبة بنزيف في العينين والأنف والفم، وأشار (Talcott & Peterson, 2012) لظهور الأعراض الإكلينيكية للتسمم بمبيدات القوارض المضادة للتخثر بعد 36 ساعة من التعرض على الأقل.

بينما أشار (Declementi & Sobczak, 2012) لتأخر ظهور العلامات المرضية لاضطراب التخثر Thrombopathy بالبروديفاكوم حتى 2-5 أيام من الابتلاع مع اختلاف موقع وشدة النزف.

أما بالنسبة لظهور الأعراض المرضية لدى الدجاج البياض المعرض لمضادات التخثر فقد ذكر (Kammerer *et al.*, 1998) أنها استغرقت من 3 إلى 7 أيام بعد تناول السم، كانت الأعراض الأولية بهيئة نزيف داخلي Internal hemorrhage، لذلك غالباً ما تكون الأعراض غامضة وقد شملت الضعف والخمول ونقص الشهية أو انعدامها، يمكن أيضاً العثور على الدجاج نافقاً دون ملاحظة أية علامات مرضية.

يُعد تأخر ظهور السمية هذا عاملاً مهماً في فعالية مبيدات القوارض المضادة للتخثر، إذ تقل احتمالية ربط القوارض ابتلاع الطعام بظهور التسمم و تجنب ابتلاع كمية مميتة منها (Kaukeinen & Rampaud, 1986).

أما الأعراض المرضية في دراسة (Fisher, 2009) عند الدجاج البياض بعد التعرض للبروديفاكوم بجرعة 0.50 ملغ/كغ من البروديفاكوم وهي جرعة منخفضة شبه مميتة للدجاج والطيور الأخرى، على مدى 14 يوم فقد كانت غير واضحة، وكانت الشهية طبيعية، مع عدم وجود تغيرات كبيرة في وزن الجسم بين أي من مجموعات التحكم أو التي تناولت البروديفاكوم، ولم تلاحظ أي علامات على التسمم أثناء المراقبة اليومية.

كانت نسبة النفوق 100% في دراسة (Bailey *et al.*, 2005) لدى عشر دجاجات أُعطيت 3 ملغ/كغ بروديفاكوم 0.002% عن طريق الحقن. أثبتت الدراسات وجود آثار البروديفاكوم المتبقي في بيض الدجاج المعرض للمبيد، مما يثير أسئلة حول تأثيراته الضارة على نمو الصيصان أو قابلية البيض للفقس (Gebauer, 2007).

أما الأعراض المرضية التي أشار لها (Boermans *et al.*, 1991) نتيجة تعرض الخيول للبروديفاكوم، فكانت الخمول، والاكتئاب Depression، وفقدان الشهية وانخفاض الوزن، إضافة للنزف وتغيرات واضحة في قابلية تخثر الدم.

2-13-13- مراجعة الجوانب النسيجية:

2-13-1- الكبد Liver :

هو العضو والغدة الأكبر في الجسم، له الدور الرئيس في إزالة المواد السمية، كما أنه عضو الاستقلاب الأساس، إضافة للعديد من الوظائف كتصنيع الأملاح الصفراوية وتخزين المواد الكيميائية وتصنيع البروتينات وغيرها من الوظائف المهمة (Coles, 1986)، يُعد الكبد عضواً أساسياً للحياة ويمكن عده الجهاز المركزي لاستقرار الجسم وتوازنه والمحافظة على تزويده بالطاقة الضرورية التي يحتاجها الطائر (Whittow, 2000; Saran, 2017). يتلقى الكبد أغلب الدم قرابة 70% عن طريق الوريد البابي Portal vein، في حين يشكل الدم الوارد عبر الشريان الكبدي Hepatic artery نحو 30% (Anthony, 2010).

يتألف الكبد عند الدواجن من فصين، الأيمن منها أكبر من الفص الأيسر، و فصين صغيرين، ينقسم الأيسر منهما إلى أجزاء ظهرية وبطنية (Ibrahim et al., 2016). يفترق كبد الطيور إلى الهيكل الفصي الحقيقي لكبد الثدييات لأنه يفترق إلى الحاجز بين الفصيصات Lobules لذا لا تكون الحدود بينها واضحة ماعدا تلك المحيطة بمناطق الثلاث البابي Portal triad، تُرتب الخلايا الكبدية في صفائح وهي خليتان سمكتان في العديد من أنواع الطيور (Schmidt et al., 2003; El-Zoghby, 2005; Dyce et al., 2010).

الفصوص الكبدية خلايا ظاهرية متعددة السطوح والزوايا وحجمها أكبر مما هو عند الثدييات، تتجمع على شكل صفائح متصلة مع بعضها البعض وهي الوحدة البنوية الوظيفية للكبد (Hristov et al., 2017).

2-13-2- الكلى kidney:

تُعد الكلى عضواً أساسياً للإطراح، ويحتاجه الجسم لأداء العديد من الوظائف المهمة بما في ذلك الحفاظ على ثبات البيئة الداخلية، والتي تظهر العديد من التكيفات في الشكل والوظيفة. تقوم الكليتان بالعديد من الوظائف المهمة منها تنظيم اتزان الماء والأملاح غير العضوية، والتخلص من مخلفات الأيض الغذائي في الجسم وإطراحها عن طريق البول، وتشترك الكلى أيضاً في تنظيم ضغط الدم، وتؤدي دوراً كبيراً في إبقاء تراكيز المواد المختلفة الذائبة في الدم ثابتة ضمن تراكيز معينة، وقد اشتملت على الصوديوم، الكالسيوم، البوتاسيوم، الفوسفات والبيكربونات، ويتم ذلك بعمليات رئيسة تتمثل بالترشيح وإعادة الامتصاص والإفراز الانبوبي (Goldny et al., 2009).

تُعد الكلى من الأعضاء الرئيسة المتأثرة بالمواد السامة، وتحدث السمية الكلوية عندما لا تُزال السموم منها على نحو صحيح (Zager, 1997). إضافة إلى ذلك دور الكلية المتمثل بتخليق مجموعة من الهرمونات والإنزيمات وإفرازها، منها الهرمون المكون لكريات الدم الحمر الإريثروبويتين (EPO) Erythropoietin، وهرمون الرينين الذي يحفز تكوين الرنين-انجوتنسين Renin-angiotensin وتحرير هرمون الالدوستيرون Aldosterone من قشرة الكظر (Farquhar et al., 1999).

تمتلك الدواجن زوجاً من الكلى الكبيرة المتطاولة تتموضع على نحو متناظر ضمن انخفاض عظمي لمنطقة العجز، ويخرج منهما البول عن طريق حالبين ينتهيان في الجزء الأوسط من المجمع، ولا يوجد في الطيور مثانة بولية.

تتكون كل كلية من ثلاثة فصوص أو أقسام تتمثل: بقسم قحفي أمامي Cranial وقسم وسطي Middle وقسم ذيلي (خلفي) Caudal. يُعد الفصيص وحدة البناء الأساسية لنسيج الكلية، ويمكن مشاهدة العديد من الفصوص على السطح الخارجي لكل قسم من أقسام الكلية على هيئة مناطق غير منتظمة عديدة الأضلاع، شديدة التراص. يتكون كل فصيص من نسيج قشري وآخر نخاعي (أبي)، ولا توجد حدود فاصلة واضحة بين طبقتي القشرة واللب في كلية الطيور مثلما هو الحال في الثدييات (Bacha & Bacha, 2012; Abdul-Aziz et al., 2016).

وقد أشارت الدراسات إلى أن الوحدات الوظيفية لكلية الطيور تكون مُشابهة نسيجياً لما هو عليه الحال في اللبائن. تُظهر كلية الطيور نوعين من الوحدات الكلوية هما: النوع القشري Cortical Tape، ويتميز بفقدانه لعروة هانلي في القشرة، وهذا النوع يشابه نفرونات الزواحف، أما النوع الآخر من الوحدات الكلوية فهو النوع اللبي: Medullary Tape ويتميز هذا النوع بوجود عروة هانلي في القشرة التي تخترق المخروط اللبي أيضاً، ويشبه هذا النوع الوحدات الكلوية في اللبائن (Bacha & Bacha, 2012; Abdul-Aziz et al., 2016).

2-13-3- المكونات الخلوية لدم الطيور:

❖ خلايا الدم الحمر Erythrocytes:

هي خلايا كبيرة بيضوية مُسطحة بنواة بيضوية، تملك الخلية طرف عريض في أحد أقطاب الخلية أكثر منه في الجانب الآخر، وتختلف أبعاد الخلايا اختلافاً واسعاً ليس من طائر إلى آخر فقط ولكن في الطائر نفسه أيضاً، تتراوح أبعاد الخلايا الحمر بين 6.1×10.7 و 10.2×15.8 مايكرومتر أما الهيموغلوبين فتتكون بلون زهري أو برتقالي شاحب ولها بنية متجانسة وتتشكل النواة من شبكة منتظمة من مجموعات

الكروماتين الخشن، على العكس مما هو عليه الحال في دم الثدييات، فإنه من الطبيعي أن تجد في دم الطيور خلايا حمر غير ناضجة أو أشكال كروية لمراحل مبكرة من تطور هذه الخلايا. وتُشكل الخلايا الشبكية الشكل الأكثر شيوعاً من خلايا الدم الحمر غير الناضجة، كما أن الخلايا الشبكية في الطيور البالغة الطبيعية تكون نادرة ولا تتجاوز 5% من مجموع الخلايا الدموية، وكلما تقدمت الخلايا الحمر بالمرحلة، فإن النواة تميل لتصبح أكثر قتامة، لكن الخلايا المتصفة بتكس حقيقي ونواة تغلظية فمن النادر مشاهدتها لأن الطحال يقوم بالنقاطها واحتجازها وتفكيكها، وقد توجد في الدم الطبيعي أحياناً كريات حمر شاذة غير طبيعية ويظهر ذلك بجسم الخلية، أو في النواة، أو في كليهما. كما أن فترة حياة الكريات الحمر الطيرية أقصر من مثيلاتها في الثدييات إذ أن معدل دورة حياة خلايا الدم الحمر عند الدجاج قد يصل إلى 28-35 يوماً فقط (Sturkie & Griminger., 1986).

❖ الصفائح الدموية Thrombocytes:

خلايا كروية إلى بيضوية قليلاً (مغزلية) مع نواة بيضوية مركزية وهيولى صافية. يمكن ملاحظة حبيبة صغيرة واضحة واحدة أو أكثر عادة في أقطاب الصفائح الدموية. تتجمع الصفائح مع بعضها البعض في كتل عندما يحدث النزف وتتحطم بسرعة. تنشأ الصفائح الدموية في الثدييات من الخلايا عملاقة النواة Megakaryocytes الموجودة في الرئة ونخاع العظم ولا توجد هذه الخلايا في نخاع عظم الطيور لذلك تنشأ الصفائح الدموية في الطيور من خلايا سليفة وحيدة النواة Mono nucleated cells (Sturkie & Griminger., 1986).

❖ خلايا الدم البيض (leucocytes) White Blood Cells:

تكون خلايا الدم البيض ما يقارب 1-1.5 % من حجم الدم. تُقسم خلايا الدم البيض عند الدواجن إلى:

أ- الخلايا البيض المحببة Granulocyte Cells:

تتضمن خلايا الدم البيض المحببة الموجودة في الدم المحيطي عند الدجاج: المستغيرات والحمضات، والأسسات، وتنشأ هذه الخلايا من خلايا سليفة موجودة في نقي العظام.

أ- الكريات البيض المستغيرة Hetrophils: وهي ذات شكل دائري وقطرها تقريباً حوالي (13) مايكرومتر، وهيولى غير ملونة وتحوي حبيبات عصوية الشكل لونها أحمر أو برتقالي تغطي أجزاء من النواة، وتملك النواة عادة من 1-3 فصوص مع نموذج الكروماتين الخشن.

تمثل وظائف الخلايا المستغيرة وظائف العدلات عند الثدييات، ومع ذلك فهناك اختلافاً بينهما يكمن في محتويات الحبيبات، وهي طبيعة الاستجابة لبعض المحفزات إذ تفتقد المستغيرات مثلاً لوجود البروكسيداز

القلوي، والفوسفاتاز القلوي. فضلاً عن أن الكريات المستغيرة بخلاف العدلات فهي لا تستجيب للتحفيز بوساطة Formyl-methionyl-phenylalanine (FLMP) وهي تنتج كميات قليلة من الجذور الاوكسجينية H_2O_2 (Brooks *et al.*, 1996; Kogut *et al.*, 1998)، كما تملك مستغيرات الدجاج مقدرة القضاء على الجراثيم فهي تحتوي على الببتيدات اللازمة لذلك، إذ أن حبيبات الهيولى الكبيرة (الأولية) تحتوي على نحو رئيس إنزيمات حالة Lysozyme enzyme، والعديد من البروتينات المهبطية (Evans *et al.*, 1995) Cationic Proteins.

إن مقدرة مستغيرات الدجاج في القضاء على الجراثيم مماثلة لمقدرة عدلات الانسان والكلاب. لكن قدرتها على البلعمة وإنتاج المؤكسدات أقل. وتكون قدرة كريات المستغيرة على البلعمة والقتل غير فعالة عند الصيصان بعد الفقس مباشرة (Brooks *et al.*, 1996).

أ- ب- الكريات البيض الحمضة Eosinophils: تتميز هذه الكريات بمظهرها الدائري إلى غير المنتظم، ويقدر قطرها بحوالي (62) مايكرومتر تقريباً. نواتها مفصصة وهيولاهها زرقاء فاتحة مع حبيبات دائرية إلى بيضوية، تتميز عن الكريات المستغيرة أن حبيباتها تأخذ لوناً أكثر سطوعاً من حبيبات المستغيرات بعد صبغها، وبما أن حبيبات المستغيرات غير الناضجة تظهر بشكل دائري أيضاً فقد تلتبس مع حبيبات الكريات الحمضة، قد تشترك الحمضات في تفاعلات فرط التحسس من النمط الأجل عند الطيور، لكن أهميتها في المناعة لم تثبت حتى الآن (Maxwell, 1984).

أ- ج- الكريات البيض الأسوسة Basophils: كريات دائرية قطرها حوالي (12) مايكرومتر مع نواة مركزية لونها أزرق فاتح تغطي جزئياً بوساطة حبيبات الهيولى شديدة القاعدية، والتي يمكن أن تتحلل أو تندمج عند استخدام صبغة رايت (Katiyar *et al.*, 1992).

ب- الكريات البيض غير المحببة وتضم:

ب- أ- الوحيدات Monocyte: تُعد الوحيدات أكبر الكريات الدموية البيض حجماً عند الدجاج، قطرها حوالي (14) مايكرومتر في فيلم دموي مأخوذ من الدم المحيطي، وهي تلتبس في بعض الأحيان مع اللمفاويات الكبيرة لذلك يجب التفريق بينهما بدقة. للكريات الوحيدة خلايا دائرية مع هيولى زرقاء رمادية، تحتوي على حبيبات أليفة اللازورد، وأنويتها متعددة الأشكال من بيضوية إلى دائرية إلى مقرصة أو مسننة. تتشابه الكريات البيض الوحيدة الموجودة عند الدجاج وظيفياً مع تلك الموجودة لدى الثدييات، فهي قادرة على القيام بالنشاط المؤكسد والبلعمة والقتل، بالإضافة إلى البلعمة فالوحيدات عند الدجاج قادرة على إنتاج وسائط نيتروجينية منشطة Nitrogen intermediates reactive (Sung *et al.*, 1991).

ب-ج- اللمفاويات Lymphocytes: هي الكريات البيض السائدة في الدم المحيطي عند الدجاج، وكلا اللمفاويات الصغيرة والمتوسطة يمكن مشاهدتها في الدم. اللمفاويات الصغيرة هي خلايا مستديرة مع نواة دائرية وكروماتين متكتل، تتميز بارتفاع نسبة حجم النواة إلى الهيولى، وكمية قليلة من الهيولى القاعدية، حتى أنها قد تبدو فقط على شكل نتوء أو بروز هيولي. تملك اللمفاويات المتوسطة كمية هيولى أكبر وأكثر ألفة للصبغات القاعدية ومن الضروري تمييز الكريات اللمفاوية المتوسطة او الكبيرة عن البيض الوحيدة، فالكريات الوحيدة تمتلك هيولى الفتها للصبغات القاعدية أكثر قليلاً من اللمفاويات (Sung et al., 1991).

2-14- الدراسات التشريحية العيانية والنسجية لحالات التسمم بالبروديفاكوم لدى الحيوانات المختلفة:

أظهرت نتائج (Zowail et al., 2019) دراسة التغيرات النسيجية المرضية لبعض الأعضاء الداخلية (كبد، خصى) في ذكور فئران التجارب البيض بعد إعطاء البروديفاكوم بجرعات 0.04 و 0.02 ملغ / كغ من وزن الجسم، حدوث تغيرات نسيجية كبدية على شكل احتقان Congestion في الوريد المركزي، ونزف Hemorrhage في اشباه الجيوب الكبدية، وتكثف النوى Pyknotic nuclei، وتتكس مائي Hydropic degeneration، وانحلال نوى الخلايا Karyolysis، وارتشاح دهني Fatty infiltration، و النخر Necrosis في خلايا الكبد. لوحظت تغيرات نسيجية خصوية تنكسية Degeneration وضمور في الأنابيب المنوية المحيطية مع عدم انتظام الغشاء القاعدي، وتراجع وانعدام تكوين الحيوانات المنوية، وظهور النطاف العملاقة.

أظهرت نتائج الفحص النسيجي لعينات الكبد في دراسة (Ragab et al., 2019) توسعاً في الأوردة المركزية وامتلائها بالدم المنحل، وتكثف أنوية الخلايا الكبدية إضافة لمناطق نخر كبدي. أما نتائج دراسة (Gül et al, 2016) التي أجريت على كبد الفئران تحرياً عن التأثيرات السمية للبروديفاكوم وعند الفحص بالمجهر الإلكتروني بعد أربعة أيام من التعرض فقد أظهرت بنية غير طبيعية لنوى الخلايا الكبدية، وإنغماد الغلاف النووي وتكتل الكروماتين بالقرب من الغلاف النووي. أظهرت خلايا الكبد أعداداً متزايدة من الجسيمات الحالة Lysosomes، كما لوحظ تضخم ثم تحلل المتقدرات والجسيمات الحالة بالإضافة إلى تضخم الفراغ المحيط بالنواة وقنوات الشبكة الاندوبلازمية الخشنة، وعدم انتظام الجيوب الكبدية واحتوائها على كريات دم حمر منحلة وخلايا كوبفر Kupffer cells، وتسبب التعرض للبروديفاكوم لمدة سبعة أيام في تكوين العديد من الفجوات والقطرات الدهنية، وتخرب المتقدرات.

أشار (Ware et al., 2015) في دراسة عن المؤشرات الحيوية للتسمم بالبروديفاكوم عند الجرذان إلى أن البروديفاكوم يحفز بيلة خضابية مبكرة وبيلة دموية في وقت متأخر من التسمم، أما التقييم النسيجي لتغيرات الكلى فقد أظهر وجود نخر أنبوبي حاد وتكس في ظهارة النبيبات الملتقة الدانية، وانسداد نبيبي كلوي بفعل كتل من خلايا الدم الحمر.

أظهرت دراسة أخرى لحالة نفوق إثر تسمم حاد لكلبة بعمر 5 سنوات، نزيفاً في تجويف الصدر والصفاق، بالإضافة لورم دموي Hematoma كبير تحت المحفظة الكلوية (Radi & Thompson, 2004)، أما تطبيق مبيدات القوارض المضادة للتخثر على جلد فئران المختبر، فقد أظهر بأن لها تأثيرات سمية كبدية وكلوية (Kataranovski et al., 2003).

وأشير من قبل (Rattner et al., 2020) إثر سلسلة من الدراسات على طيور العوسق الأمريكية، بعد تغذيتها على البروديفاكوم لمدة 7 أيام لظهور نزيف دموي ازدادت شدته بازدياد الجرعة. أظهرت نتائج التقييم المرضي للأنسجة نزيفاً مختلف الشدة وآفات نسيجية في جميع المجموعات التي تناولت الجرعات، تم العثور على نزيف خفيف ومعتدل ونزيف حاد في القلب والكلى، مع وجود منطقة من النزيف الحاد في العضلة الصدرية لطائر في المجموعة التي تلقت أعلى جرعة، ولم يلاحظ أي نزيف في الكبد أو الأمعاء في أي طائر من هذه المجموعة. تضمنت النتائج المجهرية الأخرى، تصلب الشرياني Arteriosclerosis الأبهر والتاجي، وتكون الدم خارج النخاع Extramedullary hematopoiesis، والتهاب التامور Pericarditis الخفيف، والتهاب الكلية الخلالي اللمفاوي Lymphatic interstitial nephritis البسيط، وتنكس أنبوبي كلوي بسيط.

وفي دراسة أجراها (Lambert et al., 2007) على عدد من الطيور البرية والمائية، تبين بعد تشريح الحيوانات النافقة عدم ملاحظة أية تغيرات تشريحية عيانية واضحة، وأثبتت نتائج فحص عينات الكبد وجود تراكيز من مبيدات القوارض المضادة للتخثر كان أحدها البروديفاكوم.

بينت نتائج دراسة (Kalinin et al., 2017) لتمييز التأثيرات العصبية للبروديفاكوم في ذكور الجرذان البالغة، تراكم البروديفاكوم في جميع أنحاء الجسم بعد قياس مستوياته في الأنسجة، بما في ذلك الجهاز العصبي المركزي، كما لوحظت التأثيرات السامة المباشرة للبروديفاكوم على الخلايا العصبية والدبقية، وأظهرت نتائج هذه الدراسة أيضاً أن تراكم مضادات التخثر من الجيل الثاني يزيد من مؤشرات الالتهاب العصبي وتلف الخلايا العصبية؛ مما يشير إلى أن الطرائق التي تُقلل من سمية البروديفاكوم المستخدمة في علاج حالات التسمم قد لا تعالج التغيرات الحاصلة في النسيج العصبي.

كما أشار (Zawadzki *et al.*, 2007) إلى حالة تسمم لكلب، كشفت فيها نتائج الاختبارات السمية عن وجود ثملات البروديلاكوم في دمه. وقد عانى من إقياء دموي شديد وإسهال دموي مستمر، كما تبين بالتظير المعدي وجود التهاب معدة نفي Hemorrhagic gastritis، وتراكم كمية كبيرة من الدماء في تجويف القناة الهضمية، وقد نفق الحيوان أثناء نوبة تشنجية لم تستجب للمعالجة بالديازيبام، وأظهر تشريح الجثة نزفاً دمويًا في الأغشية المخاطية، وتجمع سوائل دموية في التجويف البريتوني والجنبى والتامورى، وامتلاء تجويف المعدة والأمعاء بالكثير من الدم المتخثر. كشف الفحص النسيجي عن احتقان شديد في الأعضاء الداخلية، واحتقان الأوعية الدموية في الرئتين وعضلة القلب ونزيف ونخر كبدي، بالإضافة لتلف كبدي سمي حاد.

أظهرت نتائج (Dpaukas *et al.*, 2005) بعد تشريح الفئران والجرذان البيض المجرعة بالبروديلاكوم عن طريق الفم، نزوفاً في الأعضاء الداخلية والأغشية المخاطية والعضلات، وتجمعات دموية في تجويف البطن؛ لزيادة نفوذية الأوعية الدموية.

كما أكدت مجموعة من الدراسات على أن مضادات التخثر تحدث النزف الداخلي في تجاويف الجسم مما يسبب تدمي الصدر Hemothorax، والنزيف خلف الصفاق (Declementi & Sobczak, 2012; Haines, 2008)، انصباب التامور (Petrus & Henik, 1999)، موه الكلية الثانوي وجلطات في المثانة البولية (Hansen & Becks, 2003)، انسداد القصبة الهوائية (Blocker & Roberts, 1999) ونزيف تحت مخاطية المعدة (Marks & Gieger, 2001).

2-15- الدراسات الفيزيولوجية الدموية:

أظهرت نتائج الدراسة الدموية (Ware *et al.*, 2015) عند التسمم بالبروديلاكوم للجرذان بعد إعطاء 0.4 ملغ / كغ من العقار، انخفاضاً كبيراً في قيم مكدا س الدم (PCV) Hematocrit في نصف ساعة. كما أشارت نتائج (Schulman & Furie, 2015; Lee *et al.*, 2014) إلى أن التسمم بالبروديلاكوم عادة ما يؤدي إلى إرتفاع زمن البروثرومبين وزمن الثرومبوبلاستين الجزئي النشط.

كما وجد (Boermans *et al.*, 1991) في نتائج الفحوص المخبرية لدى ستة خيول تعرضت للبروديلاكوم التجاري بشكل طعم (تالون) يحوي على البروديلاكوم بجرعة 0.125 ملغ من BDF / كغ من وزن الجسم، زيادة في أوقات التخثر بعد 24 ساعة في كل من زمن الثرومبوبلاستين الجزئي (PTT) Partial thromboplastin time وزمن البروثرومبين الأحادي (PT) Prothrombin time

بعد 48 ساعة. كما أظهرت نتائج التحليل الدموي في الأيام الأولى من التسمم عدم وجود تأثير معنوي في تعداد الكريات البيض والحمز، ومكداس الدم، والهيموغلوبين. هذه النتائج تؤكد أن التعرض والنزف الحاصل كان حديثاً ومن المحتمل أن يكون مستمراً إذ أدى في الأيام التالية الى انخفاض في المعايير الدموية تمثلت على نحو ارتفاع متوسط في قيم PTT، PT في الفترة من اليوم الرابع إلى اليوم الثامن. ظلت أوقات تخثر الثرومبين دون تغيير في اثنين من الخيول ولم تحدث إطالة في وقت التخثر حتى اليوم الثالث والعشرون، وانخفض تركيز الهيموغلوبين وعدد كريات الدم الحمر من اليوم السادس حتى اليوم الرابع عشر، وانخفض عدد الصفائح الدموية في اليوم السادس حتى اليوم التاسع، بالإضافة لانخفاض متوسط مكداس الدم الذي استمر من اليوم الثامن حتى اليوم الرابع عشر.

أظهرت نتائج فحص حالة تسمم عرضي لدى كلب ناتجة عن تعرضه لمبيد القوارض المضاد للتخثر (Lanirat 0.005) قلة عدد الكريات الحمر، ارتفاع عدد الكريات البيض والعدلات وإطالة زمن التخثر (Binev et al., 2005)، كما أظهرت نتائج (Woody et al., 1992) لدراسة تأثير تخثر الدم عند التسمم بالبروديافاكوم لدى الكلاب زيادة في زمن الثرومبوبلاستين ووقت التخثر النشط، وأشار (Robben et al., 1997) إلى ضرورة التحليل الدموي للتشخيص الدقيق للتسمم بمضادات التخثر، إذ يظهر فقر دم، نقص تنسج، انخفاض قيم مكداس الدم، زيادة عدد خلايا الدم البيض مع زيادة في العدلات وقلة الصفائح.

أشارت نتائج (Bailey et al., 2005) في الدجاج المعرض للبروديافاكوم، إلى ارتفاع في وقت التخثر ووقت البروثرومبين، وأظهرت نتائج (Rattner et al., 2020) في دراسة على طيور العوسق الأمريكية بعد تعرضها للبروديافاكوم إطالة في زمن التخثر ليعود إلى القيم الأساسية في غضون أسبوع، كما بينت تقارير (Kuhn & Hendrix, 2013) بالنسبة لحالة تسمم عرضي بالبروديافاكوم لدى الكلاب، حدوث إطالة في زمن الثرومبوبلاستين الجزئي وزمن البروثرومبين، في حين كان تعداد كريات الدم والصفائح وقيم مكداس الدم في مستوى الحدود الطبيعية.

ينبغي أن يؤخذ بالاعتبار أن النتيجة السلبية لاختبارات الدم السمية لا تحكم على التسمم بهذه المركبات، فهي تخترق خلايا الكبد بسرعة وتسبب تغيرات كيميائية مرضية مديدة لعدة أشهر بعد التسمم (Thomas et al., 2011; Lambert et al., 2007).

لدى قياس (Murphy et al., 1985) لأثار تجلط الدم في مصل دم الكلاب كشفت النتائج عن وجود البروديفاكوم بتركيز منخفضة، إذ أن هذه الاختبارات مهمة للتأكد من حالات التسمم المشبوهة التي تدل على تدخل مضادات التخثر.

وأظهرت نتائج (Bagardi et al., 2022; Park et al., 2011) لتعداد الدم الكامل Complete blood count (CBC) في حالات التسمم بمبيدات القوارض مضادات التخثر من الجيل الثاني لدى الكلاب، انخفاضاً في تعداد كريات الدم الحمر وارتفاعاً بسيطاً في تعداد الكريات البيض والعدلات مع وجود فقر الدم متجدد معتدل مع قلة الصفيحات المعتدلة.

وكشف تعداد الدم الكامل لدى كلبين متسممين بمبيدات القوارض هذه عن كثرة خفيفة الى متوسطة للكريات البيض، كثرة العدلات غير الناضجة، زحان يساري تجديدي Shift to Left ، كثرة اللمفاويات والأسسات بصورة خفيفة، قلة الصفيحات بصورة شديدة، فقر دم سوي الصباغ Normochromic anemia شديد (Declementi & Sobczak, 2012).

أظهرت نتائج الفحوصات الدموية لمجموعة من الدراسات (James et al., 1998; Robben et al., 1998; Kohn et al., 2003) فقر دم ناقص الصباغ، انخفاض قيم مكداس الدم ، زيادة عدد الكريات البيض، قلة الصفيحات.

كما بينت نتائج (El Gendy et al., 1996) في دراسة تأثير البروديفاكوم والديفيناكوم على نمط الدم في الجرذان البيض انخفاضاً كبيراً في تعداد خلايا الدم الحمر ومحتوى الهيموغلوبين وقيم PCV. في المقابل، حدثت زيادة في عدد خلايا الدم البيض WBC وزمن البروثرومبين PT وزمن الثرومبوبلاستين الجزئي PPT.

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Material and Methods

3- مواد وطرائق العمل Materials and method:

3-1- حيوانات التجربة: أُجريت التجربة على (48) طائراً من دجاج اللحم (سلالة الرووس Ross)، بعمر أسبوعين خالية ظاهرياً من الأمراض، وذلك في الفترة الممتدة من 1/ الى 16/ 2022/10/ إذ استمرت التجربة لمدة (9) أيام، تم الحصول على الصيصان بعمر (7) أيام، ثم خضعت الطيور للمراقبة لمدة أسبوع كفترة تمهيدية ضمن ظروف التربية الحقلية.



الشكل رقم (4): يوضح الحالة الصحية الجيدة للصيصان بعمر أسبوع

3-2- المادة المستخدمة في التجربة:

مبيد القوارض بروديفاكوم 0.005% بشكل محبب.



الشكل رقم (5): مبيد القوارض بروديفاكوم 0.005% المستخدم في التجربة

3-3- تصميم التجربة:

وُزعت طيور التجربة عشوائياً الى أربع مجموعات، ضمت كل مجموعة (12) طائراً، أُعطيَت المجموعات باستثناء مجموعة الشاهد جرعة واحدة ولمرة واحدة من البروديفاكوم 0.005%، إذ حُدِدت الجرعة المعطاة اعتماداً على الجرعة القاتلة للنصف (LD50) عند الدجاج وهي 4.5 ملغ من البروديفاكوم /كغ وزن حي (Worthing, 1991). أُعطيَت الجرعات كما هو موضح في الجدول التالي رقم (2):

الجدول رقم (2): يوضح تقسيم مجموعات التجربة والجرعات المستخدمة في كل منها

المجموعة	الجرعة
الأولى (الشاهد)	لم تُعطَ شيئاً
الثانية	أُعطيَت 2.25 ملغ من البروديفاكوم /كغ وزن حي
الثالثة	أُعطيَت 4.5 ملغ من البروديفاكوم /كغ وزن حي
الرابعة	أُعطيَت 9 ملغ من البروديفاكوم /كغ وزن حي

وقد أُعطيَت المادة عن طريق الفم، إذ قُدمت الجرعات المحددة لكل مجموعة صباحاً بعد فترة صيام لمدة 8 ساعات؛ وذلك لضمان تناول الطيور الجرعة كاملة، ومن ثم قُدم لها العلف اليومي بعد انتهاء الطيور الكمية المحددة من البروديفاكوم لكل مجموعة.

3-4- حساب الجرعة:

وُزنت الطيور بعمر (14) يوم وحُسب متوسط الأوزان من أجل حساب الجرعة الواجب إعطاؤها لكل مجموعة على حدة، كان متوسط وزن الطيور (285) غ، تم حساب الجرعة لكل مجموعة على النحو الآتي:

المجموعة الثانية: تُعطى 2.25 ملغ من البروديفاكوم /كغ وزن حي.

لذا كل 1000 غ من وزن الطائر تحتاج 2.25 ملغ من البروديفاكوم

وكل 285 غ تحتاج (س) ملغ من البروديفاكوم

س = 0.64 ملغ بروديفاكوم مادة فعالة / طائر

ولحساب الكمية اللازمة من بروديفاكوم 0.005% /طائر:

كل 1000 غ من بروديفاكوم 0.005% تحوي 50 ملغ بروديفاكوم مادة فعالة

لذا نحتاج (س) من بروديفاكوم 0.005% لنحصل على 0.64 ملغ بروديفاكوم مادة فعالة
 $س = 12.8 \text{ غ بروديفاكوم } 0.005\% / \text{ طير}$ ، لذا تحتاج طيور المجموعة الثانية $12.8 * 12 = 153.6$ غ
 بروديفاكوم 0.005%).

وبنفس الطريقة تم احتساب الجرعة للمجموعتين الثالثة والرابعة كما هو مبين في الجدول رقم (3).

الجدول رقم (3): يوضح حساب جرعات البروديفاكوم الواجب إعطاؤها لكل طائر من طيور مجموعات التجربة

المجموعة	الجرعة (ملغ) بروديفاكوم / كغ وزن (حي)	الجرعة (ملغ) بروديفاكوم / طائر (بروديفاكوم / طائر)	الجرعة (غ) بروديفاكوم 0.005% / (مجموعة)	الجرعة (غ) بروديفاكوم 0.005% / طائر
الأولى (الشاهد)	—	—	—	—
الثانية	2.25	0.64	153.6	12.8
الثالثة	4.5	1.28	307.2	25.6
الرابعة	9	2.56	614.4	51.2



الشكل رقم (7): يوضح عملية وزن
البروديفاكوم



الشكل رقم (6): يوضح عملية وزن
الصيصان

3-5- دراسة الأعراض المرضية المشاهدة على طيور التجربة:

وُضِعَت الطيور تحت المراقبة طيلة فترة التجربة وسُجِلَت الأعراض المرضية الظاهرة عليها ونسبة النفوق الحاصل بعد تناول الجرعات المختلفة من البروديفاكوم.

3-6- دراسة التغيرات التشريحية المرضية العيانية والنسجية في الكبد والكلى:

دُبِحَت أربعة طيور من كل مجموعة بعد 24 ساعة وفي اليوم الخامس، واليوم التاسع من إعطاء البروديفاكوم (بعد سحب عينات الدم)، أُجريت الصفة التشريحية للطيور المذبوحة والطيور النافقة مباشرةً، وسُجِلَت التغيرات التشريحية الظاهرة على الكبد والكلى، ثم أُخِذَت العينات من أنسجة الكبد والكلى وثُبَّتَت في الفورمالين المتعادل (10%)؛ بهدف الفحص النسيجي ودراسة التغيرات النسيجية.



الشكل رقم (8): يوضح عملية تشريح طيور التجربة وجمع العينات

3-7- جمع عينات الدم:

أُخْتِيرَت عينة عشوائية مؤلفة من أربعة طيور من كل مجموعة وُجِّمَت العينات الدموية منها بعد 24 ساعة وفي اليوم الخامس، واليوم التاسع من إعطاء البروديفاكوم، وسُحِبَت من الوريد الجناحي Wing Vein بواسطة محقن قياس (3) مل بعد تعقيم مكان السحب بالكحول وإزالة الريش المعيق لعملية السحب، ثم جُمِعَ الدم في أنابيب حاوية على مانع تخثر سترات الصوديوم 3.8%.

3-7-1- تعيين زمن تخثر الدم (CT) Assignment of Clotting Time (CT):

قيس زمن تخثر الدم مباشرة بعد سحب الدم من الوريد الجناحي للطائر، ووضعت نقطة من الدم على شريحة زجاجية والبدء بحساب الزمن منذ لحظة وضع النقطة على الشريحة، ثم حُركت نقطة الدم بوساطة رأس الواخزة كل (30 ثانية) حتى بدء تشكل خيط الفبرين؛ وذلك دليلاً على تخثر الدم.



الشكل رقم (10): يوضح عملية تعيين زمن التخثر على الشريحة



الشكل رقم (9): يوضح عملية سحب الدم من وريد الجناح

3-7-2- التعداد الكلي لخلايا الدم الحمر (TRBCs) Total Red Blood Cells Count:

أُجري عد خلايا الدم الحمر باستعمال ماصة خاصة لهذا الغرض إذ يُسحب الدم الى العلامة 0.5 ثم يكمل الحجم الى العلامة 11 باستعمال محلول التخفيف Natt & Herrick إذ يتخفف الدم 200 مرة حسب طريقة (Natt & Herrick, 1952) بعدها تُرَج الماصة قليلاً وتسكب القطرات الأولى من الماصة ثم يوضع قطرة من مزيج الدم والمحلول على الشريحة الزجاجية المدرجة Hemocytometer تحت الغطاء الزجاجي وحساب عدد الخلايا في خمس مربعات، يحتوي كل مربع على 16 مربع بداخله لذا تُعد خلايا الدم الحمر في المربعات الأربعة الطرفية والمربع الوسطي بوساطة مجهر ضوئي ويمكن مشاهدة خلايا الدم الحمر بأنها ذات هيولى شفافة ونواة ذات لون أرجواني، من ثم حساب العدد الكلي بتطبيق المعادلة الآتية :

عدد خلايا الدم الحمر في 1 ملم³ من الدم = مجموع عدد خلايا الدم الحمر المحسوبة في 5 مربعات كبيرة $10000 \times$

والرقم 10000 ناتج عن المعادلة: $N/S \times 25 \times 200 \times 10$

إذ أن:

N = مجموع عدد خلايا الدم الحمر المحسوبة في 5 مربعات كبيرة (80 مربع صغير).

S = عدد المربعات الكبيرة التي تم العد بداخلها.

25 = العد الكلي للمربعات الكبيرة.

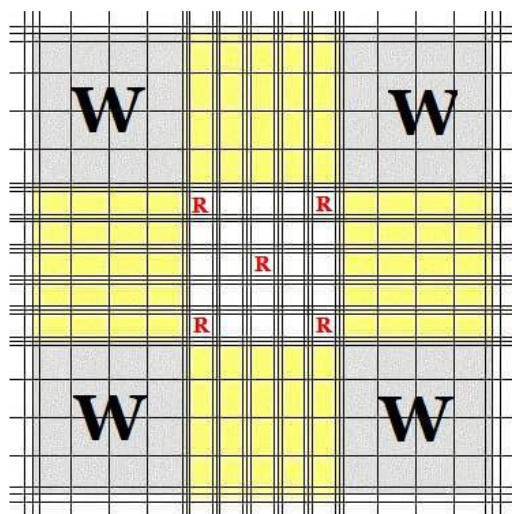
200 = عدد مرات تخفيف الدم.

10 = يضرب العدد الناتج بهذا الرقم ليمثل عدد خلايا الدم الحمر في 1 ملم³ من الدم إذ أن المساحة

الكلية للمربع الخاص بعد خلايا الدم الحمر = 1 ملم² $\times 0.1$ ملم (ارتفاع المحلول فوق المربع) = 1 ملم³

وهذا يمثل حجم الدم الذي تم عد خلايا الدم الحمر له لذلك يضرب الناتج $\times 10$ ليمثل عدد خلايا الدم

الحمر في 1 ملم³.



الشكل رقم (11): رسم تخطيطي لعدادة نيوباور المحسنة يوضح أماكن عد خلايا الدم الحمر (R) وأماكن عد خلايا الدم البيض (W)

3-7-3- التعداد الكلي لخلايا الدم البيض (TWBCs):

أُجري باستخدام طريقة (Natt & Herrick, 1952) اليدوية المباشرة وذلك بسبب وجود النواة في خلايا الدم الحمر وفي الصفائح الدموية والتي تتداخل مع عدد خلايا الدم البيض إذا ما تم العد الالكتروني للخلايا. يُستخدم فيها ماصة خاصة لهذا الغرض يُسحب الدم الى العلامة 0.5 ثم يكمل الحجم الى

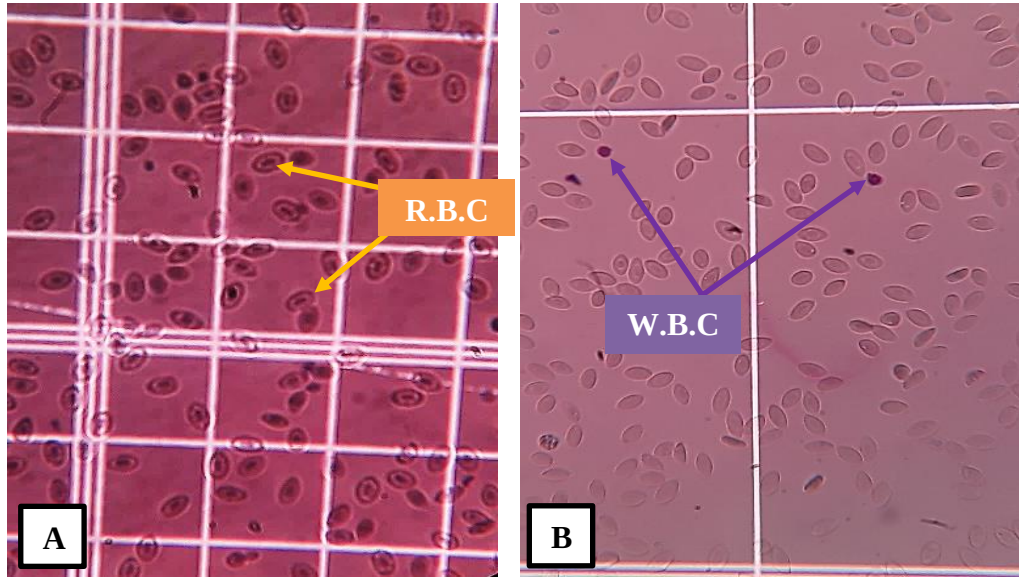
العلامة 11 باستخدام محلول التخفيف Natt & Herrick وبهذا يخفف الدم 20 مرة، في حين توجد مربعات خاصة لعد خلايا الدم البيض على الشريحة الزجاجية، وكل واحدة منها تحوي على 16 مربع أصغر تُعد خلايا الدم البيض في جميع المربعات الأربعة الطرفية مع ملاحظة أن خلايا الدم البيض تصطبغ باللون الأزرق الغامق ويمكن أن تكون حبيبية الشكل، ولحساب العدد الكلي تُطبق المعادلة الآتية:

عدد خلايا الدم البيض في 1 ملم³ دم = مجموع عدد خلايا الدم البيض المحسوبة في 4 مربعات كبيرة
50 ×

والرقم 50 ناتج عن: عدد خلايا الدم البيض في 1 ملم³ دم = $10 \times 20 \times 4 / N$
إذ أن:

N: العدد الكلي لخلايا الدم البيض المحسوبة في الأربعة مربعات.
20: عدد مرات التخفيف.

10: يستعمل للحصول على العدد الكلي في 1 ملم³ دم إذ أن حجم الدم في كل مربع من المربعات الأربعة الخاصة بعد الخلايا الدم البيض هو 0.1 ملم³.



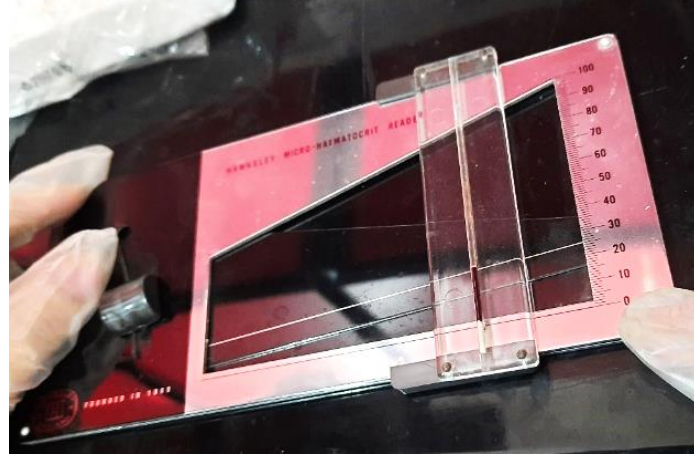
الشكل رقم (12): (A) يوضح كيفية تصبغ خلايا الدم الحمر وتوزعها ضمن شبكة العد،
(B) يوضح كيفية تصبغ خلايا الدم البيض باللون الغامق وتوزعها ضمن أحد المربعات الطرفية
لشبكة العد

3-7-4- التعداد التفريقي لخلايا الدم البيض White blood cell differential Count:

أُجري العد التفريقي لخلايا الدم البيض يدوياً عن طريق وضع قطرة من زيت الأرز على شريحة الدم المصبوغة، ثم توضع تحت المجهر وتفحص بالعدسة الزيتية الغاطسة ($\times 1000$) وتُحرك الشريحة على نحو طولاني أو بطريقة الزكزاك (Benjamin, 1978). تم عد 100 خلية وحُسبت النسبة المئوية لكل نوع من أنواع خلايا الدم البيض.

3-7-5- مكداس الدم Hematocrit (PCV):

أُجري قياس مكداس الدم باستخدام أنابيب شعرية دقيقة Microhematocrit غير حاوية على الهيبارين؛ (الدم مجموع على مانع تخثر سترات الصوديوم 3.8%)، مُلئ حوالي ثلثي الأنبوب بالدم وأُغلقت إحدى أطرافه باستعمال معجون خاص ووُضع الأنبوب الشعري في جهاز الطرد المركزي Micro-Centrifuge Hematocrit المعد لهذا الغرض بسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق، بعدها تمت القراءة بواسطة المسطرة الخاصة بالجهاز مسطرة هاكسلي Hawksley Hematocrit Reader. وتُمثل حجم خلايا الدم المرصوصة نسبة الحجم الكلي الذي تشغله خلايا الدم الحمر من حجم الدم الكلي (Jain, 1986).



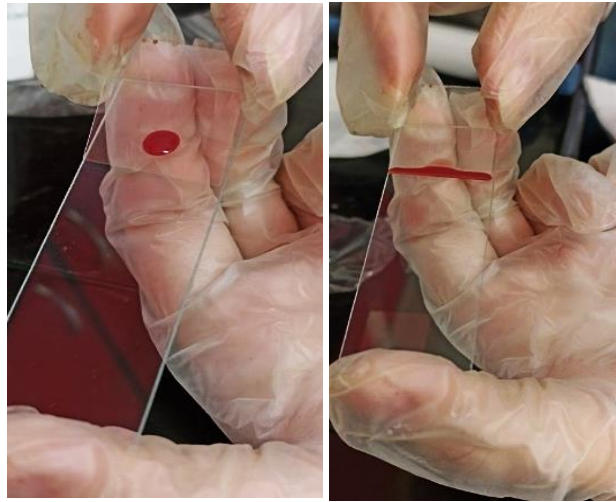
الشكل رقم (13): يوضح عملية قراءة قيم مكداس الدم بواسطة مسطرة هاكسلي

3-7-6- عد الصفائح الدموية (PLT): Platelet count

أُجري العد الكلي للصفائح الدموية من الصورة الدموية في الفيلم الدموي وذلك بالحصول على العدد المتوسط للصفائح الناتج عن عد خمس ساحات تحت العدسة الغاطسة، وهذا يمثل عدد الصفائح لكل 100 خلية حمراء وهي تعطي العدد التقريبي في العديد من أنواع الطيور، الرقم الناتج لعد الصفائح الدموية من بين 1000 خلية حمراء تم ضربه بالعدد الكلي للخلايا الحمر ومن ثم القسمة على 1000 لنحصل بذلك على عدد الصفائح في الميكرو ليدر دم.

❖ تحضير الفيلم الدموي:

حُضر فيلم دموي رقيق مباشرة من كل عينة دموية وصُبغ بصبغة جيمزا بهدف عد الصفائح الدموية والعد التفريقي لخلايا الدم البيض، وذلك باستعمال شريحة توضع نقطة الدم عليها وساترة لفرد ونشر الدم على الشريحة؛ إذ توضع حافة الساترة على سطح الشريحة أمام نقطة الدم بزاوية حادة، ثم تسحب الساترة الى الخلف حتى تلامس نقطة الدم؛ إذ يُنشر الدم على طول خط تلامسه مع الشريحة الزجاجية، ثم تُدفع الساترة للطرف الاخر من الشريحة برفق وبسرعة ثابتة، ثم تترك الشرائح لتجف في الهواء بدرجة حرارة الغرفة. ثم تثبت الشرائح بعد أن تجف بتغطيسها في كأس مملوء بالكحول الميثيلي وتترك لمدة 5 دقائق ثم ترفع الشرائح وتوضع على ورق نشاف. تُصبغ الشرائح الدموية باستخدام صبغة جيمزا (5 مل من الصبغة المركزة تكمل الى 50 مل من الماء المقطر) ثم تغمس الشرائح على نحو كامل وتترك لمدة 15 دقيقة، تغسل الشرائح وتترك في الهواء لتجف.



الشكل رقم (14): يوضح كيفية فرد قطرة الدم على الشريحة الزجاجية للحصول على فيلم دموي

3-8- الفحص النسيجي Histological Examination:

خُضِرَت المقاطع النسيجية حسب طريقة (Mondal, 2017) بالغسل والإدماج بالبارافين، وعُمِلَت شرائح نسيجية بسماكة (3-5) ميكرون من عينات الكبد، والكلَى باستخدام جهاز Mikrotom، ثُمَّ لُوْنَت بِصِبْغَةِ الهيماتوكسَلين والأَيُوزِين وفُحِصَت الشرائح النسيجية المُخَصَّرة باستعمال المجهر الضوئي العادي، وأُلْتَقِطَت الصور بكاميرة (Nikon D3000).



الشكل رقم (15): الشرائح النسيجية
المصبوغة بـ H & E

3-9- التحليل الإحصائي Statistical analysis:

باستخدام برنامج التحليل الإحصائي (IBM SPSS STATISTICS) بالإصدار 24 عن طريق اختبار تحليل التباين أحادي الاتجاه (One-Way-ANOVA)، إذ تم مقارنة المتوسطات الحسابية للمتغيرات المدروسة ما بين مجموعات التجربة فيما بينها، وتم مقارنة المتوسطات الحسابية للمتغيرات المدروسة ما بين الأزمنة المدروسة فيما بينها عن طريق اختبار تحليل التباين أحادي الاتجاه (One-Way-ANOVA)، إذ اعتُبرت الفروقات معنوية وذلك عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P \leq 0.05$).

الفصل الرَّابِع

النَّتَائِج

Results

4- النتائج Results :

4-1- الأعراض المرضية الظاهرة على الطيور (قبل الذبح):

لوحظ على طيور مجموعات التجربة بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم خمول Lethargy (الشكل رقم 16)، انخفاض في الشهية Anorexia، و لوحظت اضطرابات عصبية Neurotica تجلت بعدم القدرة على الوقوف والاستلقاء مع ارتعاشات عضلية (الشكل رقم 17) وذلك قبل النفوق، ونفق طائر واحد من المجموعة الرابعة فقط.

استمرت الأعراض نفسها حتى اليوم الرابع من إعطاء البروديفاكوم، لوحظ إضافة للأعراض السابقة نزف في العين Opthalmorrhagia ، ونزف من الأذن Otemorrhage، ونزوفات تحت الجلد لاسيما في المنطقة تحت جلد الجناح والرقبة والصدر (الشكل رقم 18)، نفق اثنان من الطيور في اليوم الرابع (طائر من المجموعة الثانية، وطائر من المجموعة الثالثة) (الشكل رقم 19).

بلغت الأعراض الإكلينيكية السابقة ذروتها في اليوم الخامس بعد الإعطاء لدى جميع طيور مجموعات التجربة، وحدث نفوق اثنان من الطيور (طائر من المجموعة الثالثة، وطائر من المجموعة الرابعة). استمرت الأعراض الإكلينيكية نفسها لدى طيور مجموعات التجربة منذ اليوم الخامس وحتى اليوم الأخير من التجربة (اليوم التاسع بعد إعطاء البروديفاكوم) دون حدوث نفوق، بدت الأعراض أشد لدى المجموعة الرابعة التي تناولت أعلى جرعة (9 ملغ من البروديفاكوم / كغ) مقارنة بالمجموعة الثالثة إذ كانت الأعراض متوسطة الشدة لدى طيورها، أما المجموعة الثانية التي تناولت أقل جرعة (2.25 ملغ من البروديفاكوم / كغ) فقد كانت أقل شدة من حيث الأعراض مقارنة بالمجموعة الثالثة والرابعة.



الشكل رقم (17): يوضح الاضطرابات العصبية لدى أحد طيور المجموعة الرابعة



الشكل رقم (16): يوضح خمول أحد طيور المجموعات بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم



الشكل رقم (19): يوضح نفوق أحد طيور التجربة في اليوم الرابع من إعطاء البروديلاكوم



الشكل رقم (18): يوضح الترف في العين، والأذن، وتحت الجناح لدى أحد طيور المجموعة الرابعة

4-2- التغيرات التشريحية المرضية العيانية:

أُجريت الصفة التشريحية للحيوانات النافقة مباشرة، وكذلك للحيوانات المذبوحة بعد 24 ساعة وفي كل من اليومين الخامس والتاسع بعد إعطاء البروديلاكوم، ودُنّت التغيرات المرضية العيانية المشاهدة عليها وعلى أعضاء الجسم عامة صثوالأعضاء المستهدفة في الدراسة (كبد، كلى).

4-2-1- التغيرات التشريحية المرضية العيانية في الكبد:

المجموعة الأولى (الشاهد): لم تُلاحظ أي تغيرات مرضية عيانية لدى جميع طيور مجموعة الشاهد طيلة فترة التجربة، إذ بدى الكبد بمظهر طبيعي من حيث اللون البني والقوام المتجانس والحواف الحادة (الشكل رقم 20).

➤ بعد 24 ساعة من إعطاء البروديلاكوم:

المجموعة الثانية: لُوحظ تغير لوني بسيط في الكبد على شكل مناطق حمراء اللون داكنة وأخرى شاحبة في أطراف الكبد كما هو موضح في الشكل (رقم 21).

أما المجموعة الثالثة: فقد كان التغير اللوني أكثر شدة مقارنة بالمجموعة الثانية.

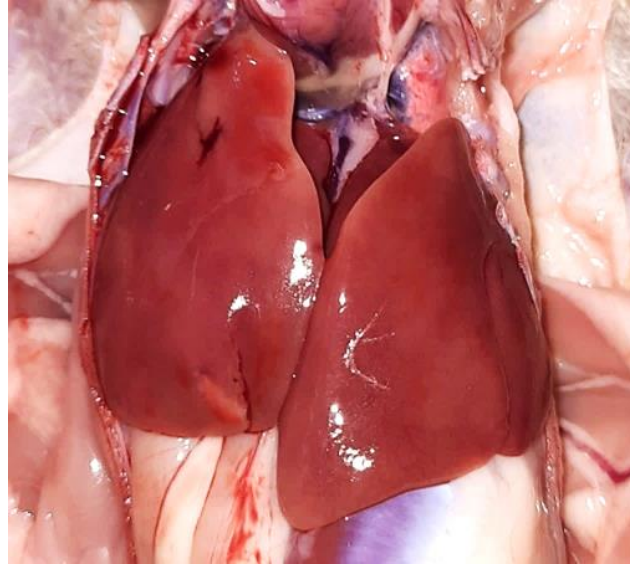
شوهدت التغيرات الأشد والأكثر وضوحاً لدى أكباد طيور المجموعة الرابعة التي تناولت أعلى جرعة من البروديلاكوم والتي ظهرت على شكل تضخم في الكبد إضافة لمناطق احتقان Congestion بلون أحمر داكن وأخرى شاحبة شملت مساحات أوسع كما هو موضح في الشكل (رقم 22).

➤ في اليوم الخامس بعد إعطاء البروديفاكوم:

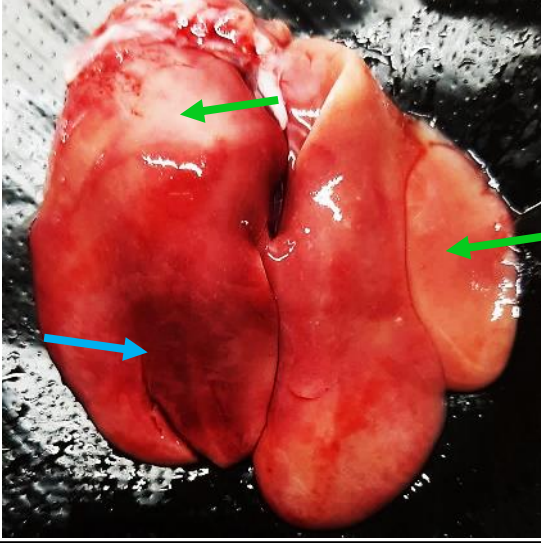
ازدادت شدة التغيرات السابقة لدى جميع المجموعات التي أُعطيت البروديفاكوم، ولوحظ تضخم بدرجات متفاوتة إضافة لفقدان الحواف الحادة للكبد، بدت هذه التغيرات أشد وأكثر وضوحاً لدى طيور المجموعة الرابعة (الشكل رقم 23 و24).

➤ في اليوم التاسع بعد إعطاء البروديفاكوم:

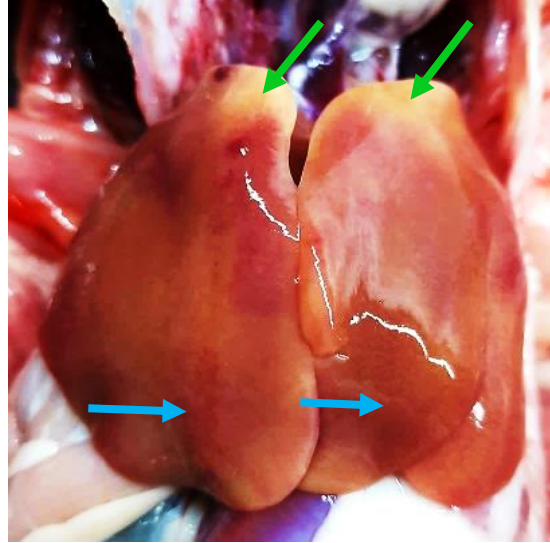
لوحظت تغيرات مرضية عيانية شديدة بدت على شكل اصفرار في الكبد ونزف تحت محفظته لدى المجموعة الثانية، إضافة لقوام الكبد الهش سهل التففت في المجموعتين الثالثة والرابعة (الشكل رقم 25 و26).



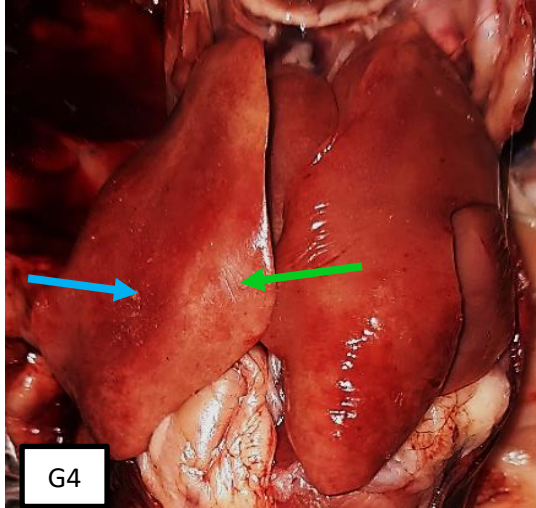
الشكل رقم (20): يوضح المظهر الطبيعي في كبد طيور المجموعة الأولى (الشاهد)



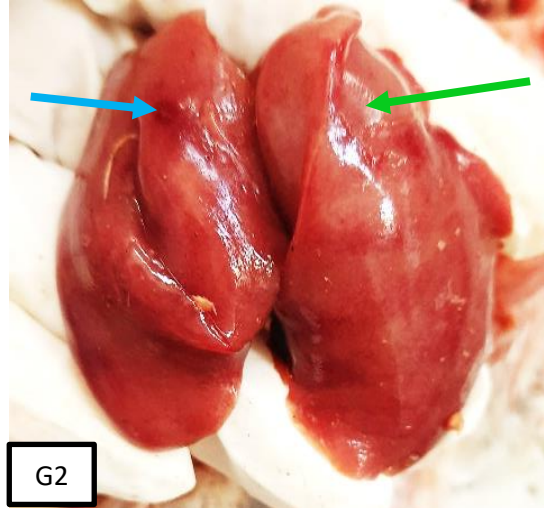
الشكل رقم (22): التفوهات المرضية العيانية في أكباد طيور المجموعة الاربعة بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم، تلاحظ على شكل تضخم في الكبد، مناطق احتقان بلون أحمر داكن (سهم أزرق). ومناطق شاحبة (سهم أخضر) شملت مساحات أوسع



الشكل رقم (21): التفوهات المرضية العيانية في كبد طيور المجموعة الثانية بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم، تلاحظ على شكل تغوات لونية بلون أحمر داكن (سهم أزرق)، وأخوى شاحبة اللون في أطراف الكبد (سهم أخضر)

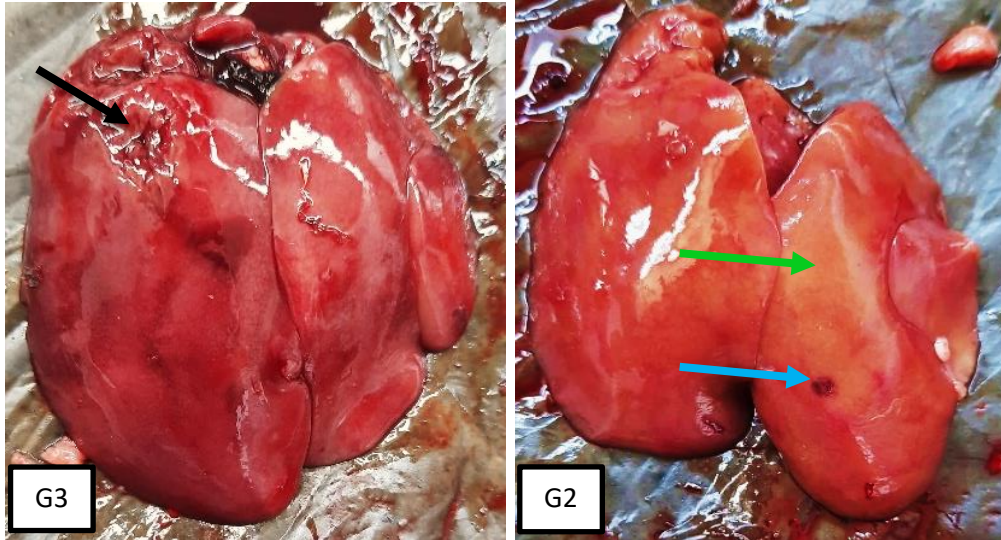


G4



G2

الشكل رقم (23 و 24): التفوهات المرضية العيانية لكبد طيور مجموعات التجربة الثانية G2 والاربعة G4 في اليوم الخامس من التجربة، يوضح تضخم واستدرة حواف الكبد G2، كما تلاحظ مناطق بلون أحمر داكن (سهم أزرق) وأخوى شاحبة (سهم أخضر) لدى طيور مجموعات G2 و G4



الشكل (رقم 25 و 26): التغيرات المرضية العيانية لأكباد المجموعتين الثانية G2 والثالثة G3 في اليوم التاسع من إعطاء البروديفاكوم، (G2) ترف تحت محفظة الكبد (سهم أزرق)، اصفرار (سهم أخضر)، (G3) القوام الهش سهل التففت (سهم أسود)

4-2-2- التغيرات التشريحية المرضية العيانية في الكلى:

المجموعة الأولى (الشاهد): لم تلاحظ أي تغيرات مرضية عيانية لدى كلى جميع طيور مجموعة الشاهد طيلة فترة التجربة، وبدت الكلى بمظهر وحجم طبيعي كما هو موضح في الشكل (رقم 27).

➤ بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم:

المجموعة الثانية: بدت الكلى لدى طيورها بمظهر أقرب للطبيعي مع تضخم طفيف في الفصوص الأمامية، مقارنة مع كلى مجموعة الشاهد.

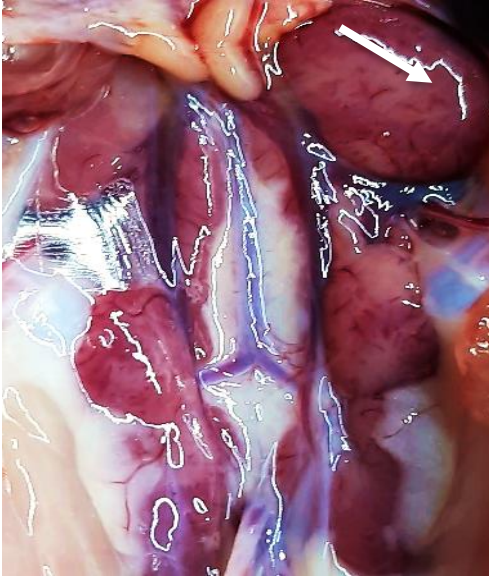
أما بالنسبة لكلى طيور المجموعتين الثالثة والرابعة: فقد كان التضخم أكثر وضوحاً في فصوص الكلى لاسيما الأمامية، إضافة للاحتقان كما هو موضح في الشكل (رقم 28).

➤ في اليوم الخامس بعد إعطاء البروديلاكوم:

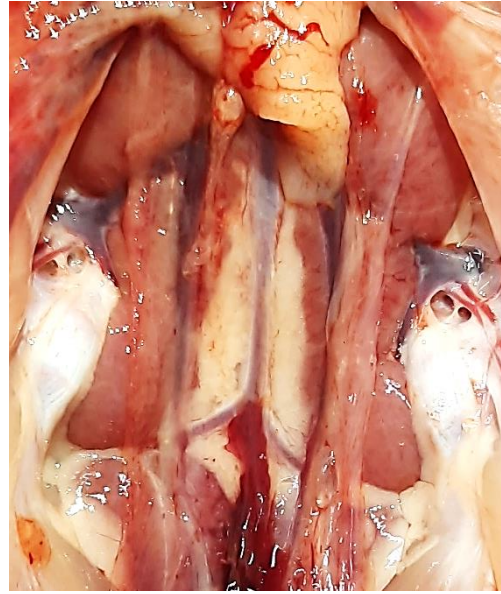
لوحظ تضخم بسيط في فصوص الكلى لاسيما الأمامية لدى كلى طيور المجموعتين الثانية والثالثة، وتضخم شديد لدى المجموعة الرابعة، وبدأت الكلى بلون شاحب في المجموعتين الثالثة والرابعة (الشكل رقم 29 و 30).

➤ في اليوم التاسع بعد إعطاء البروديلاكوم:

تجلت التغيرات التشريحية المرضية في الكلى على شكل تضخم واحتقان ونزف Hemorrhage في فصوص الكلى لدى جميع طيور مجموعات التجربة، وكانت أكثر شدةً ووضوحاً لدى طيور المجموعة الرابعة (الشكل رقم 31 و 32).



الشكل رقم (28): التغيرات المرضية العيانية لكلى طيور المجموعة الرابعة بعد 24 ساعة من الإعطاء، توضح التضخم والاحتقان في الفصوص الأمامية (سهم أبيض)



الشكل رقم (27): يوضح المظهر الطبيعي للكلى لدى طيور مجموعة الشاهد



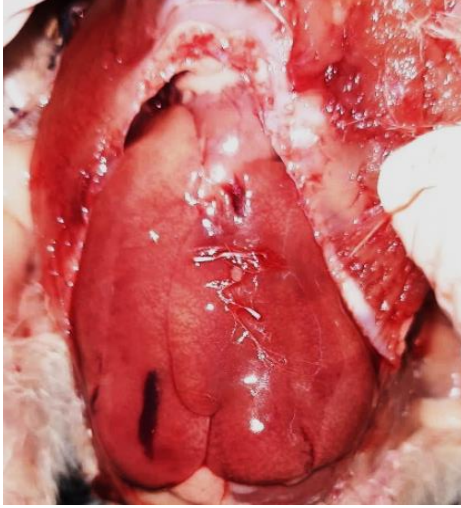
الشكل رقم (29 و30): التفوهات المرضية العيانية لكلى طيور مجموعات التجربة الثالثة G3 والرابعة G4 في اليوم الخامس بعد إعطاء البروديفاكوم يوضح التضخم والشحوب في فصوص الكلى



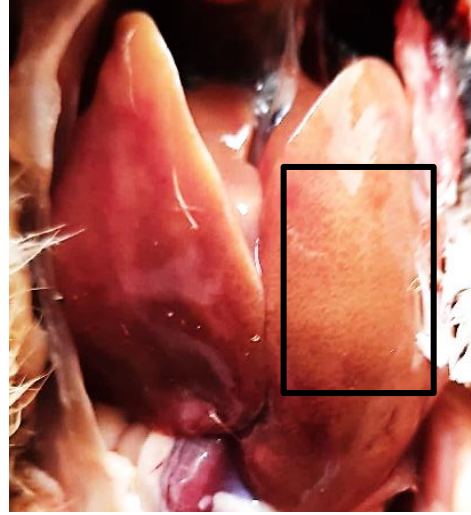
الشكل رقم (31 و32): التفوهات المرضية العيانية لكلى طيور المجموعتين الثالثة و الرابعة في اليوم التاسع بعد إعطاء البروديفاكوم، يوضح التضخم والتلف في فصوص الكلى

4-2-3- التغيرات المرضية العيانية في أكباد وكلى الطيور النافقة:

لُوحِظَت تغيرات مُشابهة للتغيرات المُشاهدة لدى طيور مجموعات التجربة بعد الذبح، كما هي موضحة في الأشكال (32، 33، 34، 35).



الشكل رقم (34): التغيرات المرضية العيانية لكبد طائر نافق من المجموعة الاربعة في اليوم الخامس بعد إعطاء البروديفاكوم، يُلاحظ تضخم في حجم الكبد، تلون مناطق واسعة باللون الأحمر، إضافة لشحوب بعض الحواف



الشكل رقم (33): التغيرات المرضية العيانية لكبد طائر نافق من المجموعة الثانية في اليوم الرابع بعد إعطاء البروديفاكوم، يوضح فقدان اللون الطبيعي للكبد والإصفرار (المويج الأسود)



الشكل رقم (36): التغيرات المرضية العيانية لكلى طائر نافق من المجموعة الاربعة في اليوم الخامس بعد إعطاء البروديفاكوم، يلاحظ تضخم واحتقان وتورف في فصوص الكلى



الشكل رقم (35): التغيرات المرضية العيانية لكلى طائر نافق من المجموعة الثانية في اليوم الرابع بعد إعطاء البروديفاكوم، يلاحظ تضخم شديد وشحوب في فصوص الكلى

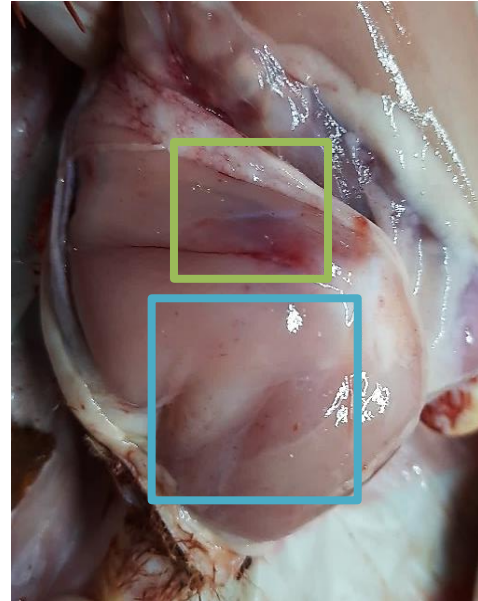
4-2-4- التغيرات التشريحية المرضية العيانية الأخرى المسجلة خلال هذه الدراسة:

لُوحِظَ بعد تشريح الطيور النافقة والطيور المذبوحة لدى مجموعات التجربة ومقارنة بالشاهد، نزوفات معممة تحت الجلد وعلى شكل تجلطات دموية Blood clots في منطقة الصدر وتحت جلد الجناح، سوائل مُدَمَّمة ضمن التجويف البطني، نزف حَبْرِي Petechiae طفيف على السطح الوحشي لعضلات الفخذ لدى طيور المجموعة الثانية (الشكل رقم 37)، وبدى النزف أشد إضافة لمناطق نزف كدمي ونزف فرشاتي Paint brush على عضلات الصدر (الشكل رقم 38) والفخذ لدى طيور المجموعتين الثالثة والرابعة (الشكل رقم 39)، و كان أشد لدى المجموعة الرابعة.

لم يلاحظ أي تغيرات مرضية في الجهاز الهضمي خلال فترة التجربة، ماعدا اليوم الأخير من التجربة إذ لوحظ احتقان بسيط في الأوعية المساريقية في الأمعاء (الشكل رقم 40)، ولوحظ نزف حَبْرِي واحتقان في الدماغ لدى طيور المجموعتين الثالثة والرابعة (الشكل رقم 41).



الشكل رقم (38): يوضح النزف الشديد على سطح عضلات الصدر لدى طائر من المجموعة الثالثة في اليوم السادس بعد إعطاء البروديفاكوم



الشكل رقم (37): يوضح النزف الحوي (المربع الأزرق) والكدمي (المربع الأخضر) على عضلات الفخذ (السطح الوحشي) لدى طيور المجموعة الثانية بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم



الشكل رقم (40): يوضح الاحتقان الشديد في
الأوعية الدموية لمسارها في الأمعاء لدى طيور
مجموعات التجربة G3 في اليوم التاسع بعد
إعطاء البروديفاكوم



الشكل رقم (39): يوضح النزف الكدمي الشديد
على عضلات الفخذ لدى طائر نافق من
المجموعة الثالثة في اليوم الخامس بعد إعطاء
البروديفاكوم



الشكل رقم (41): يوضح النزف الحوي لدى أدمغة طيور
مجموعات التجربة G3 في اليوم التاسع بعد إعطاء البروديفاكوم

4-3- التغيرات التشريحية المرضية المجهرية:

4-3-1- التغيرات التشريحية المرضية المجهرية في الكبد:

المجموعة الأولى (الشاهد): لم تُلاحظ أية تغيرات مرضية لدى أكباد طيور الشاهد طيلة فترة التجربة، إذ بدأ نسيج الكبد لديها طبيعياً، توضع في الخلايا الكبدية بشكل احبال بسمك خليتين حول الوريد المركزي ويفصل بينها الجيبانات الدموية كما هو موضح في (الشكل رقم 42).

➤ بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم:

المجموعة الثانية: لم يُلاحظ أي تغير مرضي في الخلايا الكبدية مقارنة بالمجموعة الأولى (الشاهد) وبدأ نسيج الكبد فيها أقرب للطبيعي، لوحظ فقط احتقان بسيط في الجيبانات الكبدية (الشكل رقم 43).

أما المجموعة الثالثة والرابعة: فقد حدثت تغيرات تنكسية بدرجات مختلفة من التورم الغيمي cell swelling و التتس المائي Hydropic degeneration والنخر Necrosis في بعض خلايا الكبد (الشكل رقم 44)، أما بالنسبة لرد الفعل الالتهابي فقد كان محدوداً تمثل بزيادة ارتشاح خلايا كوبر Cells Kupffer وبعض المستغيرات.

➤ في اليوم الخامس من إعطاء البروديفاكوم:

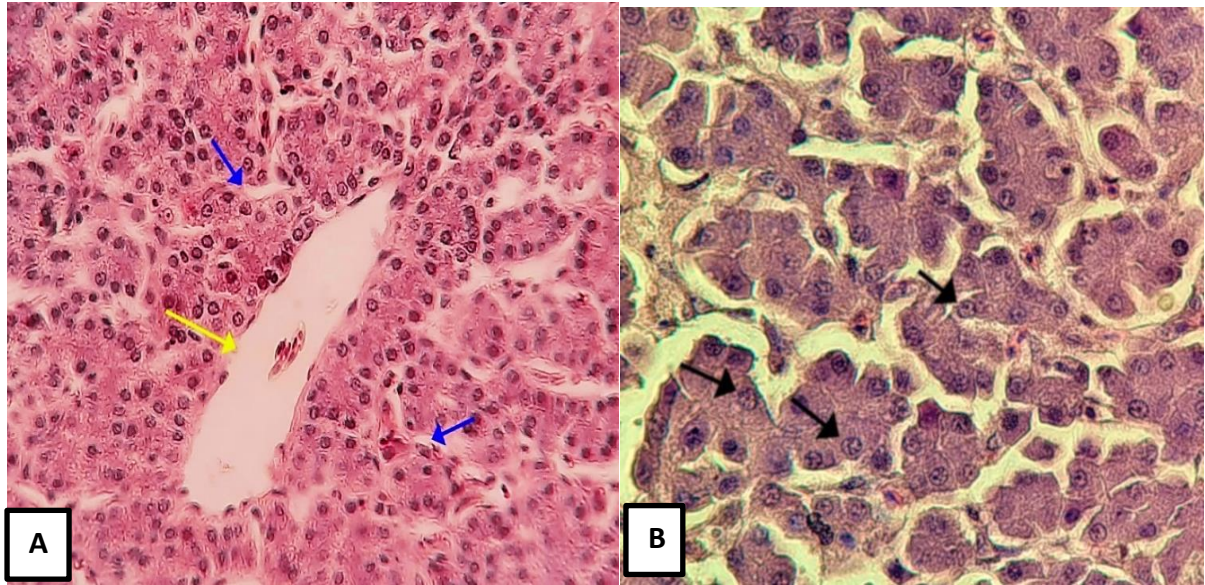
المجموعة الثانية: بدأت التغيرات المرضية النسيجية بالظهور على شكل تنكس دهني Fatty degeneration في بعض خلايا الكبدية إضافة لمناطق نخر (الشكل رقم 45)، ولوحظ رد فعل التهابي حاد تسود فيه المستغيرات والبلاعم لاسيما في المسافة البابية وحول الوريد المركزي (الشكل رقم 46). لوحظت تغيرات نسيجية مماثلة لدى المجموعة الثالثة: مع زيادة في التتس المائي والتتس الدهني واحتقان وتخرّب بطانة الوريد المركزي (الشكل رقم 47).

بدأت التغيرات النسيجية في المجموعة الرابعة أكثر شدةً ووضوحاً وتجلت بشكل تنكس شديد ومناطق نخر إضافة لاحتقان الأوردة البابية والمركزية وارتشاح الخلايا الالتهابية المستغيرات والمفاويات والبلاعم (الشكل 48).

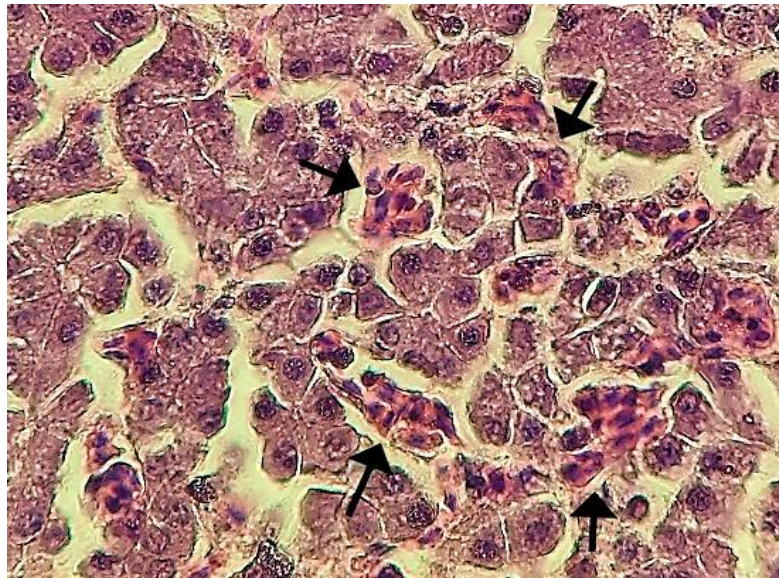
➤ في اليوم التاسع من إعطاء البروديفاكوم:

لوحظ بعد دراسة العينات النسيجية لأكباد طيور المجموعة الثانية تنكس مائي ودهني ونخر بعض خلايا الكبدية (الشكل رقم 49). أما التغيرات النسيجية في المجموعتين الثالثة والرابعة فقد تمثلت بتنكس دهني شديد (الشكل رقم 50) تركّز بالقرب من الوريد المركزي، إضافة لمراحل مختلفة من النخر في بعض

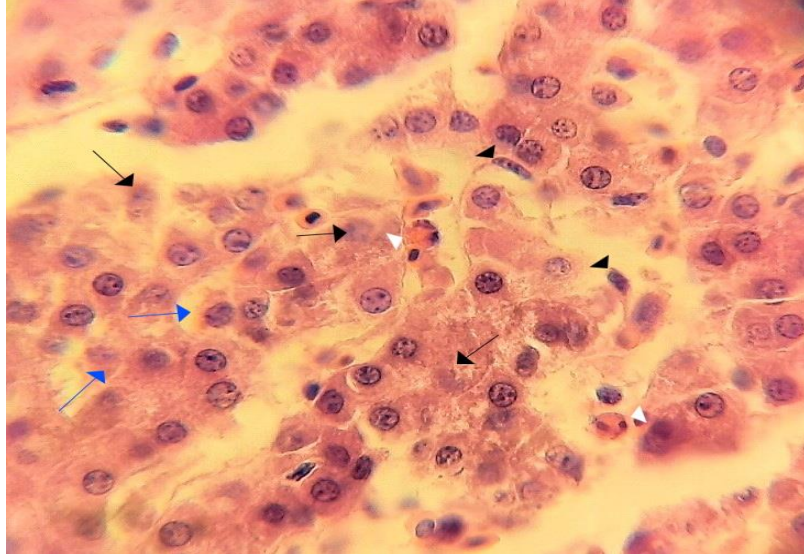
الخلايا الكبدية وتخرّب بطانة الأوعية الدموية ورد فعل التهابي من المستغيّرات وبعض اللمفاويات (الشكل رقم 51).



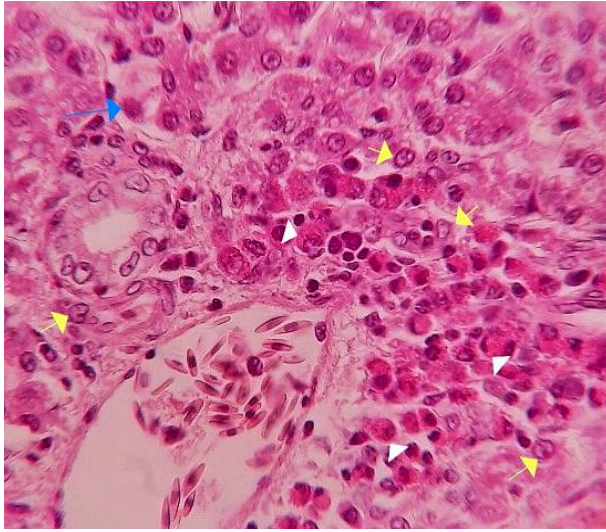
الشكل رقم (42): مقطع نسيجي في كبد مجموعة الشاهد
A (يوضح الوريد الموكي (سهم أصفر) الجيبانات الدموية (سهم أزرق) (H&E×400))
B (يوضح الخلايا الكبدية الطبيعية (سهم أسود) (H&E×1000))



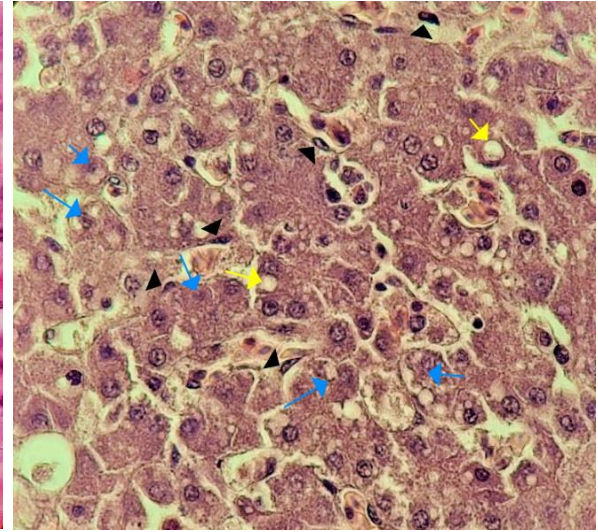
الشكل رقم (43): مقطع نسيجي في كبد المجموعة الثانية بعد 24 ساعة من الإعطاء، يلاحظ احتقان الجيبانات الدموية (سهم أسود) (H&E×1000)



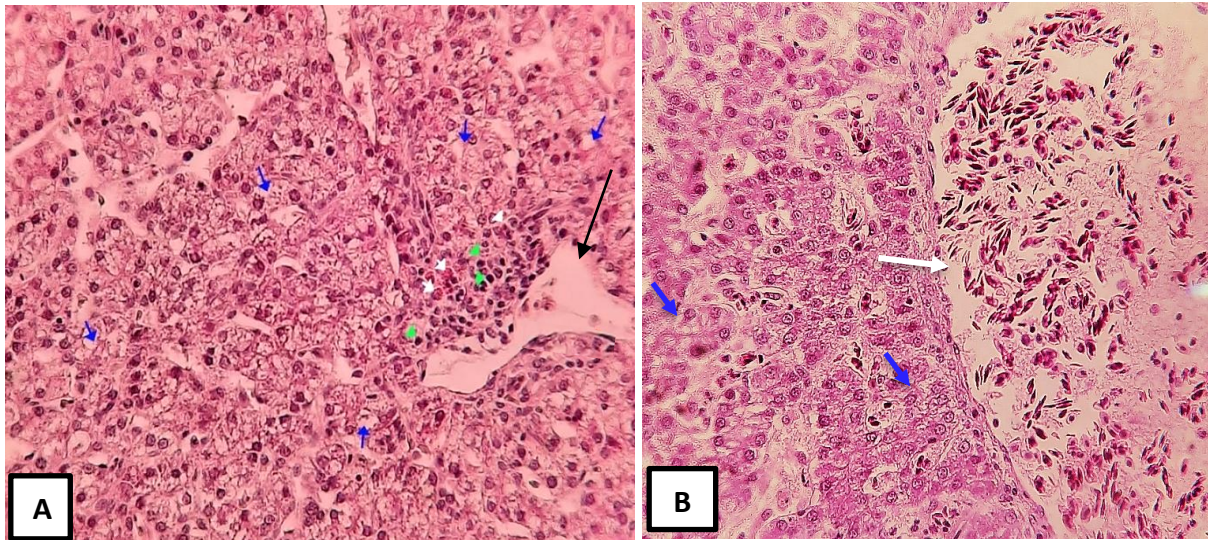
الشكل رقم (44): مقطع نسيجي في كبد المجموعة الثالثة بعد 24 ساعة من الإعطاء، يوضح التورم الغيمي (سهم أزرق) والنخر (سهم أسود) في بعض خلايا الكبد، خلايا كوبفر (رأس السهم الأسود) المستغيرات (رأس السهم الأبيض) (H&E×1500)



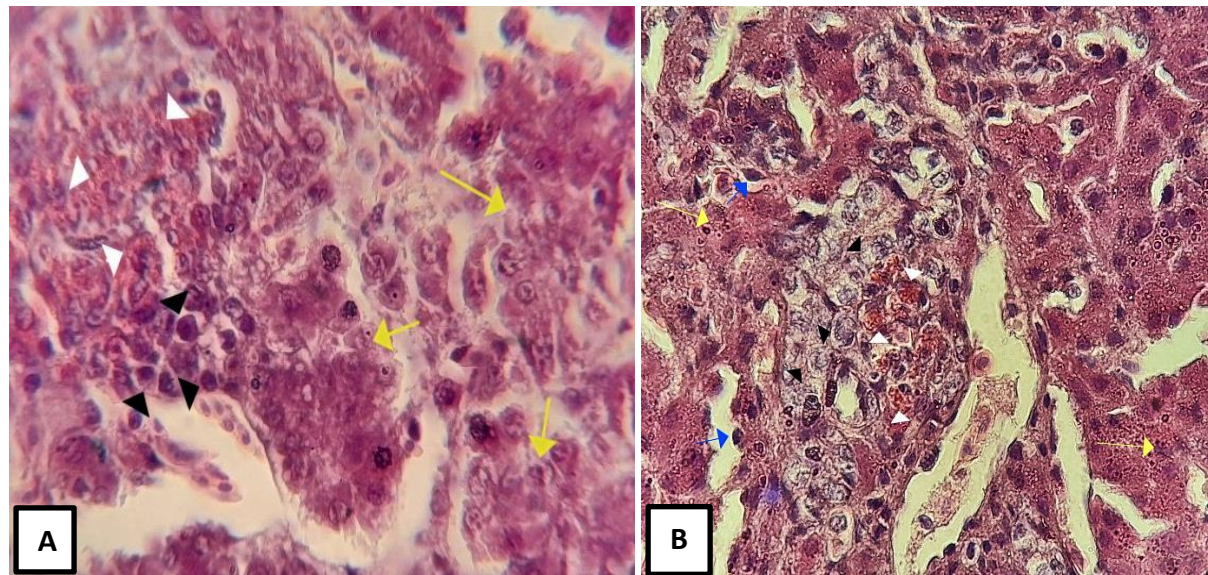
الشكل رقم (46): مقطع نسيجي في كبد المجموعة الثانية في اليوم الخامس من الإعطاء، يلاحظ تنكس مائي (سهم أزرق) ورد فعل التهابي تسود فيه المستغويات (رأس السهم الأبيض) والبلاعم (سهم أصفر) بالقرب من الوريد البابي في المسافة البابية



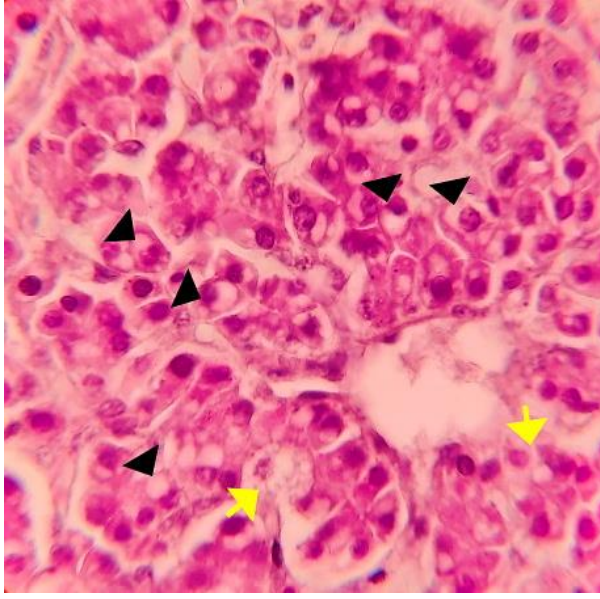
الشكل رقم (45): مقطع نسيجي في كبد المجموعة الثانية في اليوم الخامس من الإعطاء، يلاحظ التنكس الدهني في بعض الخلايا الكبدية (سهم أصفر) والنخر بمراحل مختلفة (سهم أزرق)، خلايا كوبفر (رأس السهم الأسود) (H&E×1000)



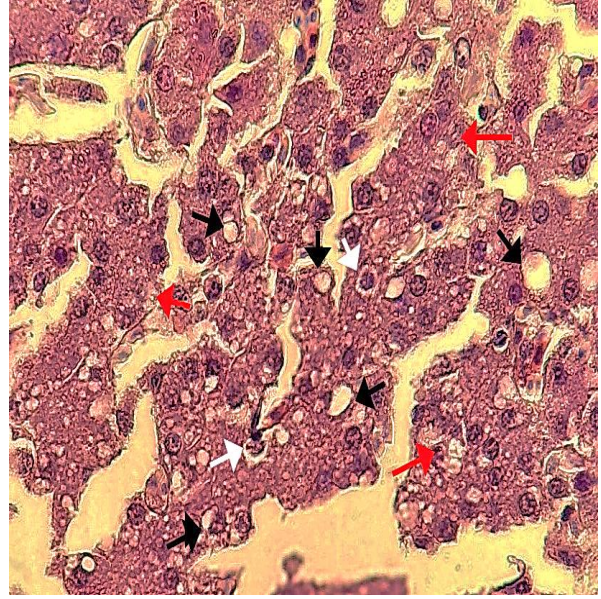
الشكل (رقم 47): مقطع نسيجي في كبد المجموعة الثالثة في اليوم الخامس من الإعطاء -
 (A) يلاحظ تنكس مائي شديد (سهم أزرق)، رد فعل التهابي بالقرب من الوريد المركزي لتشاح المستغويات (رأس السهم الأبيض) و اللمفلويات (رأس السهم الأخضر) تخرب بطانة الوريد المركزي (سهم أسود)
 (B) احتقان الوريد المركزي (سهم أبيض)، تنكس مائي (سهم أزرق) (H&E×1000)



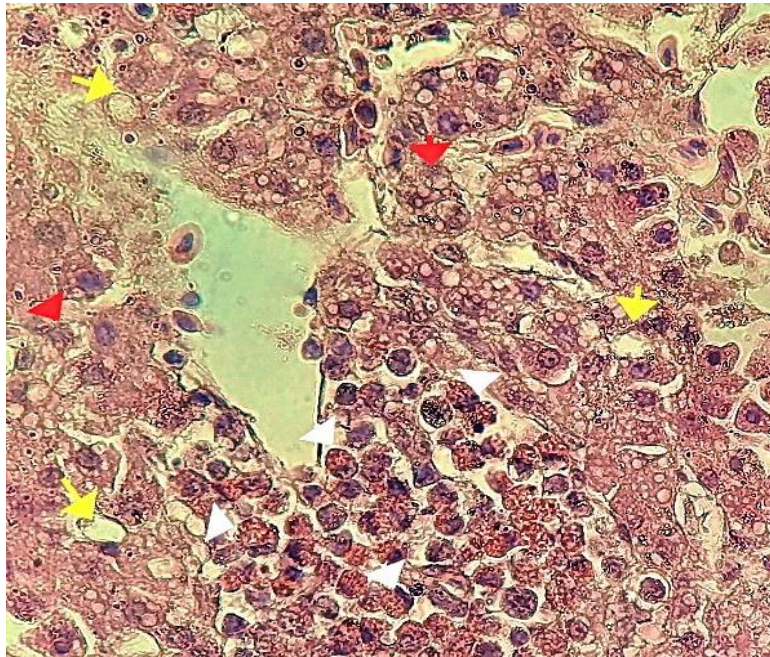
الشكل رقم (48): مقطع نسيجي في كبد المجموعة الرابعة في اليوم الخامس من الإعطاء
 (A) يلاحظ نخر (سهم أصفر) ورد فعل خلوي من المستغويات (رأس السهم الأبيض) واللمفلويات (رأس السهم الأسود)
 (B) يلاحظ رد فعل التهابي في المسافة البابية تسود فيه البلاعم (رأس السهم الأسود) والمستغويات (رأس السهم الأبيض)، خلايا كوبفر (سهم أزرق)، نخر وبقايا حطام خلوي (سهم أصفر) (H&E×1500-1000)



الشكل (50): مقطع نسيجي في كبد المجموعة الثالثة في اليوم التاسع من الإعطاء، يلاحظ تنكس دهني (رأس السهم الأسود) ، نخر (سهم أصفر) (H&E×1000)



الشكل (49): مقطع نسيجي في كبد المجموعة الثانية في اليوم التاسع من الإعطاء، يلاحظ تنكس دهني (سهم أسود)، تنكس مائي (سهم أبيض)، نخر (سهم أحمر) (H&E×1000)



الشكل رقم (51): مقطع نسيجي في كبد المجموعة الرابعة في اليوم التاسع من الإعطاء، يلاحظ تنكس دهني (سهم أصفر)، نخر (سهم أحمر) ورد فعل خلوي من المستغوات

4-3-2- التغيرات التشريحية المرضية المجهرية في الكلى:

المجموعة الأولى (مجموعة الشاهد): لوحظ لدى فحص العينات النسيجية لكلى طيور الشاهد وضوح النسيج الطبيعي المميز للكلى والمؤلف من الكبيبات الكلوية والنبيبات الكلوية الدانية والقاصية (الشكل رقم 52).

➤ بعد 24 ساعة من إعطاء البروديلاكوم:

المجموعة الثانية: لوحظت تغيرات مرضية تمثلت بحدوث تنكس مائي بسيط ونخر بعض الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية، إضافة لاحتقان الشعيرات الدموية بين النبيبات الكلوية، ولوحظ رد فعل التهابي حاد على شكل تجمعات كبيرة من المستغيرات في النسيج الخلالي (الشكل رقم 53).

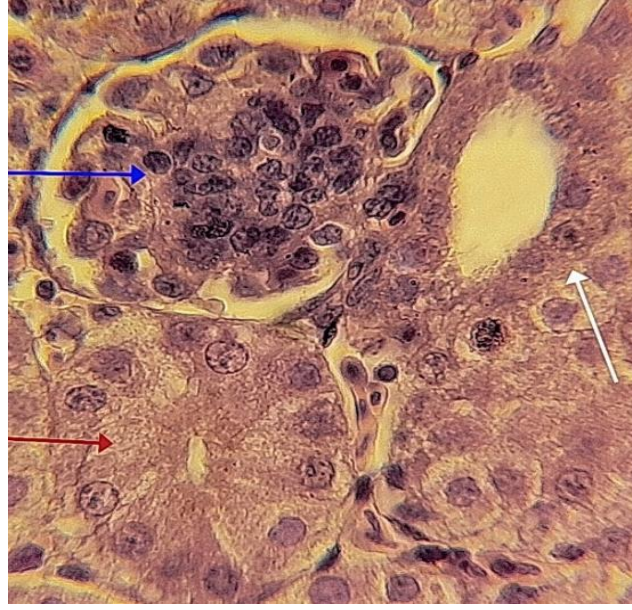
أما المجموعتين الثالثة والرابعة: فقد كانت التغيرات النسيجية أشد وظهرت بشكل تنكس مائي شديد، ونخر بعض الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية، إضافة لارتشاح الخلايا الحمر من الأوعية الشعرية (نزف) بين النبيبات الكلوية (الشكل رقم 54 و 55).

➤ اليوم الخامس من إعطاء البروديلاكوم:

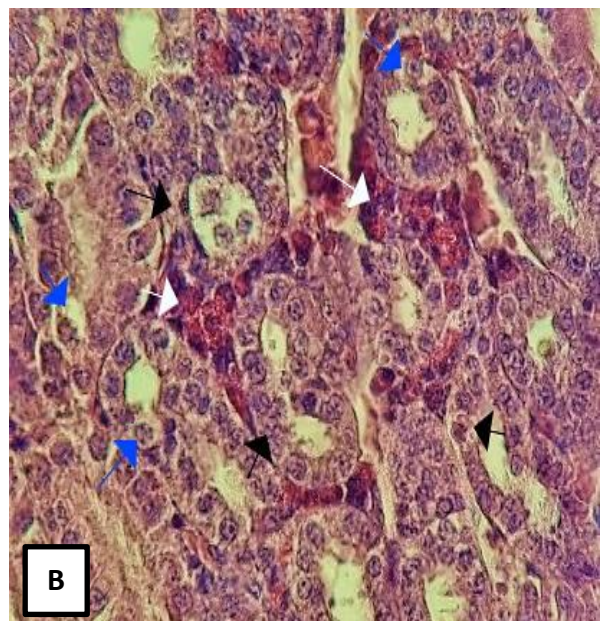
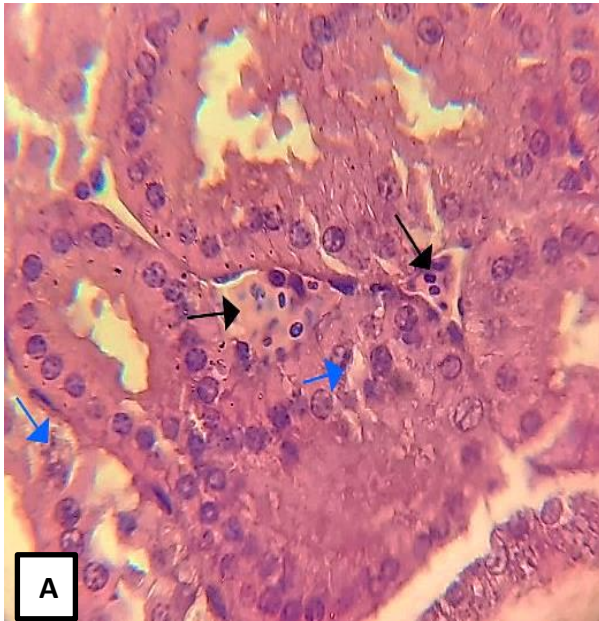
المجموعة الثانية: لوحظ التنكس المائي والنخر في الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية الدانية والقاصية وبعض القنوات الجامعة، ظهر على نحو أشد وأوضح لدى طيور المجموعتين الثالثة والرابعة، (الشكل رقم 56)، إضافة للنزف الحاصل ضمن لمعة النبيبات الكلوية الدانية وبعض القنوات الجامعة (الشكل رقم 57)، أما بالنسبة لرد الفعل الالتهابي فقد ظهر لدى جميع طيور المجموعات الثلاثة، وتمثل بشكل رد فعل التهابي حاد من المستغيرات وبعض اللمفاويات.

➤ اليوم التاسع من إعطاء البروديلاكوم:

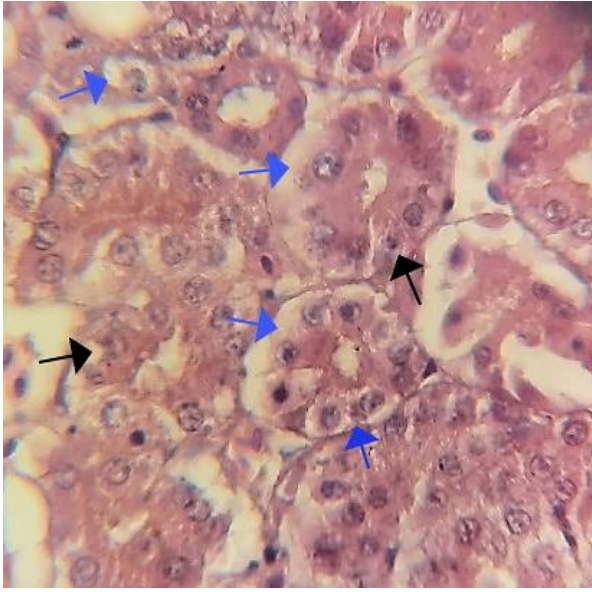
ظهرت تغيرات مرضية نسيجية شديدة في هذه المرحلة على شكل تنكس مائي شديد وتخرّب في ظهارة النبيبات الكلوية، ونخر الخلايا الظهارية للنبيبات والكبب الكلوية (الشكل رقم 58)، إضافة لاحتقان الأوعية الدموية والنزف بين النبيبات وضمن لمعة النبيبات الدانية والقنوات الجامعة (الشكل رقم 59)، وارتشاح الخلايا الالتهابية المستغيرات واللمفاويات، ازدادت شدة هذه التغيرات مع زيادة الجرعة لدى كل من طيور المجموعة الثالثة والطائر المتبقي من المجموعة الرابعة وذلك في اليوم الأخير من التجربة.



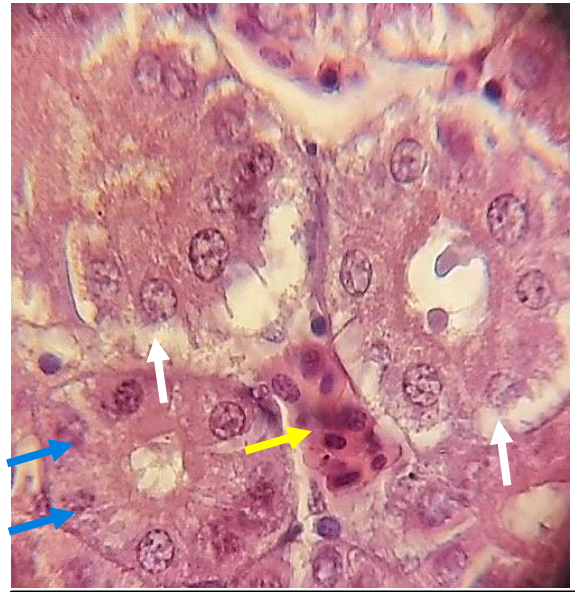
الشكل رقم (52): مقطع نسيجي في الكلى لمجموعة الشاهد يوضح البنية الطبيعية للكبة الكلوية (سهم أزرق) والنبيبات الكلوية الدانية (سهم أحمر) و القاصية (سهم أبيض) (H&E×1500)



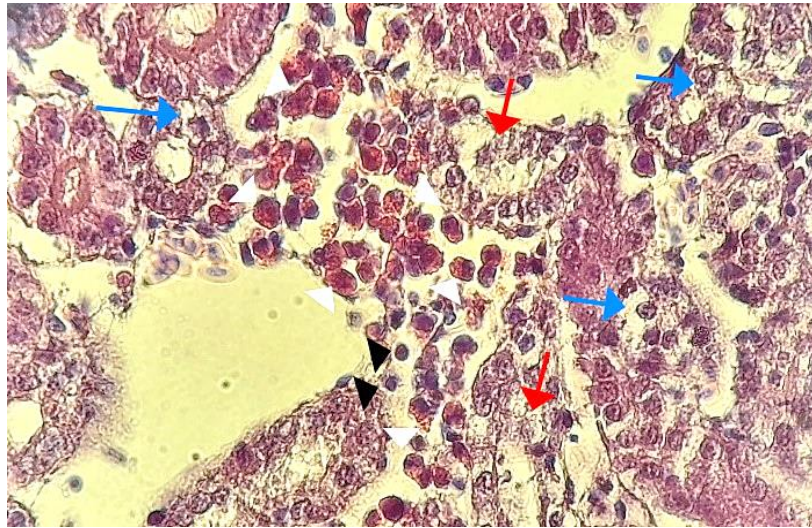
الشكل رقم (53): مقطع نسيجي في كلى المجموعة الثانية بعد 24 ساعة من الإعطاء (A) يوضح التنكس المائي في بعض الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية الدانية (سهم أزرق) احتقان الشعيرات الدموية بين النبيبات الكلوية (سهم أسود) (B) يوضح التنكس المائي (سهم أزرق) ونخر (سهم أسود) بعض الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية وارتشاح الخلايا الالتهابية المستغرقات (سهم أبيض) (H&E×1000)



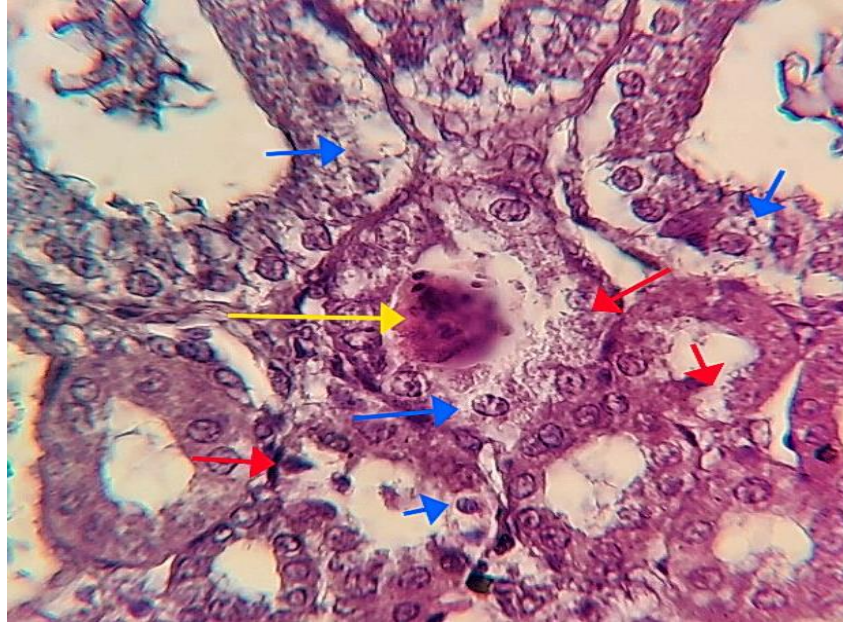
الشكل رقم (55): مقطع نسيجي في كلى المجموعة الرابعة بعد 24 ساعة من الإعطاء، يوضح التنكس المائي الشديد (سهم أزرق) ونخر (سهم أسود) الخلايا الظهارية المبطنة للنيبيبات الكلوية (H&E×1000)



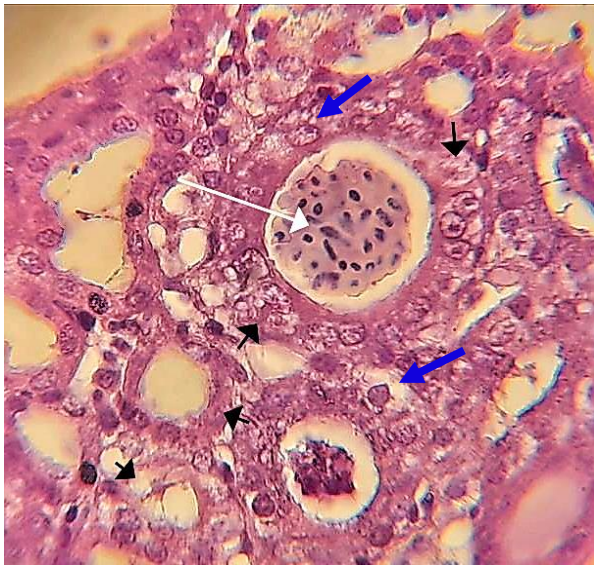
الشكل رقم (54): مقطع نسيجي في كلى المجموعة الثالثة بعد 24 ساعة من الإعطاء، يوضح التنكس المائي (سهم أبيض) ونخر (سهم أزرق) الخلايا الظهارية المبطنة للنيبيبات الكلوية، وتُعرف بين النبيبات الكلوية (سهم أصفر)، (H&E×1500)



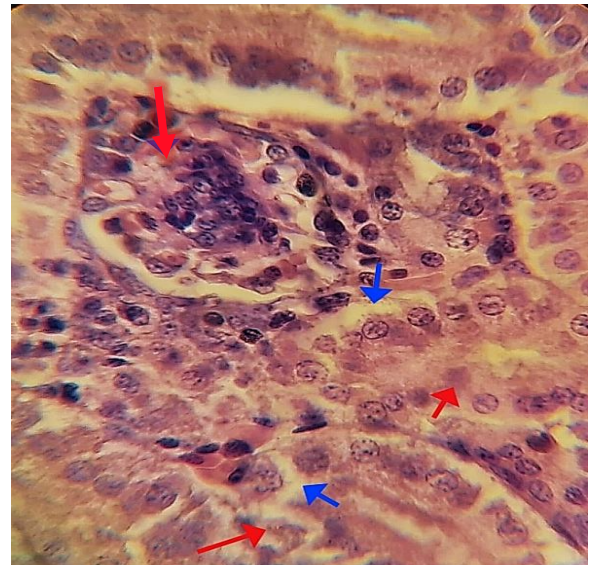
الشكل رقم (56): مقطع نسيجي في كلى المجموعة الثالثة في اليوم الخامس من الإعطاء، يوضح التنكس المائي (سهم أزرق) ونخر (سهم أحمر) الخلايا الظهارية للنيبيب الكلوي الداني و القنوات الجامعة، ولتشاح المستغورات (أس السهم الأبيض) واللمفويات (أس السهم الأسود) (H&E×1000)



الشكل رقم (57): مقطع نسيجي في كلى المجموعة الثالثة في اليوم الخامس من الإعطاء، يوضح التنكس المائي (سهم أزرق) ونخر (سهم أحمر) الخلايا الظهارية للنيبيب الكلوي الداني و القنوات الجامعة وتوف ضمن لمعة النبيب الداني (سهم أصفر) (H&E×1000)



الشكل رقم (59): مقطع نسيجي في كلى المجموعة الثالثة في اليوم التاسع من الإعطاء، يوضح التنكس المائي الشديد (سهم أزرق) ونخر (سهم أسود) الخلايا الظهارية المبطنة للنيبيبات الكلوية، توف ضمن لمعة القناة الجامعة (سهم أبيض) (H&E×1000)



الشكل رقم (58): مقطع نسيجي في كلى المجموعة الثانية في اليوم التاسع من الإعطاء، يوضح التنكس المائي (سهم أزرق) ونخر (سهم أحمر) الخلايا الظهارية المبطنة للنيبيبات والكبب الكلوية (H&E×1000)

4-3-3- التغيرات التشريحية المرضية المجهرية لدى الطيور النافقة:

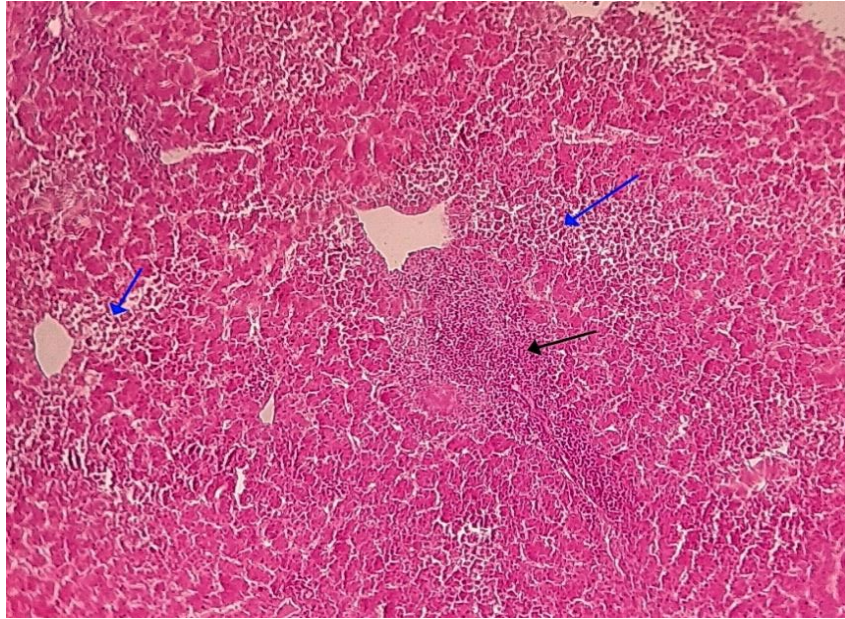
لدى فحص العينات النسيجية لكبد وكلى الطيور النافقة حديثاً خلال فترة التجربة لوحظت تغيرات نسيجية مشابهة لما شاهدناه في عينات الطيور المذبوحة، وتجلت على شكل:

➤ الكبد:

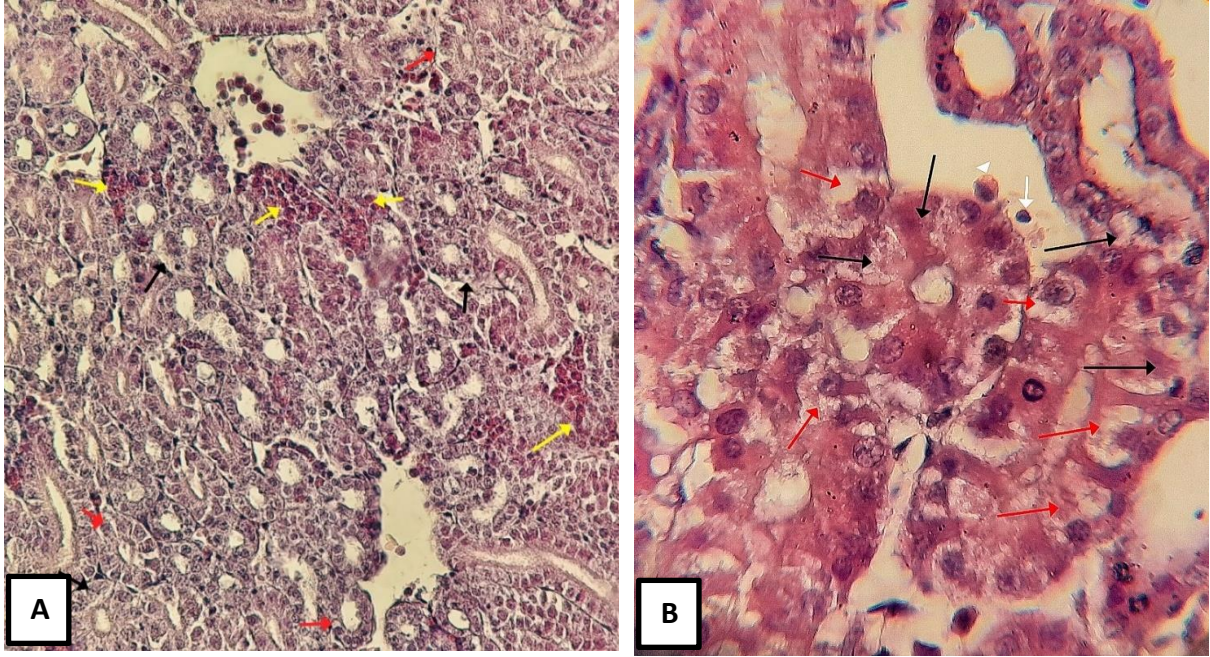
لوحظ تنكس مائي شديد ونخر تركز حول الأوردة المركزية، إضافة لرد فعل التهابي واضح تمثل بارتشاح المستغيرات واللمفاويات والبلاعم (الشكل رقم 60).

➤ الكلى:

لوحظ تنكس مائي شديد وتنكس مائي ونخر في الخلايا الظهارية للأنبيبات والكبد الكلوية، إضافة لاحتقان الاوعية الدموية، وارتشاح الخلايا الالتهابية المستغيرات واللمفاويات (الشكل رقم 61).



الشكل رقم (60): مقطع نسيجي في الكبد لطير نافق من المجموعة الوابعة في اليوم الخامس بعد الإعطاء يلاحظ منطقة نخر الخلايا الكبدية (سهم أزرق)، ارتشاح الخلايا الالتهابية (سهم أسود) (H&E×100)



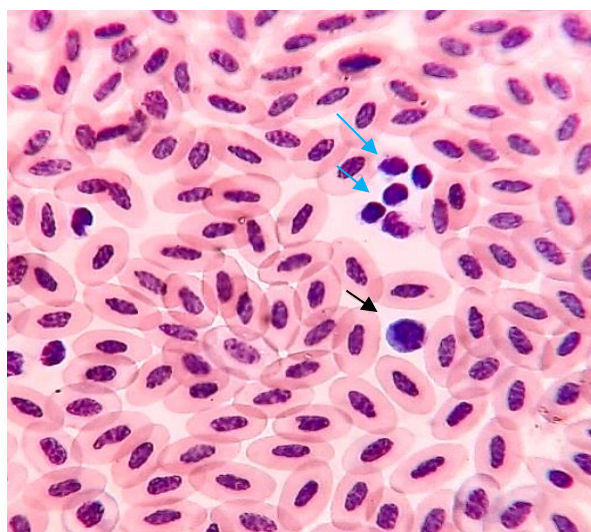
الشكل (61) مقطع نسيجي في الكلى لطير نافق من المجموعة الرابعة في اليوم الخامس بعد الإعطاء
 (A) يلاحظ نخر (سهم لأسود)، تنكس مائي (سهم أحمر) في الخلايا الظهرية للنبيبات الكلوية، رد فعل
 التهابي تسود فيه المستغوات (سهم أصفر) (H&E×400)
 (B) يلاحظ تنكس مائي شديد (سهم أحمر) نخر (سهم أسود) خلية لمفاوية (سهم أبيض)، مستغوة (رأس
 السهم الأبيض) (H&E×1000)

4-4- تغيرات الصورة الدموية الناتجة عن التسمم بالبروديفاكوم:

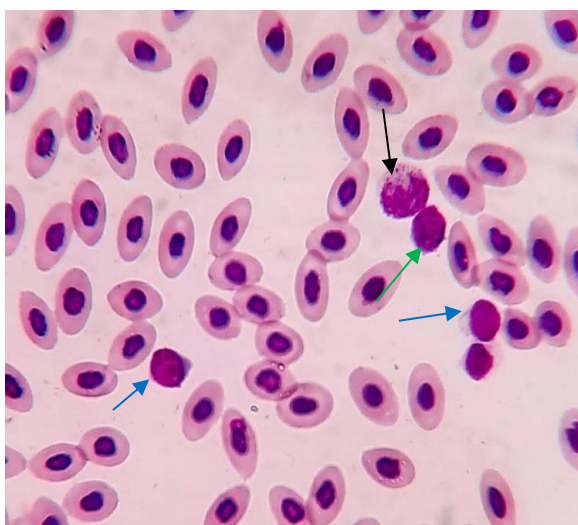
بدت خلايا الدم الحمر في المسحات الدموية المصبوغة بجميزا بشكل بيضوي مسطح بنواة بيضوية وهيولى بلون زهري شاحب ولها بنية متجانسة ونواة ذات لون أرجواني، أما الصفائح الدموية فبدت خلايا كروية إلى بيضوية قليلاً مع نواة بيضوية مركزية وهيولى صافية، إضافة لكريات الدم البيض المختلفة، كما هو موضح في الأشكال (62، 63، 64، 65).



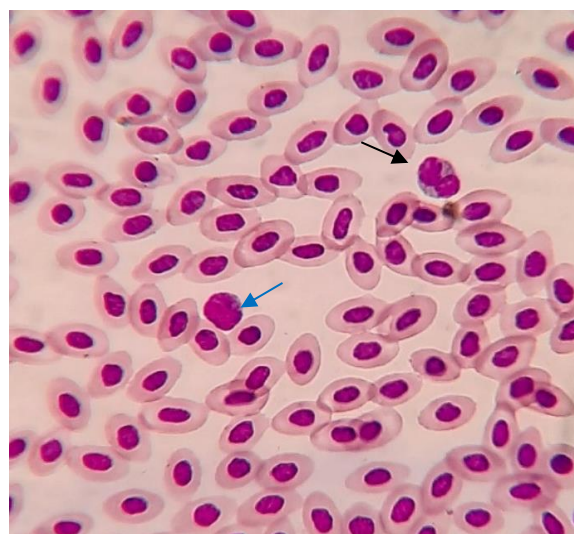
الشكل رقم (63): مسحة دموية طيرية مصبوغة بجيجزا من المجموعة الثانية بعد 24 ساعة، تظهر وجود خلية مستغرة (السهم الأبيض) والخلايا الحمضة (السهم الأسود) والصفائح الدموية (السهم الأزرق) والعديد من خلايا الدم الحمر (تكبير $\times 1000$)



الشكل رقم (62): مسحة دموية طيرية مصبوغة بجيجزا من المجموعة الأولى، تظهر وجود خلية لمفلوبة (السهم الأسود) وتجمع عدد من الصفائح الدموية (السهم الأزرق) والعديد من خلايا الدم الحمر (تكبير $\times 1000$)



الشكل رقم (65): مسحة دموية طيرية مصبوغة بجيجزا من المجموعة الثالثة في اليوم التاسع، تظهر وجود مستغرة (السهم الأسود)، وأسدة (السهم الأخضر)، ولمفلوبة (السهم الأزرق)، والعديد من خلايا الدم الحمر (تكبير $\times 1000$)



الشكل رقم (64): مسحة دموية طيرية مصبوغة بجيجزا من المجموعة الثانية في اليوم الخامس، تظهر وجود خلية وحيدة النواة (السهم الأسود)، وخلية لمفلوبة (السهم الأزرق) والعديد من خلايا الدم الحمر (تكبير $\times 1000$)

4-5- تأثير البروديفاكوم في العدد الكلي لخلايا الدم الحمر:

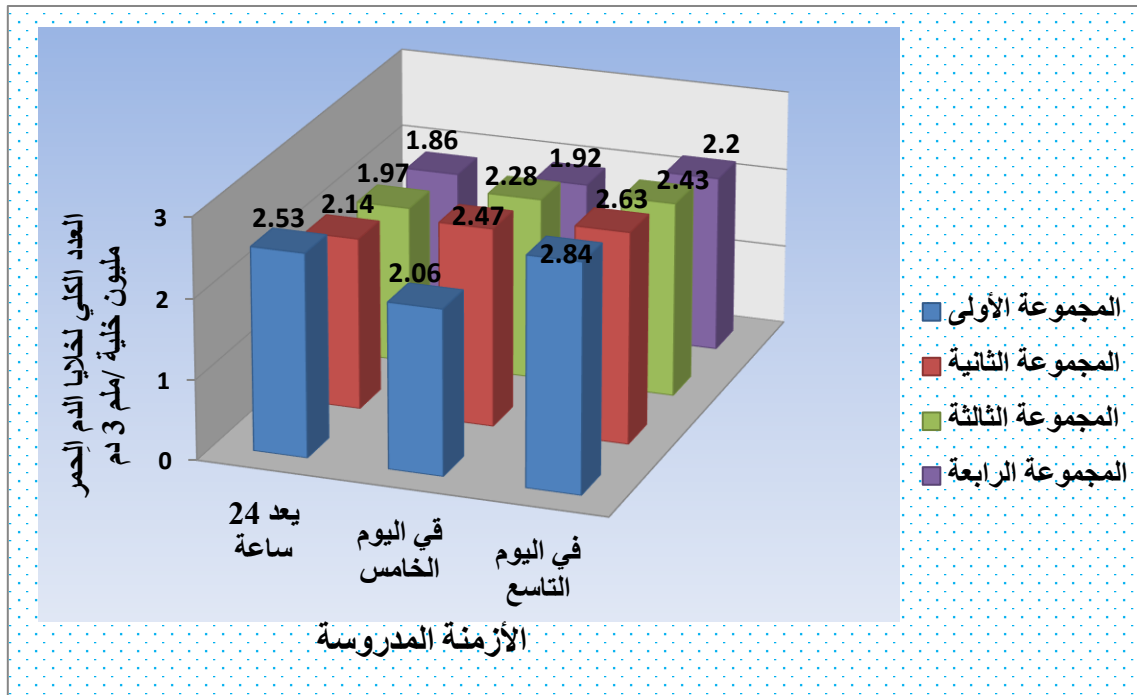
تشير النتائج في الجدول رقم (4) والمخطط البياني رقم (1) الى انخفاض معنوي في متوسط تعداد خلايا الدم الحمر ($P \leq 0.05$) لدى المجموعات التي أعطيت البروديفاكوم، إذ كانت نسبة الانخفاض متفاوتة بين مجموعات التجربة وبلغ أقل متوسط لدى المجموعة الرابعة (1.86 مليون/ملم³ دم) وذلك بعد 24 ساعة من الإعطاء، واستمر بالانخفاض بين المجموعات في اليومين الخامس والتاسع وبلغ أقل متوسط لدى المجموعة الرابعة (1.92 مليون/ملم³ دم) و (2.20 مليون/ملم³ دم) على التوالي، كما تبين النتائج وجود فروقات معنوية عند المقارنة ما بين متوسط العدد الكلي لخلايا الدم الحمر في الأزمنة الثلاثة.

الجدول رقم (4): يوضح متوسط $\bar{x}$ قيم العدد الكلي لخلايا الدم الحمر (TRBCs) مقدراً ب (مليون خلية/ملم³ دم)، والانحراف المعياري $\pm SD$ لدى مجموعات التجربة بعد 24 ساعة من الإعطاء، وفي اليومين الخامس و التاسع .

المعيار المدروس: العدد الكلي لخلايا الدم الحمر (TRBCs)			مجموعات التجربة
مجالات القيم المرجعية: 3.5-2.14 مليون خلية/ملم ³ دم (Talebi <i>et al.</i> , 2005)			
بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم الخامس من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم التاسع (الاخير) من إعطاء البروديفاكوم	
$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	
^A 2.53 ^a ±0.05	^A 2.06 ^a ± 1.37	^A 2.84 ^a ± 0.04	
^A 2.14 ^b ± 0.07	^B 2.47 ^a ± 0.04	^C 2.63 ^b ± 0.05	
^A 1.97 ^c ±0.10	^B 2.28 ^a ± 0.05	^B 2.43 ^c ±0.04	
^A 1.86 ^d ±0.03	^B 1.92 ^a ± 0.03	^C 2.20 ^d ±0.01	

تدل الرموز a, b, c, d على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% في حال اختلافها ضمن نفس العمود، إذ اعتُبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P \leq 0.05$)، أما الرموز A,B,C فتدل على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% عند المقارنة بين الأزمنة الثلاثة المدروسة في حال اختلافها ضمن نفس السطر وفي نفس المجموعة.

المخطط البياني رقم (1): العدد الكلي لخلايا الدم الأحمر (TRBCs)



4-6 - تأثير البروديفاكوم في العدد الكلي لخلايا الدم البيض:

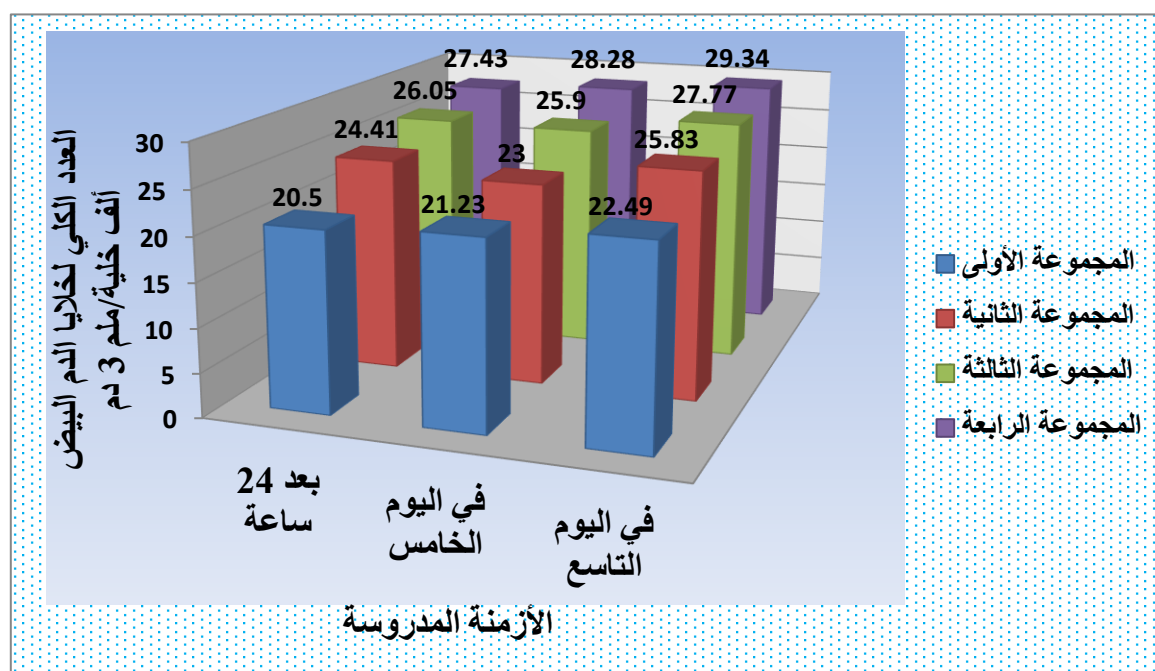
تشير النتائج في الجدول رقم (5) والمخطط البياني رقم (2) الى ارتفاع معنوي في متوسط تعداد خلايا الدم البيض ($P \leq 0.05$) لدى المجموعات الثلاث التي أعطيت البروديفاكوم مقارنة مع الشاهد، وبلغ أعلى متوسط لدى طيور المجموعة الرابعة بعد 24 ساعة من الإغطاء (27.43 ألف خلية/ملم³ دم)، واستمر بالارتفاع بين المجموعات في اليومين الخامس والتاسع من التجربة إذ بلغت لدى المجموعة الرابعة (28.28 ألف خلية/ملم³ دم) و (29.34 ألف خلية/ملم³ دم) على التوالي، كذلك تظهر النتائج وجود فروقات معنوية عند المقارنة ما بين متوسط العدد الكلي لخلايا الدم البيض لدى مجموعات التجربة في الأزمنة الثلاث.

الجدول رقم (5): يوضح متوسط $\bar{x}$ قيم العدد الكلي لخلايا الدم البيض (TWBCs) مقدراً ب (ألف خلية/ملم³ دم)، والانحراف المعياري $\pm SD$ لدى مجموعات التجربة بعد 24 ساعة من الإعطاء، وفي اليومين الخامس و التاسع .

المعيار المدروس: العدد الكلي لخلايا الدم البيض(TWBCs)			مجموعات التجربة
مجالات القيم المرجعية:12-30 ألف خلية/ملم ³ دم (Jain, 1993)			
بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم الخامس من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم التاسع (الآخر) من إعطاء البروديفاكوم	
$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	
^A 20.50 ^a ±0.55	^B 21.23 ^a ±0.07	^C 22.49 ^a ±0.03	المجموعة الأولى (الشاهد)
^A 24.41 ^b ±0.32	^B 23.00 ^b ±0.10	^C 25.83 ^b ±0.04	المجموعة الثانية
^{AB} 26.05 ^c ±0.13	^A 25.90 ^c ±0.21	^B 27.77 ^c ±0.26	المجموعة الثالثة
^A 27.43 ^d ±0.05	^B 28.28 ^d ±0.02	^C 29.34 ^d ±0.95	المجموعة الرابعة

تدل الرموز a, b, c, d على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% في حال اختلافها ضمن نفس العمود، إذ اعتبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P \leq 0.05$)، أما الرموز A,B,C فتدل على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% عند المقارنة بين الأزمنة الثلاثة المدروسة في حال اختلافها ضمن نفس السطر وفي نفس المجموعة.

المخطط البياني رقم (2): العدد الكلي لخلايا الدم البيض



4-7- تأثير البروديفاكوم في العد التفرقي لكريات الدم البيض:

4-7-1- اللمفاويات Lymphocytes:

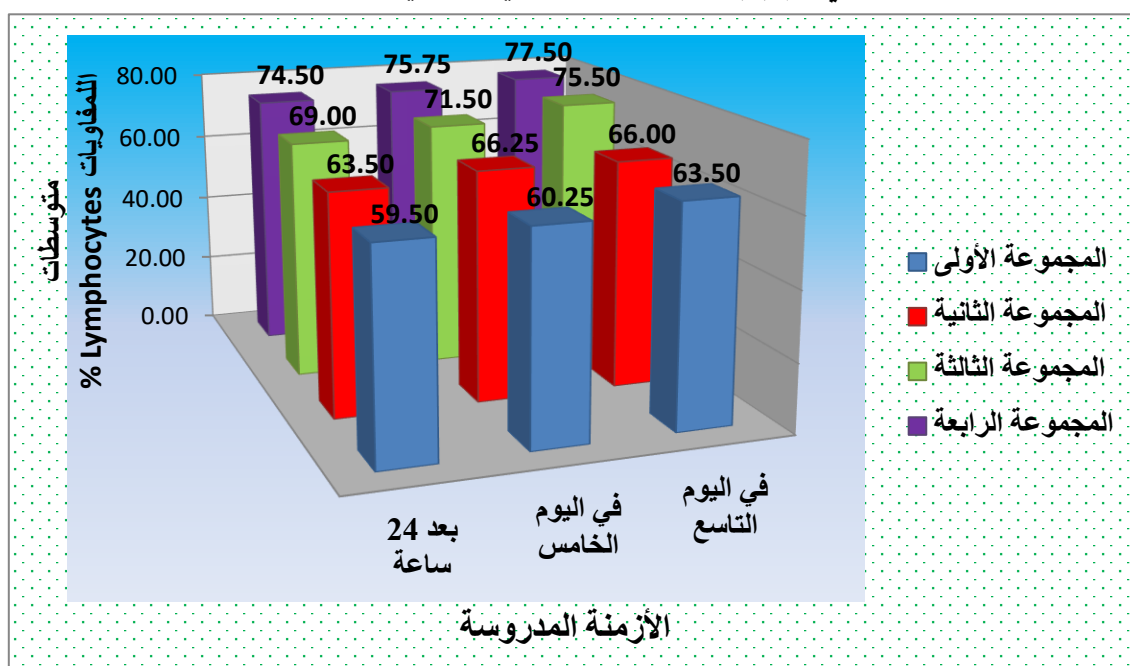
تشير النتائج في الجدول رقم (6) والمخطط البياني رقم (3) الى ارتفاع معنوي في متوسط تعداد اللمفاويات ($P \leq 0.05$) لدى المجموعات الثلاث التي أعطيت البروديفاكوم مقارنة مع مجموعة الشاهد، إذ كانت نسبة الارتفاع متفاوتة بين مجموعات التجربة، وبلغ أعلى متوسط لدى المجموعة الرابعة بعد 24 ساعة واستمر بالارتفاع في اليومين الخامس والتاسع على التوالي ($74.50-75.75-77.50\%$)، كما تبين النتائج وجود فروقات معنوية لدى المجموعة الأولى و الثالثة عند المقارنة ما بين متوسط تعداد اللمفاويات في الأزمنة الثلاث.

الجدول رقم (6): يوضح متوسط $\bar{x}$ تعداد اللمفاويات مقدراً ب(النسبة المئوية%)، والانحراف المعياري $\pm SD$ لدى مجموعات التجربة بعد 24 ساعة من الإعطاء، وفي اليومين الخامس و التاسع .

المعيار المدروس: اللمفاويات (Lymphocytes) مجالات القيم المرجعية: 60-70% (Jain, 1993)			مجموعات التجربة
بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم الخامس من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم التاسع (الآخر) من إعطاء البروديفاكوم	
$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	
^A 59.50 ^a ± 3.11	^{AC} 60.25 ^a ± 0.96	^{BC} 63.50 ^a ± 2.38	المجموعة الأولى (الشاهد)
^A 63.50 ^b ± 1.73	^A 66.25 ^b ± 1.26	^A 66.00 ^a ± 2.65	المجموعة الثانية
^A 69.00 ^c ± 1.41	^B 71.50 ^c ± 1.73	^C 75.50 ^b ± 0.71	المجموعة الثالثة
^A 74.50 ^d ± 1.73	^A 75.75 ^d ± 2.22	^A 77.50 ^b ± 0.71	المجموعة الرابعة

تدل الرموز a, b, c, d على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% في حال اختلافها ضمن نفس العمود، إذ اعتبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P \leq 0.05$)، أما الرموز A,B,C فتدل على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% عند المقارنة بين الأزمنة الثلاثة المدروسة في حال اختلافها ضمن نفس السطر وفي نفس المجموعة.

المخطط البياني رقم (3): متوسط النسب المئوية للمفاويات Lymphocytes



4-7-2- المستغيرات Heterophils:

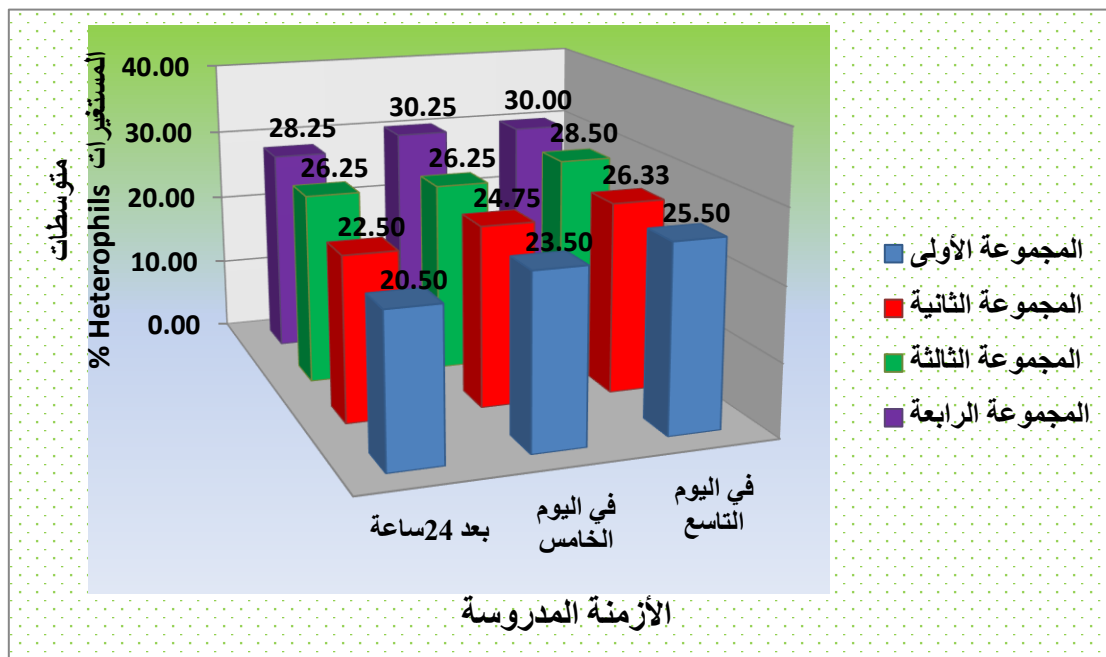
تشير النتائج في الجدول رقم (7) والمخطط البياني رقم (4) الى ارتفاع معنوي في متوسط تعداد المستغيرات ($P \leq 0.05$) لدى المجموعات الثلاث التي أعطيت البروديفاكوم مقارنة مع مجموعة الشاهد، إذ كانت نسبة الارتفاع متفاوتة بين مجموعات التجربة، وبلغ أعلى متوسط لدى المجموعة الرابعة بعد 24 ساعة واستمر بالارتفاع في اليومين الخامس والتاسع على التوالي (28.25-30.25-30.00%)، كما تبين النتائج وجود فروقات معنوية لدى المجموعات الأولى والثانية والثالثة عند المقارنة ما بين متوسط تعداد المستغيرات في أزمنة الإعطاء.

الجدول رقم (7): يوضح متوسط $\bar{x}$ تعداد المستغيرات مقدراً ب (النسبة المئوية %)، والانحراف المعياري $\pm SD$ لدى مجموعات التجربة بعد 24 ساعة من الإعطاء، وفي اليومين الخامس و التاسع .

المعيار المدروس: المستغيرات(Heterophils)			مجموعات التجربة
مجالات القيم المرجعية:20-30% (Jain, 1993)			
بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم الخامس من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم التاسع (الاخير) من إعطاء البروديفاكوم	
$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	
^A 20.50 ^a ±1.29	^B 23.50 ^a ±0.58	^B 25.50 ^a ±1.73	المجموعة الأولى (الشاهد)
^A 22.50 ^b ±1.29	^B 24.75 ^{ab} ±0.96	^B 26.33 ^{ab} ±0.58	المجموعة الثانية
^A 26.25 ^c ±0.96	^A 26.25 ^b ±1.26	^B 28.50 ^{bc} ±0.71	المجموعة الثالثة
^A 28.25 ^d ±0.96	^A 30.25 ^c ±1.50	^A 30.00 ^c ±1.41	المجموعة الرابعة

تدل الرموز a, b, c, d على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% في حال اختلافها ضمن نفس العمود، إذ اعتُبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P \leq 0.05$)، أما الرموز A,B,C فتدل على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% عند المقارنة بين الأزمنة الثلاثة المدروسة في حال اختلافها ضمن نفس السطر وفي نفس المجموعة.

المخطط البياني رقم (4): متوسط النسب المئوية للمستغيرات Heterophils



4-7-3- الحمضات Eosinophils:

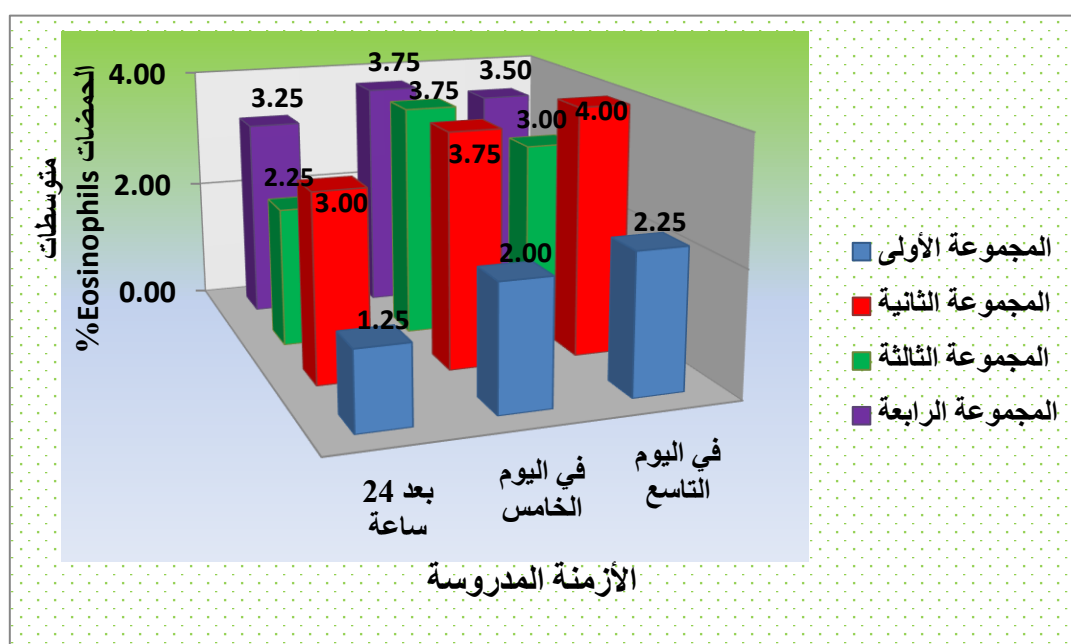
لم تلاحظ تغيرات واضحة في متوسط تعداد الحمضات كما هو موضح في الجدول رقم (8) والمخطط البياني رقم (5) إذ تشير الى وجود فروقات معنوية بسيطة في متوسط تعداد الحمضات لدى المجموعات التي أعطيت البروديفاكوم بعد 24 ساعة من الإغطاء وفي اليوم التاسع، كما تبين النتائج عدم وجود فروقات معنوية عند المقارنة ما بين متوسط تعداد الحمضات لدى مجموعات التجربة في الأزمنة الثلاث.

الجدول رقم (8): يوضح متوسط $\bar{x}$ تعداد الحمضات مقدراً ب(النسبة المئوية%)، والانحراف المعياري $\pm SD$ لدى مجموعات التجربة بعد 24 ساعة من الإغذاء، وفي اليومين الخامس و التاسع .

المعيار المدروس: الحمضات (Eosinophils)			مجموعات التجربة
مجالات القيم المرجعية: 2-3% (Jain, 1993)			
بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم الخامس من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم التاسع (الآخر) من إعطاء البروديفاكوم	
$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	
^B 2.25 ^a ±0.50	^{AB} 2.00 ^a ±0.82	^A 1.25 ^a ±0.50	المجموعة الأولى (الشاهد)
^A 4.00 ^b ±1.00	^A 3.75 ^a ±1.71	^A 3.00 ^b ±0.82	المجموعة الثانية
^A 3.00 ^{ab} ±1.41	^A 3.75 ^a ±1.26	^A 2.25 ^{ab} ±0.96	المجموعة الثالثة
^A 3.50 ^{ab} ±0.71	^A 3.75 ^a ±1.71	^A 3.25 ^b ±0.96	المجموعة الرابعة

تدل الرموز a, b, c, d على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% في حال اختلافها ضمن نفس العمود، إذ اعتبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P \leq 0.05$)، أما الرموز A,B,C فتدل على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% عند المقارنة بين الأزمنة الثلاثة المدروسة في حال اختلافها ضمن نفس السطر وفي نفس المجموعة.

المخطط البياني رقم (5): متوسط النسب المئوية للحمضات Eosinophils



4-7-4- الأسسات Basophiles:

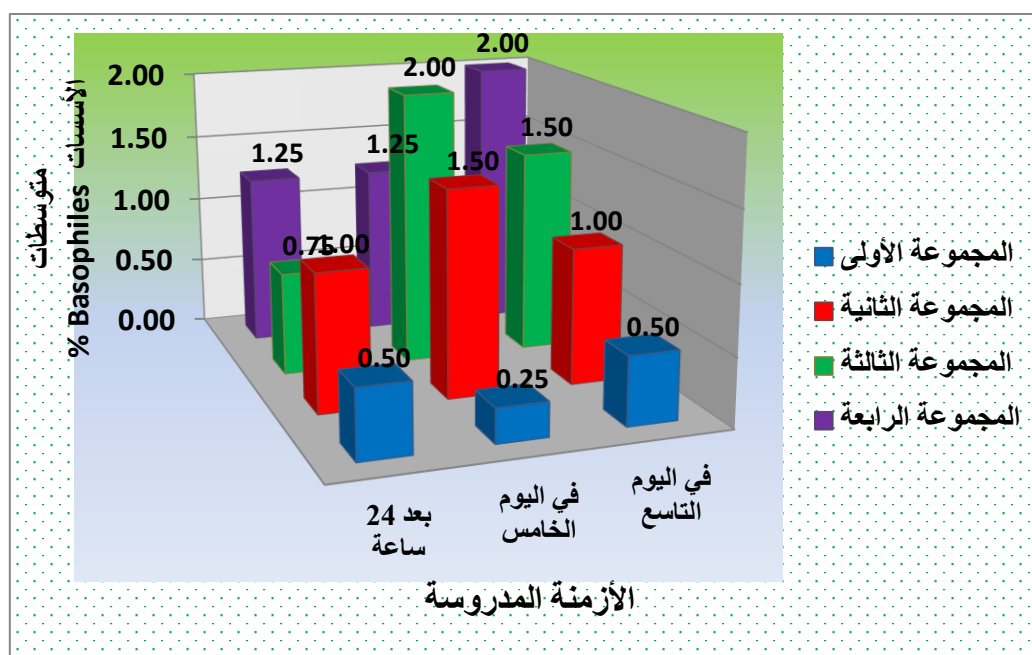
لم تلاحظ تغيرات واضحة في متوسط تعداد الأسسات كما هو موضح في الجدول رقم (9) والمخطط البياني رقم (6) إذ تشير الى عدم وجود فروقات معنوية في متوسط تعداد الأسسات لدى المجموعات التي أعطيت البروديفاكوم بعد 24 ساعة من الإعطاء، ووجود فروقات معنوية بسيطة في اليومين الخامس والتاسع، كما تبين النتائج وجود فروقات معنوية لدى المجموعة الثالثة عند المقارنة ما بين متوسط تعداد الأسسات لدى مجموعات التجربة في الأزمنة الثلاث.

الجدول رقم (9): يوضح متوسط $\bar{x}$ تعداد الأسسات مقدراً بـ (النسبة المئوية%)، والانحراف المعياري $\pm SD$ لدى مجموعات التجربة بعد 24 ساعة من الإعطاء، وفي اليومين الخامس و التاسع .

المعيار المدروس: الأسسات (Basophiles)			مجموعات التجربة
مجالات القيم المرجعية: 1-0% (Jain, 1993)			
بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم الخامس من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم التاسع (الآخر) من إعطاء البروديفاكوم	
$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	
$^{A}0.50^{a} \pm 0.58$	$^{A}0.25^{a} \pm 0.50$	$^{A}0.50^{a} \pm 0.58$	المجموعة الأولى (الشاهد)
$^{A}1.00^{ab} \pm 0.00$	$^{A}1.50^{b} \pm 0.58$	$^{A}1.00^{a} \pm 0.82$	المجموعة الثانية
$^{AB}1.50^{bc} \pm 0.71$	$^{B}2.00^{b} \pm 0.82$	$^{A}0.75^{a} \pm 0.50$	المجموعة الثالثة
$^{A}2.00^{c} \pm 0.00$	$^{A}1.25^{b} \pm 0.50$	$^{A}1.25^{a} \pm 1.50$	المجموعة الرابعة

تدل الرموز a, b, c, d على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% في حال اختلافها ضمن نفس العمود، إذ اعتبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P \leq 0.05$)، أما الرموز A,B,C فتدل على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% عند المقارنة بين الأزمنة الثلاثة المدروسة في حال اختلافها ضمن نفس السطر وفي نفس المجموعة.

المخطط البياني رقم (6): متوسط النسب المئوية للأسسات Basophiles



4-7-5- الوحيدات Monocytes:

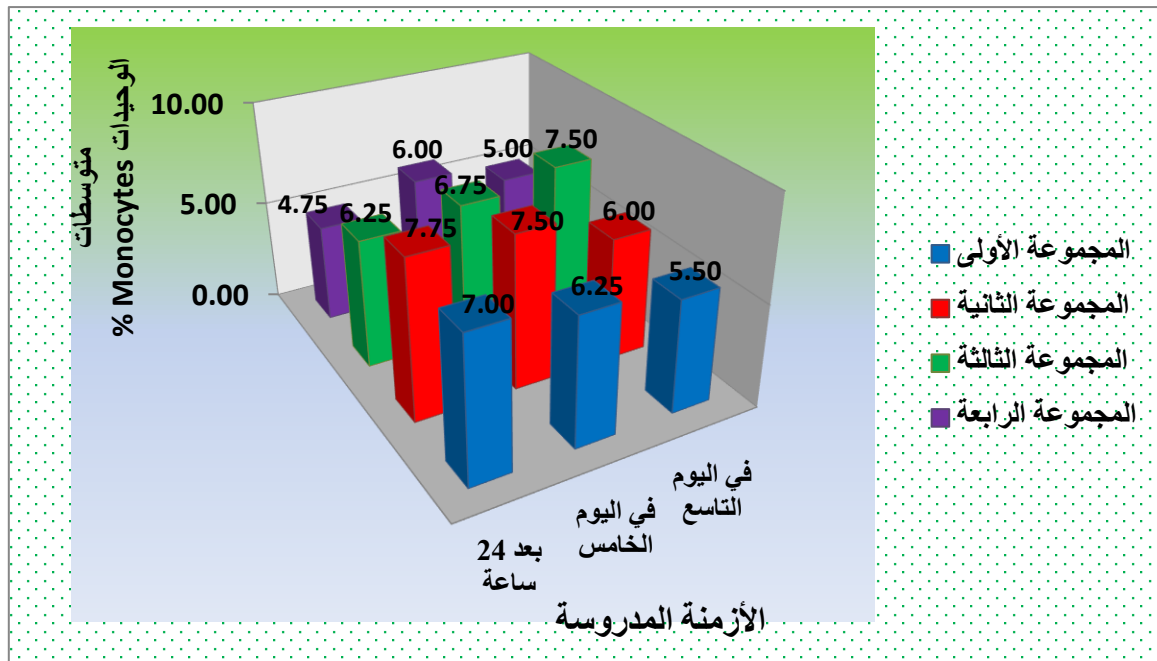
لم تلاحظ تغيرات واضحة في متوسط تعداد الوحيدات كما هو موضح في الجدول رقم (10) والمخطط البياني رقم (7) إذ تشير الى وجود فروقات معنوية بسيطة في متوسط تعداد الوحيدات لدى المجموعات التي أعطيت البروديفاكوم بعد 24 ساعة من الإعطاء، كذلك عدم وجود فروقات معنوية في اليومين الخامس والتاسع، كما تبين النتائج وجود فروقات معنوية لدى المجموعة الثانية عند المقارنة ما بين متوسط تعداد الوحيدات لدى مجموعات التجربة في الأزمنة الثلاث.

الجدول رقم (10): يوضح متوسط $\bar{x}$ تعداد الوحيدات مقدراً ب(النسبة المئوية %)، والانحراف المعياري $\pm SD$ لدى مجموعات التجربة بعد 24 ساعة من الإعطاء، وفي اليومين الخامس و التاسع .

المعيار المدروس: الوحيدات(Monocytes)			مجموعات التجربة
مجالات القيم المرجعية:10-5%(Jain, 1993)			
بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم الخامس من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم التاسع (الاخير) من إعطاء البروديفاكوم	
$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	
^A 7.00 ^{ac} ±0.82	^A 6.25 ^a ±1.50	^A 5.50 ^a ±1.29	المجموعة الأولى (الشاهد)
^A 7.75 ^{ba} ±0.96	^{AB} 7.50 ^a ±1.00	^B 6.00 ^a ±1.00	المجموعة الثانية
^A 6.25 ^c ±0.96	^A 6.75 ^a ±1.50	^A 7.50 ^a ±2.12	المجموعة الثالثة
^A 4.75 ^d ±0.96	^A 6.00 ^a ±0.82	^A 5.00 ^a ±1.41	المجموعة الرابعة

تدل الرموز a, b, c, d على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% في حال اختلافها ضمن نفس العمود، إذ اعتُبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P \leq 0.05$)، أما الرموز A,B,C فتدل على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% عند المقارنة بين الأزمنة الثلاثة المدروسة في حال اختلافها ضمن نفس السطر وفي نفس المجموعة.

المخطط البياني رقم (7): متوسط النسب المئوية للوحيدات Monocytes



4-8- تأثير البروديفاكوم في عدد الصفائح الدموية:

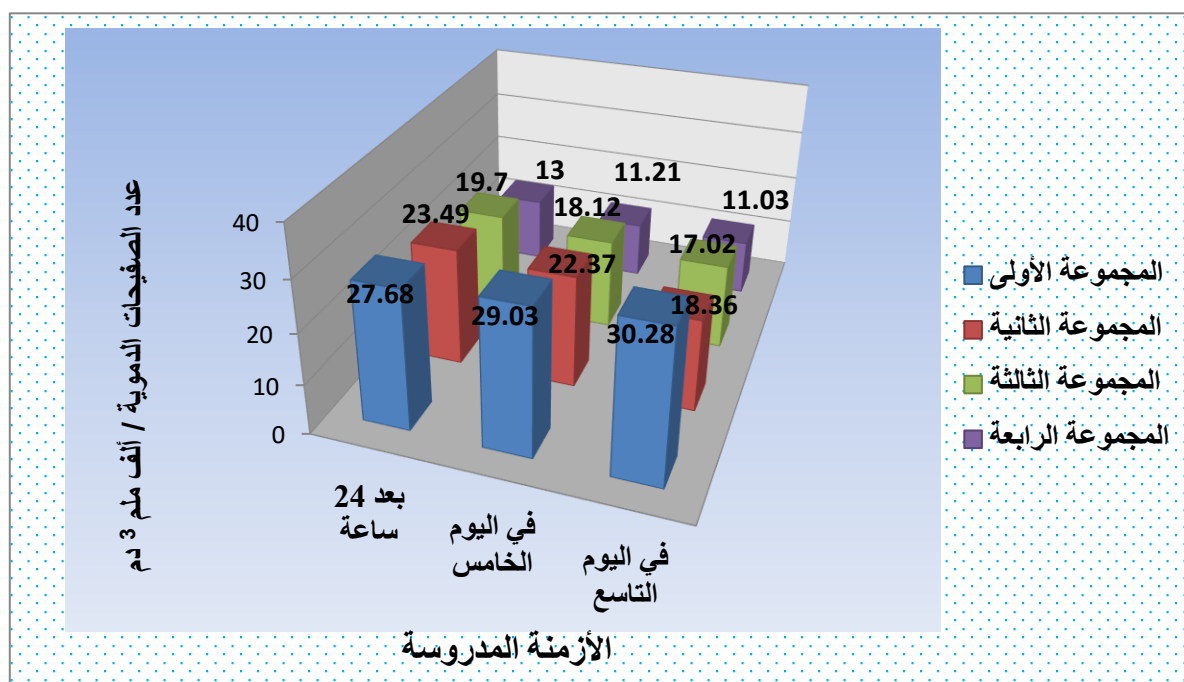
تشير النتائج في الجدول رقم (11) والمخطط البياني رقم (8) الى انخفاض معنوي في متوسط تعداد الصفائح الدموية ($P \leq 0.05$) لدى المجموعات الثلاث التي أعطيت البروديفاكوم مقارنة مع الشاهد، وبلغ أخفض متوسط لدى طيور المجموعة الرابعة بعد 24 ساعة من الإغذاء (13 ألف صفيحة/ملم³ دم)، واستمر بالانخفاض بين المجموعات في اليومين الخامس والتاسع من التجربة وبلغ أقل متوسط لدى المجموعة الرابعة (11.03-11.21 ألف صفيحة/ملم³ دم) على التوالي، كما تشير النتائج الى وجود فروقات معنوية عند المقارنة ما بين متوسط تعداد الصفائح الدموية لدى مجموعات التجربة في الأزمنة الثلاث.

الجدول رقم (11): يوضح متوسط $\bar{x}$ قيم العدد الكلي للصفائح الدموية (PLT) مقدراً بـ (ألف صفيحة/ملم³ دم)، والانحراف المعياري $\pm SD$ لدى مجموعات التجربة بعد 24 ساعة من الإغذاء، وفي اليومين الخامس و التاسع .

المعيار المدروس: العدد الكلي للصفائح الدموية (PLT)			مجموعات التجربة
مجالات القيم المرجعية: 20-30 ألف صفيحة/ملم ³ دم (Jain, 1993)			
بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم الخامس من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم التاسع (الاخير) من إعطاء البروديفاكوم	
$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	
^A 27.68 ^a ±0.62	^B 29.03 ^a ±0.17	^C 30.28 ^a ±0.63	المجموعة الأولى (الشاهد)
^A 23.49 ^b ±0.47	^B 22.37 ^b ±0.33	^C 18.36 ^b ±0.34	المجموعة الثانية
^A 19.70 ^c ±0.34	^B 18.12 ^c ±0.26	^C 17.02 ^c ±0.28	المجموعة الثالثة
^A 13 ^d ±0.17	^B 11.21 ^d ±0.21	^B 11.03 ^d ±0.0.27	المجموعة الرابعة

تدل الرموز a, b, c, d على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% في حال اختلافها ضمن نفس العمود، إذ اعتبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P \leq 0.05$)، أما الرموز A,B,C فتدل على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% عند المقارنة بين الأزمنة الثلاثة المدروسة في حال اختلافها ضمن نفس السطر وفي نفس المجموعة.

المخطط البياني رقم (8): تعداد الصفائح الدموية (PLT)



4-8- تأثير البروديفاكوم في مكداس الدم (Hematocrit):

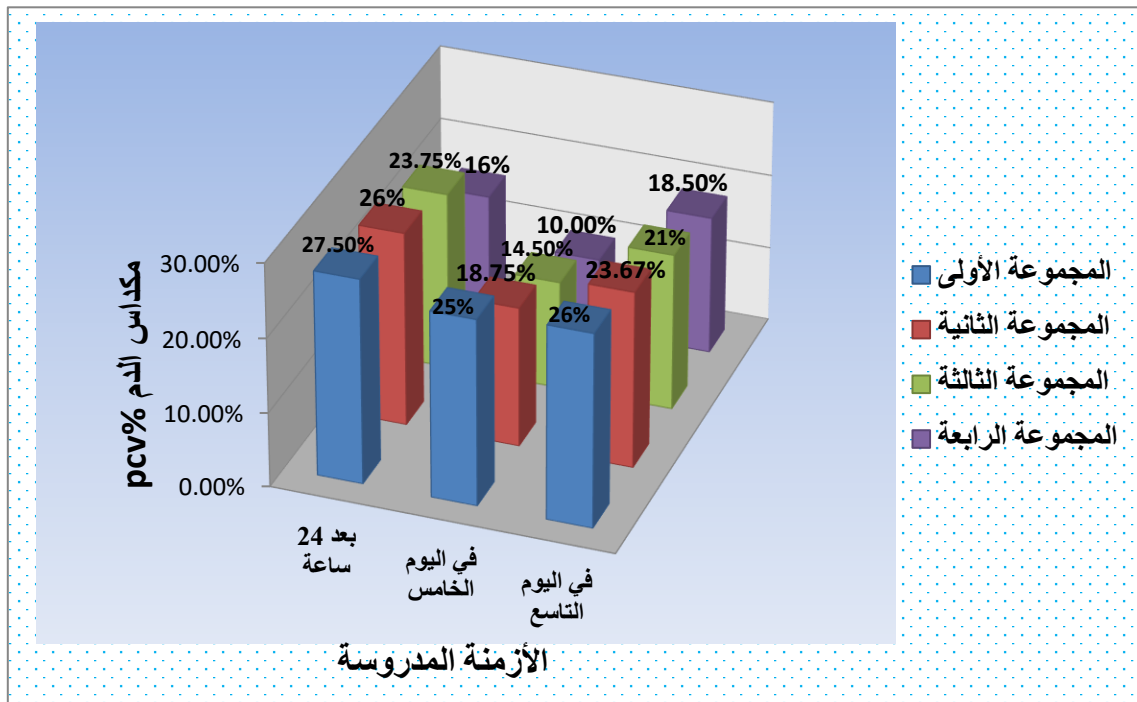
تشير النتائج في الجدول رقم (12) والمخطط البياني رقم (9) الى انخفاض معنوي في متوسط قيم مكداس الدم ($P \leq 0.05$) لدى المجموعات التي أعطيت البروديفاكوم بعد 24 ساعة من الإعطاء، واستمر متوسط مكداس الدم بالانخفاض لدى مجموعات التجربة في اليومين الخامس و التاسع من التجربة بالمقارنة مع مجموعة الشاهد، وبلغت أقل قيمة لدى المجموعة الرابعة وتحديداً في اليوم الخامس بعد إعطاء البروديفاكوم (10%)، كما بينت النتائج وجود فروقات معنوية عند المقارنة ما بين متوسط مكداس الدم لدى مجموعات التجربة في الأزمنة الثلاث.

الجدول رقم (12): يوضح متوسط $\bar{x}$ قيم مكداس الدم (PCV) مقدراً ب(النسبة المئوية%)، والانحراف المعياري $\pm SD$ لدى مجموعات التجربة بعد 24 ساعة من الإعطاء، وفي اليومين الخامس و التاسع .

المعيار المدروس: مكداس الدم (Hematocrit)(PCV)			مجموعات التجربة
مجالات القيم المرجعية: 22-35 % (Jain, 1993)			
بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم الخامس من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم التاسع (الخير) من إعطاء البروديفاكوم	
$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	
^A 27.5 ^a ±0.58	^B 25 ^a ±0.82	^B 26 ^a ±0.82	المجموعة الأولى (الشاهد)
^A 26 ^a ±0	^B 18.75 ^b ±0.50	^C 23.67 ^b ±0.58	المجموعة الثانية
^A 23.75 ^b ±1.89	^B 14.50 ^c ±0.58	^C 21 ^c ±0	المجموعة الثالثة
^A 16 ^c ±1.41	^B 10 ^d ±1.16	^A 18.50 ^d ±0.71	المجموعة الرابعة

تدل الرموز a, b, c, d على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% في حال اختلافها ضمن نفس العمود، إذ اعتُبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P \leq 0.05$)، أما الرموز A,B,C فتدل على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% عند المقارنة بين الأزمنة الثلاثة المدروسة في حال اختلافها ضمن نفس السطر وفي نفس المجموعة.

المخطط البياني رقم (9): متوسط النسبة المئوية لمكداس الدم (PCV)



4-9- تأثير البروديفاكوم في زمن التخثر:

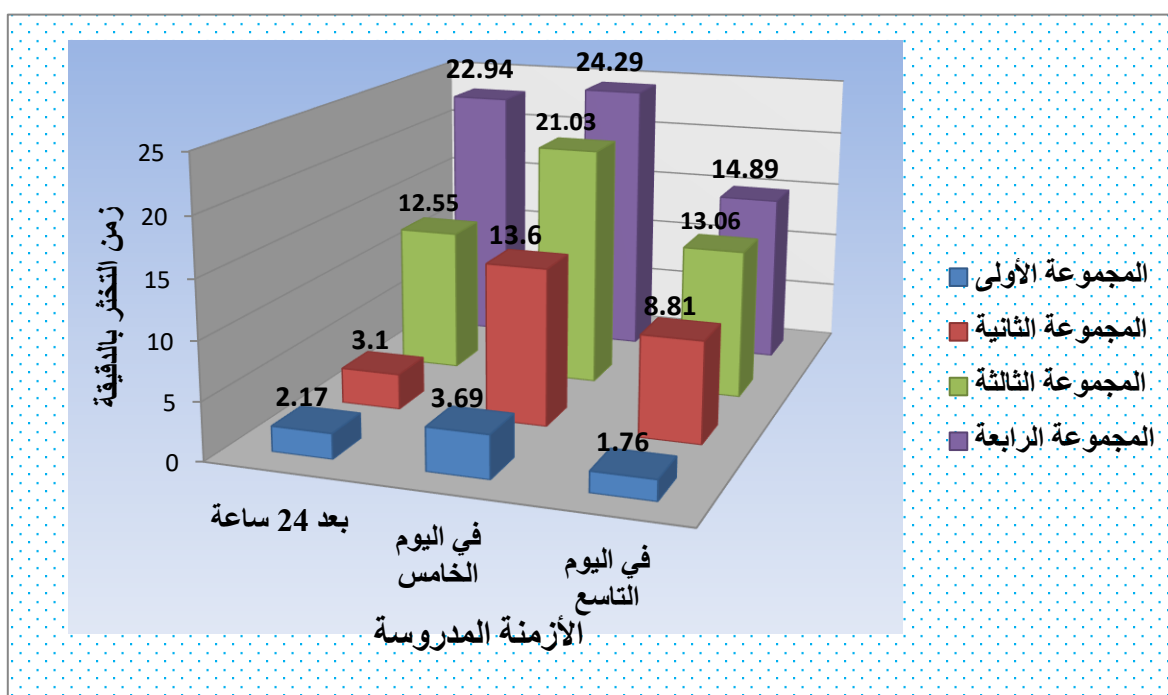
تشير النتائج في الجدول رقم (13) والمخطط البياني رقم (10) الى ارتفاع معنوي في زمن تخثر الدم (CT) ($P \leq 0.05$) لدى المجموعات التي أعطيت البروديفاكوم بعد 24 ساعة من الإعطاء، واستمر متوسط زمن التخثر بالارتفاع لدى مجموعات التجربة في اليومين الخامس و التاسع من التجربة بالمقارنة مع مجموعة الشاهد، وبلغت أعلى قيمة لدى المجموعة الرابعة وتحديداً في اليوم الخامس بعد إعطاء البروديفاكوم (24.29 دقيقة)، كما بينت النتائج وجود فروقات معنوية عند المقارنة ما بين متوسط زمن الخثر لدى مجموعات التجربة في الأزمنة الثلاث.

الجدول رقم (13): يوضح متوسط $\bar{x}$ قيم زمن تخثر الدم (CT) مقدراً ب (الدقيقة)، والانحراف المعياري $\pm SD$ لدى مجموعات التجربة بعد 24 ساعة من الإغذاء، وفي اليومين الخامس و التاسع .

المعيار المدروس: زمن تخثر الدم (CT)			مجموعات التجربة
مجالات القيم المرجعية: 15-2 دقيقة (Jain, 1993)			
بعد 24 ساعة من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم الخامس من إعطاء البروديفاكوم	في اليوم التاسع (الآخر) من إعطاء البروديفاكوم	
$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	
^A 2.17 ^a ±0.12	^B 3.69 ^a ±1.02	^A 1.76 ^a ±0.37	المجموعة الأولى (الشاهد)
^A 3.10 ^a ±0.53	^B 13.60 ^b ±1.67	^C 8.81 ^b ±1.03	المجموعة الثانية
^A 12.55 ^b ±0.50	^B 21.04 ^c ±0.84	^A 13.06 ^c ±0.08	المجموعة الثالثة
^A 22.94 ^c ±1.07	^A 24.29 ^d ±1.34	^B 14.89 ^d ±0.58	المجموعة الرابعة

تدل الرموز a, b, c, d على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% في حال اختلافها ضمن نفس العمود، إذ اعتبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P \leq 0.05$)، أما الرموز A,B,C فتدل على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% عند المقارنة بين الأزمنة الثلاثة المدروسة في حال اختلافها ضمن نفس السطر وفي نفس المجموعة.

المخطط البياني رقم (10): متوسط قيم زمن تخثر الدم (CT)



الفصل الخامس

المناقشة

Discussion

5- المناقشة Discussion:

5-1- الأعراض المرضية الظاهرة (قبل الذبح):

أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى ظهور الأعراض المرضية لدى جميع طيور مجموعات التجربة بعد 24 ساعة من تناول البروديلاكوم، ويمكن تفسير سرعة ظهور الأعراض إلى الامتصاصية العالية والسريعة للبروديلاكوم بعد الابتلاع (Vandenbroucke *et al.*, 2008). كذلك قدرته على الارتباط بخلايا الكبد وتخریب وظائفه خلال 24 ساعة بعد تناول جرعة واحدة (Bachman & Sulliran, 1983).

وجد الباحثين (Đpakauskas *et al.*, 2005) و (Gül *et al.*, 2016) في دراساتهم لدى الفئران والجرذان نتائج مشابهة فيما يتعلق بسرعة ظهور الأعراض إذ ظهرت خلال 24-36 ساعة، في حين خالفت نتائجنا هذه نتائج الباحث (Fisher, 2009) في دراسته لدى الدجاج البياض المعرض للبروديلاكوم بجرعة 0.50 ملغ/كغ وبعمر 22-24 أسبوع، إذ كانت الأعراض غامضة وبدون أي علامات تسمم أو نزيف واضح على مدى 14 يوم، وهي جرعة منخفضة مقارنة بالجرعات المُعطاة في دراستنا.

ظهرت الأعراض بدايةً على شكل خمول، وانخفاض في الشهية. إن ظهور مثل هذه الأعراض قد يعود لتأثير البروديلاكوم بشكل أساسي على الكبد الذي يلعب دوراً رئيساً في إزالة السموم، لذا يمكننا القول إن البروديلاكوم يقلل من كفاءة الكبد في القيام بوظائفه مما يؤدي إلى حدوث اضطرابات فيزيولوجية في الجسم تسبب الخمول وانخفاض أو فقدان الشهية، ويدعم ذلك ما وجدناه عند دراسة التغيرات التشريحية المرضية التي أحدثها البروديلاكوم في أكباد الطيور.

شوهدت الاضطرابات العصبية والارتعاشات العضلية لدى طيور مجموعات التجربة الثلاث، والتي تُعزى إلى السمية العصبية للبروديلاكوم وتأثيره على تخليق فيتامين K في الكبد الذي يعد ضرورياً لعمل الدماغ ويعمل كعامل مساعد للكربوكسيل في إنزيم غاما غلوتاميل سستئين (GGC) المسؤول عن فيزيولوجيا الخلايا العصبية والخلايا الدبقية في المخ، وتكوين النخاعين ثم تأثيره على عملية التوازن (Eckhardt, 2008; Ferland, 2012; Marangoni *et al.*, 2016).

لوحظت الأعراض المرضية بدءاً من اليوم الرابع وحتى نهاية التجربة في اليوم التاسع بشكل أساسي على هيئة نزف في العين والأذن وتحت الجلد لاسيما في منطقة تحت جلد الجناح والرقبة والصدر، وازدادت شدتها وابتدت أكثر وضوحاً بازدياد الجرعة ومع مرور الوقت، يمكن تفسير حدوث النزف بتأثير

البروديفاكوم على الشعيرات الدموية إذ يزيد نفاذيتها (Eckhardt, 2008) ثم يتسرب الدم من الأوعية الدموية محدثاً النزيف الداخلي، إضافة لذلك يمكن تفسير النزوف المشاهدة عياناً عبر قدرة البروديفاكوم السريعة على الارتباط بخلايا الكبد مُسبباً تخریبها إذ تُصنع الغالبية العظمى لعوامل التخثر فيها (Oldenburg et al., 2006; Weitz, 2011). كما يُفسر تأخر ظهور النزف بعد اليوم الثالث؛ باعتبار أن تعطيل عملية تخثر الدم تتم عندما تنخفض تراكيز عوامل التخثر الوظيفية إلى ما دون العتبة الحرجة (Hadler & Shadbolt, 1975)، على نحو عام تحتاج مضادات التخثر من الجيل الثاني لعدة أيام لتحدث تأثيرها على عوامل التخثر التي تُصنع وليس تلك المصنعة سلفاً. كذلك قد يعود تأخر ظهور العلامات المرضية لاعتلال التخثر Thrombopathy بالبروديفاكوم إلى الاختلاف في موقع وشدة النزف الحاصل وهذا ما أكدته (Declementi & Sobczak, 2012).

يؤدي النزف الشديد لانخفاض حجم الدم في الجسم على نحو كبير؛ بسبب عدم القدرة على تعويض الدم المفقود واضطراب عملية تخثر الدم وعاقبتها كل ذلك سوف يؤدي إلى الصدمة الدموية الناتجة عن فقدان حجم الدم ومن ثم فقدان الوعي والنفوق، وهذا يفسر النفوق المشاهد لدى أربعة من طيور التجربة في اليومين الرابع والخامس، أما بالنسبة لنفوق طائر واحد بعد 24 ساعة في المجموعة التي أُعطيت 9 ملغ/كغ من البروديفاكوم؛ قد يعود إلى صدمة الألم العصبية التي أحدثتها الجرعة العالية من البروديفاكوم. اختلفت نتائجنا هذه مع ما جاءت به نتائج الباحث (Bailey et al., 2005) إذ كانت نسبة النفوق 100% في عشر دجاجات أُعطيت 3 ملغ/كغ بروديفاكوم 0.002% عن طريق الحقن. يمكننا القول إن هذه الاختلافات في ظهور الأعراض وسرعتها ونسبة النفوق؛ قد تعود للاختلاف في نوع الحيوان والعمر إضافة إلى كمية وتركيز السم وطريقة التعرض.

5-2- التغيرات التشريحية المرضية:

5-2-1- الكبد:

أظهرت نتائج هذه الدراسة وجود تغيرات مرضية عيانية مهمة في أكباد طيور مجموعات التجربة بعد إعطاء البروديفاكوم والتي تمثلت باضطرابات في اللون إذ ظهر الشحوب في حواف الكبد إضافة إلى اللون الأصفر الذي قد يعود إلى ما شاهدناه في هذه الدراسة من تغيرات نسيجية شملت التورم الغيمي والتكس المائي والدهني في الخلايا الكبدية مما ينعكس على لون الكبد، أما اللون الأحمر الداكن فقد يكون ناتجاً عن النزف تحت محفظة الكبد أو احتقان الأوردة الناتج عن تراكم الدم على نحو سلبي داخل

الأوردة واحتقان الجيبانات الدموية وذلك ما بينته نتائجنا النسيجية. كذلك لوحظت تغيرات في الشكل والقوام، إذ بدى الكبد متضخماً وازداد حجمه لدى طيور المجموعة الرابعة بعد 24 ساعة من الإعطاء، وازداد التضخم في اليومين الخامس والتاسع لدى المجموعات الثلاث؛ قد يعود هذا التضخم إلى التتسكس المائي والشحمي الملاحظ في دراستنا، ويمكن أن تعود هشاشة الكبد الملاحظة في هذه الدراسة في اليوم التاسع من التجربة إلى السمية الكبدية للبروديلاكوم وما يسببه من تخرب في خلاياه.

قد تعزى التغيرات الشكلية في الكبد إلى التأثير السام المباشر لمشتقات 4-هيدروكسي كومارين على الكبد، إذ يتميز الحيل الثاني من مبيدات القوارض المضادة للتخثر بالتراكم والبقاء لفترة طويلة في الكبد (Erickson & Urban, 2004).

أما من الناحية المجهرية، فإن البروديلاكوم أحدث العديد من التغيرات النسيجية التي ترافقت مع التغيرات العيانية السابقة في الكبد، وكان أبرزها احتقان الجيبانات والأوعية الدموية، إضافة للتغيرات التتسكية في الخلايا الكبدية لاسيما حول المسافات البابية وذلك لوصول المادة عبرها أولاً مع الدم القادم من الأمعاء عبر الوريد البابي، كذلك حول الأوردة المركزية بسبب قلة الأوكسجين في هذه المنطقة.

شملت التغيرات التتسكية التورم الغيمي والتتسكس المائي بدرجات مختلفة لدى المجموعتين الثالثة والرابعة بعد 24 ساعة من الإعطاء والذي ازداد في اليومين الخامس والتاسع.

إضافة للتتسكس المائي والدهني ونخر بعض الخلايا الكبدية والذي بدى أكثر وضوحاً في اليومين الخامس والتاسع لدى المجموعات الثلاث لاسيما المجموعة الرابعة، يُعد التتسكس الدهني في الكبد استجابة شائعة تُلاحظ مع مجموعة متنوعة من المواد السامة للكبد (Treinen-moslen, 2001) ويمكن أن يؤدي النزف الحاصل إلى نقص أكسجة وحدوث اضطرابات استقلابية والذي يعد أحد أهم مسببات التتسكس الدهني كما وجدنا في دراستنا.

يُعتقد أن سبب حدوث مثل هذه التغيرات المرضية التتسكية والنخرية في خلايا الكبد؛ يعود لعمل مبيدات الآفات كمادة مؤكسدة تُحدث تأثيراتها في أعضاء متعددة للكائنات الحية ومنها الكبد (Limón -Pacheco & Gonsebatt, 2009)، إذ تتميز مبيدات الآفات بألفتها للدهون والقدرة على التراكم في الأغشية الخلوية مما يؤدي إلى تحفيز إنتاج مركبات الأوكسجين التفاعلي "ROS" Reactive oxygen species وتقليل نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة مثل: الغلوتاثيون بيروكسيداز (GPX)، فوق الأكسيد ديسميوتاز (SOD) Superoxide dismutase مما يؤدي إلى تحريض الاجهاد التأكسدي وهذا ما فسره (Ragab et al., 2019) و (Ware et al., 2015).

كذلك يمكن أن تعود التغيرات الخلوية الكبدية إلى تأثير البروديلاكوم على مستويات سلسلة نقل الإلكترون في الميتوكوندريا، واستقلاب الجلوكوز والاحماض الامينية، وضعف عزل Ca^{2+} الميتوكوندريا مما يؤدي إلى استنفاد موارد الطاقة الخلوية (Yan et al., 2016)، كذلك يتسبب جزيء برومو البنزين في البروديلاكوم في فك اقتران الفسفرة التأكسدية للميتوكوندريا ثم إثارة الاجهاد التأكسدي عن طريق مستقبلات مجموعة البروم والتي تتأين إلى أيون بروميد يُطلق بعد امتصاص البروديلاكوم في الجهاز الهضمي ثم يتحول أيون البروميد إلى بروميد النتروز أو حمض البروموس Hypobromous المعروف بأنه يؤثر على وظائف الميتوكوندريا والتي قد يكون لها دور في زيادة توليد أنواع الأكسجين التفاعلي مما يؤدي إلى تشكل بيروكسيد الدهون وتغيير التوازن التأكسدي (مضادات الأكسدة) مؤدياً إلى زيادة الاجهاد التأكسدي (Maellaro et al., 1990).

أظهرت نتائج الفحوص المجهرية في هذه الدراسة تخرّباً في بطانة الأوردة المركزية والكبدية؛ قد يشير هذا التغيير إلى تلف بطاني وإجهاد الأوعية الدموية نتيجة التعرض للبروديلاكوم، وازداد ارتشاح خلايا كوبفر Kupffer Cells وبدأت واضحة، قد تعزى هذه الزيادة إلى زيادة النشاط البلعمي للخلايا الجيبية كآلية دفاع لإزالة السموم وبقايا الحطام الخلوي إذ تقوم الجسيمات الحالة داخل الخلايا في حالات التتسكس والنخر بتكوين منتجات استقلابية، أو قد يكون استجابة الكبد للإجهاد التأكسدي وهذا مافسره الباحث (Neyrinck, 2004).

ترافقت التغيرات التنكسية والنخرية في نتائجنا برد فعل التهابي حاد من المستغيرات والبلاعم واللمفاويات لاسيما حول المسافات البابية والأوردة المركزية؛ قد يشير ظهور الخلايا الالتهابية في الأنسجة الكبدية إلى إمكانية تفاعل البروديلاكوم مع بروتينات وأنزيمات النسيج الخلوي الكبدي التي تتداخل مع آلية الدفاع عن مضادات الأكسدة وتؤدي إلى توليد أنواع الأكسجين التفاعلي (ROS) والتي بدورها قد تحاكي الاستجابة الالتهابية (Johar et al., 2004)، كما يعود ذلك لاعتبار أن مناطق النخر عادةً تحاط برد فعل التهابي من الكريات البيض لاسيما المستغيرات واللمفاويات والبلاعم كآلية دفاعية للحد من النخر، إن تسلل الخلايا الالتهابية في النسيج الكبدي قد يكون ناتجاً عن استجابة الجهاز الشبكي البطاني لمبيد القوارض وهذا ما أشار إليه كذلك الباحث (El-Banhawy et al., 1993). كما يحرض الإجهاد التأكسدي زيادة التعبير عن أنزيمات الأكسدة الحلقية Cyclooxygenase (COX) وأنزيمات أكسدة الدهون Lipooxygenase (LOX) مما يؤدي لزيادة افراز الوسائط الالتهابية التي تعمل على تحفيز هجرة المستغيرات والبلاعم الى موقع الالتهاب (Ragab et al., 2019).

تماثلت نتائج الفحص النسيجي لعينات الكبد في دراستنا مع نتائج عدد من الدراسات الحديثة (Zowail et al., 2019)، (Gül et al., 2016)، (Ragab et al., 2019) لتأثير البروديفاكوم لدى الفئران.

5-2-2- الكلى:

أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود تغيرات عيانية في الكلى لدى طيور مجموعات التجربة بعد تناول البروديفاكوم وتعد هذه التغيرات دليلاً على التأثير السام الجوهري الذي يحدثه البروديفاكوم لدى كلى مجموعات التجربة، والتي تمثلت بتضخم فصوص الكلى لاسيما الفصوص الأمامية، إضافة للاحتقان والنزف بعد 24 ساعة وفي اليوم التاسع من التجربة، ولوحظ تغير لوني بشكل شحوب لدى كلى طيور المجموعتين الثالثة والرابعة في اليوم الخامس من إعطاء البروديفاكوم، ازدادت شدة هذه التغيرات بزيادة كل من الجرعة ومرور الزمن.

تعزى هذه التغيرات العيانية في الكلية إلى السمية الكلوية التي يسببها البروديفاكوم وتأثيره على النبيبات الكلوية أثناء إطراره وهذا ما أكده الباحث (Yan et al., 2016)، ويمكن أن يكون هذا التأثير ناتجاً عن نقص تروية الكلية لاسيما بعد النزف الحاصل أو إلى التتسكس والنخر الكلوي كما يظهر في العينات النسيجية.

تبين لدى دراسة التغيرات النسيجية المجهرية الكلوية إحداث البروديفاكوم للعديد من التغيرات التشريحية المرضية، مثل التتسكس المائي والنخر في ظهارة النبيبات والكبيبات الكلوية وبعض القنوات الجامعة، كما لوحظ رد فعل التهابي حاد تمثل بزيادة المستغيرات وبعض اللمفاويات. ازدادت شدة هذه التغيرات بازدياد كل من الجرعة ومرور الوقت مما ينعكس على التغيرات العيانية للأحشاء الداخلية.

يحدث التتسكس والنخر النسيبي على نحو رئيس بسبب السموم الخارجية التي تتداخل مع الوظيفة الطبيعية للكلى وحوالي 20-25% من إجمالي كمية السموم المنتشرة تصل إلى الكبد الكلوية، لذا تعد من الأعضاء المهمة المتأثرة بالمواد السامة أيضاً (Zager, 1997; Rattner et al., 2020).

أكد الباحث (Ware et al., 2015) تأثر الكلية بسمية البروديفاكوم وإن ارتباط مثل هذه المواد ذات السمية الكيميائية الموجودة في البروديفاكوم يقلل من القدرة الإطراحية للكلى ثم يؤدي إلى عدم توازن الكهارل في الجسم كما يؤدي استمرار التتسكس الحاد في النبيبات في النهاية إلى الفشل الكلوي والنفوق.

أن التأثيرات الكلوية لمضادات التخثر قد تكون ناتجة عن الاجهاد التأكسدي إذ تزيد مضادات تخثر الدم من أكسدة الدهون في أنسجة الكلى محدثة التلف الخلوي وهذا ما أكده الباحث (Ware et al., 2013) في دراسته لكلى الفئران المعالجة بمضادات التخثر. إن مصادر الاجهاد التأكسدي غير معروفة حتى الآن، وأحد الاحتمالات انها تتم بوساطة ذرة البروم الموجودة في الوارفارين، لذا إن جزيء برومو البنزين في البروديلاكوم قد يحدث تأثيرات مشابهة ومن المعروف أن برومو البنزين مثبط قوي للمتقدرات (Schnellmann et al., 1987; Maellaro et al., 1990)، مما يؤدي أيضاً لإثارة الإجهاد

التأكسدي كما فسرناه سلفاً في التغيرات الخلوية في نسيج الكبد.

أظهرت نتائج الفحوص المجهرية في دراستنا تغيرات وعائية ظهرت على شكل احتقان الشعيرات الدموية بين النبيبات لدى المجموعة الثانية بعد 24 ساعة من الإعطاء وازداد الاحتقان والنزف بين النبيبات وضمن لمعتها ولمعة القنوات الجامعة في اليومين الخامس والتاسع لدى المجموعات الثلاث؛ قد يعود هذا النزف إلى النخر الحاصل في جدار النبيبات الكلوية واحتقان الشعيرات الدموية المحيطة بها مما يؤدي لزيادة نفاذية جدرانها ووصول خلايا الدم الحمر إلى داخل اللمعة.

وُجِدَت نتائج مُشابهة لدى الباحث (Ware et al., 2015) في دراسته لتأثير البروديلاكوم في كلى الجرذان بالنسبة لتتسكس ونخر ظهارة النبيبات الكلوية الدانية وارتشاح خلايا الدم الحمر إلى داخل لمعة النبيبات.

5-3- التغيرات الدموية:

أظهرت نتائج الدراسة الحالية تغيرات معنوية ($P \leq 0.05$) في معدل المعايير الدموية تمثلت بانخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في تعداد خلايا الدم الحمر TRBCs؛ يعود سبب هذا الانخفاض إلى السمية الكبدية للبروديلاكوم وتأثيره على عملية تخليق فيتامين K في الكبد مما ينعكس على تخليق عوامل التخثر (Oldenburg et al., 2006; Weitz, 2011)، مؤدياً إلى بطء عملية تخثر الدم محدثاً النزوف المعممة بالجسم، و فقدان كبير لخلايا الدم الحمر ومع استمرار عدم القدرة على تخثر الدم واستمرار النزف، يؤدي هذا إلى إنقاص كمية الحديد في الجسم إذ لا يعود نقي العظم قادراً على زيادة إنتاج كريات دم حمر جديدة للتعويض عن تلك المفقودة (Lichtman et al., 2011). كذلك قد يعود سبب هذا الانخفاض إلى أن خلايا الدم الحمر شديدة الحساسية للإصابة بالأكسدة باعتبار البروديلاكوم مادة مؤكسدة، وذلك لارتفاع محتوياتها من الأكسجين، لذلك تعد الخلايا الحمر الرئيسة التي تتأثر

بالإجهاد التأكسدي مما يؤدي لأكسدة الهيموغلوبين و حدوث تغيرات خلوية فيها ونقص واضح في مرونة غشائها مما يؤدي لانحلالها (Bryszewska et al., 1995). كذلك التلف الحاصل في نسيج الكلى نتيجة الإجهاد التأكسدي يمنع إنتاج الإريثروبويتين "EPO" مما يسبب في انخفاض تعداد خلايا الدم الحمر (Bouaziz et al., 2007).

كما أظهرت نتائج الدراسة ارتفاعاً معنوياً ($P \leq 0.05$) في العدد الكلي لخلايا الدم البيض TWBCs ، يعد هذا الارتفاع مؤشراً على حدوث استجابة مناعية، باعتبار الكريات البيض تمثل خط الدفاع الأول في جسم الكائن الحي (Kohtrula et al., 1989)، إضافة لذلك أظهرت نتائج العد التفريقي للكريات البيض ارتفاعاً معنوياً ($P \leq 0.05$) واضحاً في متوسط تعداد كل من المستغيرات والمفاويات لدى المجموعات التي أعطيت البروديفاكوم بعد 24 ساعة من الإعطاء وفي اليومين الخامس والتاسع وكان أعلى متوسط لدى طيور المجموعة الرابعة التي تناولت أعلى جرعة من البروديفاكوم، تشير الدراسات إلى الدور الذي تلعبه الكريات البيض في عملية الإرقاء أثناء تفاعلها مع الصفائح الدموية وبطانة الأوعية الدموية وعوامل التخثر (McEver, 2001)، إذ تُطلق كريات الدم البيض المنشطة لاسيما المستغيرات العديد من الوسائط مثل Cathepsin G و Elastase والتي يمكن أن تنشط شلال التخثر (Afshar-Kharghan & Thiagarajan, 2006)، لذا ربما يكون لارتفاع الكريات البيض دوراً مهماً في محاولة الجسم لتنشيط شلال التخثر لإيقاف النزف الناتج عن التسمم بالبروديفاكوم.

أما بالنسبة لارتفاع المفاويات، قد يكون ناتج عن نقص المناعة Immunodeficiency الذي يؤدي بدوره إلى نوع من العدوى، قد يحدث نقص المناعة نتيجة لفقر الدم ونقص الأكسجة، وكذلك إصابة الكبد، وذلك تحت تأثير البروديفاكوم وهذا ما أكدته أيضاً الباحثة (Kataranovski et al., 2003) و (Radi & Thompson, 2004)،

في حين لم يحدث البروديفاكوم تغيراً واضحاً في متوسط تعداد كل من الحمضات والأسسات والوحيدات، ولوحظ ارتفاع بسيط في بعض المجموعات بغض النظر عن الجرعة والزمن، قد يكون ذلك نتيجة إضعاف المناعة والإصابة بعدوى انتهازية وذلك ما فسره (Serieys et al., 2018)، إذ أظهرت نتائج دراسته لدى حيوان الوشق الأحمر (Bobcats) أدلة على الاستجابة الالتهابية وضعف المناعة المرتبط بالتعرض لسلم الفئران المضادة للتخثر والتي من الممكن أن تؤثر على القابلية للإصابة بالعدوى الانتهازية عند الحيوانات.

إضافة لذلك أظهرت نتائجنا انخفاضاً معنوياً ($P \leq 0.05$) في عدد الصفيحات الدموية PLT، يعزى ذلك إلى أن التعرض لمثل هذه المواد الكيميائية السامة يؤدي إلى إبطاء أو نقص إنتاج الصفيحات الدموية أو تسببه في تدميرها بمعدل أكبر من انتاجها (Grindem, 2011)، وهذا ما يحدثه البروديفاكوم نتيجة النزف الحاد مؤدياً إلى فقدان الصفيحات الدموية على نحو أسرع من معدل انتاجها في نقي العظم، ثم إن من وظائف الصفيحات الدموية أنها تتكسر لتفرز الثرومبوكيناز في موقع النزف بهدف المساعدة في عملية إيقاف النزف ثم فقدانها (Kerr, 2008).

كذلك أظهرت نتائجنا انخفاضاً معنوياً ($P \leq 0.05$) في قيم مكداس الدم PCV؛ والذي يعد مؤشراً مهماً على عدم سلامة الإرقاء الدموي في الطائر، هذه القيم المنخفضة تشير إلى فقر الدم وترتبط بفقدان الدم الحاد من الأوعية الدموية، وهذا يتوافق مع ما شاهدناه عياناً، و يعكس نقص خلايا الدم الحمر فعندما يُفقد الدم نتيجة النزف الغزير، يقوم الجسمُ بسحب الماء من النُّسج بسرعة نحو تيار الدَّم في محاولة منه للمحافظة على امتلاء الأوعية الدموية مما يؤدي إلى تخفيف أو تميه الدم محدثاً انخفاضاً في مكداس الدم، وهو (النسبة المئوية لحجم خلايا الدَّم الحمر في كامل حجم الدم) (Lichtman et al., 2011). لم نلاحظ فرق معنوي بين المجموعة الثانية التي تناولت أقل جرعة والشاهد بعد 24 ساعة، بالمقابل أدت الجرعات الأعلى لانخفاض واضح في قيم مكداس الدم حتى بعد 5 أيام لكنها عادت للارتفاع في اليوم التاسع؛ قد يُشير هذا إلى إمكانية الشفاء تحت الإكلينيكي إذ يتطلب نقي العظم في الطيور 3-5 أيام كحد أدنى لبدء انتاج أعداد متزايدة من خلايا الدم الحمر الجديدة (Grindem, 2011). وجد الباحث (Ware et al., 2015) في دراسته الدموية للتأثير السمي للبروديفاكوم على الجرذان بعد إعطاء 0.4 ملغ/كغ من العقار، نتائج مشابهة بالنسبة لقيم مكداس الدم، إذ انخفضت قيمه على نحو كبير خلال نصف ساعة.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية زيادة معنوية ($P \leq 0.05$) في زمن تخثر الدم CT؛ باعتبار أن المسار الداخلي للتخثر يتطلب عوامل تخثر معتمدة على فيتامين K لذا فإن التعرض للبروديفاكوم يطيل زمن التخثر بسبب تأثيره على تخليق فيتامين K في الكبد، إضافة لما يسببه من نزف مستمر (King & Tran, 2015). وتوافق ذلك مع نتائج (Bailey et al., 2005) في دراسته عند الدجاج بعد إعطاء 3 ملغ/كغ من البروديفاكوم 0.002% عن طريق الحقن، كذلك بينت دراسة الباحث (Ratther et al., 2020) لدى طيور العوسق الأمريكية نتائج مشابهة فيما يتعلق بإطالة وقت تخثر الدم.

أظهرت العديد من الدراسات وتقارير التسمم بالبروديفاكوم لدى الحيوانات الشدية نتائج تشابهت مع نتائجنا الدموية لدى الدجاج، إذ تشابهت من ناحية انخفاض تعداد الكريات الحمر، وارتفاع تعداد الكريات البيض، والعدلات، وإطالة زمن التخثر مع نتائج الفحوص الدموية للباحث (Binev *et al.*, 2005) لدى تشخيص حالة تسمم تلقائي لكلب بعد تعرضه لأحد مبيدات القوارض المضادة للتخثر من الجيل الثاني (Lanirat 0.005)، وكذلك نتائج (Park *et al.*, 2011; Bagardi *et al.*, 2022) لتعداد الدم الكامل CBC لحالات التسمم في الكلاب، إذ أظهرت انخفاضاً في تعداد كريات الدم الحمر وارتفاعاً في تعداد الكريات البيض والعدلات وكثرة اللمفاويات والأسسات الخفيف مع قلة الصفائح، وجد الباحث El (Gendy *et al.*, 1996) في دراسة لتأثير البروديفاكوم والديفيناكوم على نمط الدم في الجرذان البيض انخفاضاً كبيراً في تعداد خلايا الدم الحمر وقيم مكدهم في الدم وزيادة في العدد الكلي لكريات الدم البيض، في حين اختلفت مع نتائج (Boermans *et al.*, 1991) في دراسته لدى الخيول المتعرضة للبروديفاكوم، إذ لم يلاحظ تأثير معنوي في الأيام الأولى في تعداد كريات الدم الحمر، والبيض، والصفائح الدموية، ومكدهم الدم وبدأت القيم بالانخفاض اعتباراً من اليوم السادس والثامن. أما في نتائجنا بدت تغيرات المعايير الدموية واضحة بعد 24 ساعة واستمرت حتى نهاية التجربة وازدادت بازدياد الجرعة، قد تعود هذه الاختلافات في النتائج إلى حساسية كل نوع حيواني تجاه البروديفاكوم وحجم الجرعة المتناولة وطريقة التعرض وشدة ومكان النزف.

الفصل السادس

الاستنتاجات

Conclusions:

6- الاستنتاجات Conclusions:

1. إن تعرض دجاج اللحم بعمر أسبوعين للبروديفاكوم يترافق بظهور أعراض مرضية على شكل اضطرابات عصبية، ونزف في العينين والأذنين ونزوفات تحت الجلد ولاسيما في منطقة الرقبة والصدر وتحت جلد الجناح، كما يمكن أن يؤدي البروديفاكوم الى النفوق بسبب الألم الناتج عن الصدمة العصبية، أو الصدمة الدموية الناتجة عن انخفاض حجم الدم في الجسم، إضافة للفشل الكبدي والكلوي الناتج عن تخرب أنسجة الكبد والكلى.
2. تظهر نتائج الدراسة الحالية بأن البروديفاكوم تأثيرات سمية كبدية تتمثل بتغيرات لونية على شكل مناطق احتقان وشحوب واصفرار ونزف تحت المحفظة إضافة لتضخم الكبد، وتأثيراً نسيجياً تمثل باحتقان في الجيبانات الدموية والأوردة المركزية إضافة للتكس المائي والدهني والنخر.
3. إن البروديفاكوم تأثيرات سمية كلوية حادة تتجلى على شكل تضخم في فصوص الكلى ولاسيما الأمامية إضافة لمناطق محتقنة ونازفة وأخرى شاحبة، وتأثيراً نسيجياً تمثل بتكس مائي ونخر في الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية وبعض الكبيبات، واحتقان الأوعية الدموية ونزف ضمن لمعة بعض النيبات الكلوية والقنوات الجامعة.
4. يحدث البروديفاكوم في أنسجة الكبد والكلى ردود فعل التهابية تبدو بزيادة المستغيرات والمفاويات والبلاعم مترافقة بعملية التكس والنخر.
5. إن البروديفاكوم تأثيراً واضحاً في المعايير الدموية، ظهر على شكل انخفاض معنوي في كل من العدد الكلي لخلايا الدم الحمر والصفائح الدموية ومكداس الدم. بينما أحدث إطالة في زمن تخثر الدم، وارتفاعاً معنوياً في العدد الكلي لكريات الدم البيض ولاسيما المستغيرات والمفاويات.
6. إن الأعراض المرضية والتغيرات التشريحية العيانية والمجهريّة والتغيرات في قيم المعايير الدموية المدروسة تُشاهد لدى جميع طيور التجربة بغض النظر عن كمية الجرعة؛ لكن شدتها تزداد بازدياد الجرعة وبمرور الوقت، إذ بلغت ذروتها لدى طيور المجموعة الرابعة التي تناولت أعلى جرعة من البروديفاكوم (9 ملغ/كغ).

الفصل السابع

التوصيات والمقترحات

Recommendations *and Suggestions:*

7- التوصيات والمقترحات Recommendations and Suggestions:

1. نوصي بأخذ الحيطة والحذر عند استخدام مضادات التخثر لمكافحة القوارض في المزارع والحظائر.
2. نوصي بالمزيد من الدراسات التجريبية النسيجية لتغطية وفهم السمية المزمنة والسمية العصبية للبروديفاكوم.
3. نقترح تحليل ثملات البروديفاكوم باستخدام التقنيات الحديثة مثل (الكروماتوغرافيا السائلة HPLC، ومقياس الطيف الكتلي MS/MS) في لحوم واحشاء الدجاج لمعرفة تأثيرها على الاستهلاك البشري.

الفصل الثَّامِن

المراجع

References

:References المراجع 8-

1. Abdul-Aziz, T., Fletcher, O. J., Barnes, H. J., Shivaprasad, H. L., Swayne, D. E., & Riddell, C. (2016). Avian histopathology. American association of avian pathologists.
2. Afshar-Kharghan, V., & Thiagarajan, P. (2006). Leukocyte adhesion and thrombosis. *Current opinion in hematology*, 13(1), 34–39.
3. Anthony, L. M. (2010). JUNQUEIRA Basic Histology. the Mecrawa–Hill Companies, Inc., (12). 270 –280.
4. Bacha Jr, W. J., & Bacha, L. M. (2012). Color atlas of veterinary histology. John Wiley & Sons.
5. Bachmann, K. A., & Sullivan, T. J. (1983). Dispositional and pharmacodynamic characteristics of brodifacoum in warfarin-sensitive rats. *Pharmacology*, 27(5), 281–288.
6. Bagardi, M., Drago, G., Ferrari, P. L., Riva, J., & Moiola, M. (2022). Acute severe pericarditis secondary to rodenticide intoxication in a dog. *Open Veterinary Journal*, 12(5), 728–728.
7. Bailey, C. I.; Fisher, P. & Eason, C. T. (2005). Assessing anticoagulant resistance in rats and coagulation effects in birds using small-volume blood samples. Department of Conservation.
8. Bellah, J. R. & Weigel, J. P. (1983). Hemarthrosis secondary to suspected warfarin toxicosis in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 182(10), 1126–1127.
9. Benjamin, M. M. (1978). Outline of veterinary clinical pathology (No. 3rd edition). *Iowa State University Press*. 51–53.

10. Berny, P. J., Buronfosse, T. & Lorgue, G. (1995). Anticoagulant poisoning in animals: a simple new high-performance thin-layer chromatographic (HPTLC) method for the simultaneous determination of eight anticoagulant rodenticides in liver samples. *Journal of analytical toxicology*, 19(7), 576–580.
11. Berny, P. (2007). Pesticides and the intoxication of wild animals. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 30(2), 93–100.
12. Beulens, J. W., Booth, S. L., van den Heuvel, E. G., Stoecklin, E., Baka, A., & Vermeer, C. (2013). The role of menaquinones (vitamin K2) in human health. *British Journal of Nutrition*, 110(8), 1357–1368.
13. Binev, R., Petkov, P., & Rusenov, A. (2005). Intoxication with anticoagulant rodenticide bromadiolone in a dog. *Veterinarski arhiv*, 75(3), 273–282.
14. Blocker, T. L., & Roberts, B. K. (1999). Acute tracheal obstruction associated with anticoagulant rodenticide intoxication in a dog. *Journal of small animal practice*, 40(12), 577–580.
15. Boermans, H. J., Johnstone, I., Black, W. D., & Murphy, M. (1991). Clinical signs, laboratory changes and toxicokinetic of brodifacoum in the horse. *Canadian a. journal of veterinary research*, 55(1), 21.
16. Bouaziz, H., Croute, F., Boudawara, T., Soleilhavoup, J. P., & Zeghal, N. (2007). Oxidative stress induced by fluoride in adult mice and their suckling pups. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 58(5), 339–349.
17. 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.

18. Brooks, R. L., Bounous, D. I., & Andreasen, C. B. (1996). Functional comparison of avian heterophils with human and canine neutrophils. *Comparative Haematology International*, 6, 153–159.
19. Bryszewska, M., Zavodnik, I. B., Niekurzak, A., & Szosland, K. (1995). Oxidative processes in red blood cells from normal and diabetic individuals. *Biochemistry and molecular biology international*, 37(2), 345–354.
20. Buckle, A. P., & Smith, R. H. (2015). Rodent Control: Back to the Future (the Sequel). In *Rodent Pests and Their control* (pp. 397–402). Wallingford UK: CABI.
21. Buckle, A., & Prescott, C. (2018). Anticoagulants and risk mitigation. *Anticoagulant rodenticides and wildlife*, 319–355.
22. Campbell, A., & Chapman, M. (2000). Appendix 3: Normal values for cats and dogs. In *Handbook of poisoning in dogs and cats* (pp. 267–268). Hoboken.
23. Chinnaraj, M., Planer, W., & Pozzi, N. (2018). Structure of coagulation factor II: molecular mechanism of thrombin generation and development of next-generation anticoagulants. *Frontiers in Medicine*, 281.
24. Chua, J. D., & Friedenber, W. R. (1998). Superwarfarin poisoning. *Archives of internal medicine*, 158(17), 1929–1932
25. Coles, E.H. (1986). Veterinary clinical pathology. 4th.W.B. Saunders. Co. Philadelphia, London., 4:110–111.
26. DeClementi, C., & Sobczak, B. R. (2012). Common rodenticide toxicoses in small animals. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 42(2), 349–360.

27. Đpakauskas, V., Klimienė, I., Ruėauskas, M., & Bandzaitė, V. (2005). Toxicity and effectiveness of indirect anticoagulants bromadiolone and brodifacoum. *Biologija*, (4), 77–81.
28. Dyce, K.; Sack, W. O. and Wensing, G. J. G. (2010). Text book of veterinary anatomy. W. B. Saunders Co. 94 USA: 806–811.
29. Eason, C. T., Murphy, E. C., Wright, G. R., & Spurr, E. B. (2002). Assessment of risks of brodifacoum to non–target birds and mammals in New Zealand. *Ecotoxicology*, 11(1), 35–48.
30. Eckhardt, M. (2008). The role and metabolism of sulfatide in the nervous system. *Molecular neurobiology*, 37(2), 93–103
31. El Gendy, K.S., El Sebae, A. A., El Khear, R. A. (1996). Anticoagulant poisoning and vitamin K antagonism in albino rats. *Alexandria Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10 (1): 29–33.
32. El–Bahrawy, A. F., & Morsy, T. A. (1990). The effect of some anticoagulants against three commensal rodents under laboratory conditions. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 20(1), 289–295.
33. El–Banhawy, M.A., S.M. Sanad, S.A. Sakr, I.A., El–Elaimy & H.A. Mahran, (1993). Histopathological studies on the effect of the anticoagulant rodenticide “Brodifacoum” on the liver of rat. *J Egypt Ger Soc Zool.*, 12 (C): 185–227.
34. Elliott, J. E., Rattner, B. A., Shore, R. F., & Van Den Brink, N. W. (2016). Paying the pipers: mitigating the impact of anticoagulant rodenticides on predators and scavengers. *Bioscience*, 66(5), 401–407.
35. El–Zoghby, I. M. A. (2005). Pre and post hatching developmental studies of the quail's liver. *Zag. Vet. J.*, 33(1): 185–193.

36. Erickson, W. A., & Urban, D. J. (2004). *Potential risks of nine rodenticides to birds and nontarget mammals: a comparative approach* (p. 225). Washington, DC: US Environmental Protection Agency, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances
37. Evans, E. W., Beach, F. G., Moore, K. M., Jackwood, M. W., Glisson, J. R., & Harmon, B. G. (1995). Antimicrobial activity of chicken and turkey heterophil peptides CHP1, CHP2, THP1, and THP3. *Veterinary Microbiology*, 47(3–4), 295–303.
38. Ezihe-Ejiofor, J. A., & Hutchinson, N. (2013). Anticlotting mechanisms 1: physiology and pathology. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain*, 13(3), 87–92.
39. Farquhar, M.G., Wissig, S.L., & palade, G. E. (1999). Glomerular permeability I. ferritin transfer across the normal glomerular capillary wall. 1961. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 10(12), 2645–2662.
40. Ferland, G. (2012). Vitamin K, an emerging nutrient in brain function. *Biofactors*, 38(2), 151–157.
41. Fisher, P. M. (2009). *Residual concentrations and persistence of the anticoagulant rodenticides brodifacoum and diphacinone in fauna* (Doctoral dissertation, Lincoln University).
42. Garcia, A. A., & Reitsma, P. H. (2008). VKORC1 and the vitamin K cycle. *Vitamins & Hormones*, 78, 23–33.
43. Gebauer, M. (2007). Synthesis and structure–activity relationships of novel warfarin derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 15(6), 2414–2420

44. Gill, J. E. (1992). Laboratory evaluation of the toxicity of flocoumafen as a single-feed rodenticide to seven rodent species. *International biodeterioration & biodegradation*, 30(1), 65–76.
45. Godfrey, M. E. R., Laas, F. J., & Rammell, C. G. (1985). Acute toxicity of brodifacoum to sheep. *New Zealand journal of experimental agriculture*, 13(1), 23–25.
46. Godfrey, M. E. R., Reid, T. C., & McAllum, H. J. F. (1981). The oral toxicity of brodifacoum to rabbits. *New Zealand journal of experimental agriculture*, 9(1), 23–25.
47. Goldny, B., Unterholzner, V., Taferner, B., Hofmann, K. J., Rehder, P., Strasak, A., & Petersen, J. (2009). Normal kidney size and its influencing factors—a 64-slice MDCT study of 1.040 asymptomatic patients. *BMC urology*, 9, 1–13.
48. Gómez-Canela, C., Vázquez-Chica, A., & Lacorte, S. (2014). Comprehensive characterization of rodenticides in wastewater by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 406(1), 345–358.
49. Grindem, C. B. (2011). Schalm's Veterinary Hematology, Editors: Douglas J. Weiss, K. Jane Wardrop. *Veterinary Clinical Pathology*, 2(40), 270–270.
50. Gül, N., Yiğit, N., Saygılı, F., Demirel, E., & Geniş, C. (2016). Comparison of the effects of difenacoum and brodifacoum on the ultrastructure of rat liver cells. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 67(3), 204–209.
51. Hadler, M. R.; Shadbolt, R. S. (1975): Novel 4-hydroxycoumarin anticoagulants active against resistant rats. *Nature* 253: 277–282.

52. Haines, B. (2008). Anticoagulant rodenticide ingestion and toxicity: a retrospective study of 252 canine cases. *Australian Veterinary Practitioner*, 38(2), 38--.
53. Hansen, N., & Beck, C. (2003). Bilateral hydronephrosis secondary to anticoagulant rodenticide intoxication in a dog. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 13(2), 103–107.
54. Hauck, Z. Z. (2017). *Tissue distribution, pharmacokinetics and metabolism of brodifacoum: a superwarfarin* (Doctoral dissertation, University of Illinois at Chicago).
55. Hristov, H., Viadova, D., Kostov, D., (2017). Gross Anatomy Of Some Digestive Organs Of The Domestic Bolitry . *Trakia J.Sci.*15(2).
56. Huckle, K. R., Hutson, D. H., & Warburton, P. A. (1988). Elimination and accumulation of the rodenticide flocoumafen in rats following repeated oral administration. *Xenobiotica*, 18(12), 1465–1479.
57. Ibrahim, R. Sh.; Hussein, A. A. and Al-Kelaby, W. J. A. (2016). Histomorphological study of the liver in Local Morrhen birds (*Gallinula chloropus*). *Kufa Journal for Veterinary Medical Sciences*, 7(2): 187–192.
58. Jacob, J., & Buckle, A. (2018). Use of anticoagulant rodenticides in different applications around the world. *In Anticoagulant rodenticides and wildlife* (pp. 11–43). Springer, Cham.
59. Jain, N. C. (1986). Schalms Veterinary Hematology Lea & Febiger, U.S.A., 267–282.
60. Jain, N.C. (1993). Essentials of veterinary hematology. Lea & Febiger, Philadelphia. 417.

61. James, S.B., Raphael, B.L. and Cook, R.A. 1998. Brodifacoum toxicity and treatment in a white-winged wood duck (*Cairina scutulata*). *J. Zoo. Wildl. Med.* 29, 324–327.
62. Jin, N. Z., & Gopinath, S. C. (2016). Potential blood clotting factors and anticoagulants. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 356–365.
63. Johar, D., Roth, J. C., Bay, G. H., Walker, J. N., Krocak, T. J., & Los, M. (2004). Inflammatory response, reactive oxygen species, programmed (necrotic-like and apoptotic) cell death and cancer. *Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku*, 49, 31–39.
64. Kalinin, S., Marangoni, N., Kowal, K., Dey, A., Lis, K., Brodsky, S., ... & Feinstein, D. L. (2017). The long-lasting rodenticide brodifacoum induces neuropathology in adult male rats. *Toxicological Sciences*, 159(1), 224–237.
65. Kammerer, M., Pouliquen, H., Pinault, L., & Loyau, M. (1998). Residues depletion in egg after warfarin ingestion by laying hens. *Veterinary and human toxicology*, 40(5), 273–275.
66. Kataranovski, M., Vlaški, M., Kataranovski, D., Tošić, N., Mandić–Radić, S., & Todorović, V. (2003). Immunotoxicity of epicutaneously applied anticoagulant rodenticide warfarin: evaluation by contact hypersensitivity to DNCB in rats. *Toxicology*, 188(1), 83–100
67. Katiyar, A. K., Vegad, J. L., & Awadhiya, R. P. (1992). Increased vascular permeability and leucocyte emigration in *Escherichia coli* endotoxin injury in the chicken skin. *Research in veterinary science*, 52(2), 154–161.

68. Kaukeinen, D. E., & Rampaud, M. (1986). A review of brodifacoum efficacy in the US and worldwide. *In Proceedings of the Vertebrate Pest Conference* (Vol. 12, No. 12).
69. Kerr, M. G. (2008). Veterinary laboratory medicine: *Clinical biochemistry and haematology*. John Wiley & Sons.
70. Key, N. S., Makris, M., & Lillicrap, D. (Eds.). (2017). *Practical hemostasis and thrombosis*. John Wiley & Sons.
71. King, N., & Tran, M. H. (2015). Long-acting anticoagulant rodenticide (superwarfarin) poisoning: a review of its historical development, epidemiology, and clinical management. *Transfusion medicine reviews*, 29(4), 250–258.
72. Kogut, M. H., Lowry, V. K., Moyes, R. B., Bowden, L. L., Bowden, R., Genovese, K. E. N. N. E. T. H., & Deloach, J. R. (1998). Lymphokine-augmented activation of avian heterophils. *Poultry science*, 77(7), 964–971.
73. Kohn, B., Weingart, C. and Giger, U. (2003). Haemorrhage in seven cats with suspected anticoagulant rodenticide intoxication. *J. Feline. Med. Surg.* 5, 295–304.
74. Kohtrula, H., G. Nakamura and M.A. Zumiyama. (1989). Biochemical basis of carbon tetrachloride induced toxicity. *J. Lab. Toxicol.*, 13, 35–45
75. Kruse, J. A., & Carlson, R. W. (1992). Fatal rodenticide poisoning with brodifacoum. *Annals of emergency medicine*, 21(3), 331–336.
76. Kuhn, S. E., & Hendrix, D. V. (2013). Unilateral subconjunctival and retrobulbar hemorrhage secondary to brodifacoum toxicity in a dog. *Case Reports in Veterinary Medicine*, 2013.

77. Laas, F. J., Forss, D. A., & Godfreyi, M. E. R. (1985). Retention of brodifacoum in sheep tissues and excretion in faeces. *New Zealand journal of agricultural research*, 28(3), 357–359.
78. Lambert, O., Pouliquen, H., Larhantec, M., Thorin, C., & L’Hostis, M. (2007). Exposure of raptors and waterbirds to anticoagulant rodenticides (difenacoum, bromadiolone, coumatetralyl, coumaten, brodifacoum): epidemiological survey in Loire Atlantique (France). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 79(1), 91–94.
79. Laszkowska–Lewko, M., Rybka, J., Zawadzki, M., Jurek, T., & Wróbel, T. (2017). Coagulation disorders caused by chronic poisoning with anticoagulant rodenticides—case report and review of literature. *Hematology in Clinical Practice*, 8(4), 289–292
80. Lee, H. J., You, M. R., Moon, W. R., Sul, H., Chung, C. H., Park, C. Y., & Park, S. G. (2014). Evaluation of risk factors in patients with vitamin K–dependent coagulopathy presumed to be caused by exposure to brodifacoum. *The Korean journal of internal medicine*, 29(4), 498.
81. Lefebvre, S., Fourel, I., Queffélec, S., Vodovar, D., Megarbane, B., Benoit, E., & Lattard, V. (2017). Poisoning by anticoagulant rodenticides in humans and animals: causes and consequences. *Poisoning—From Specific Toxic Agents to Novel Rapid and Simplified Techniques for Analysis. IntechOpen*, 11–32.
82. Lichtman, M. A., Kaushansky, K., Kipps, T. J., Prchal, J. T., & Levi, M. (2011). *Williams Manual of Hematology*. McGraw–Hill.
83. Limón–Pacheco, J., & Gonsébat, M. E. (2009). The role of antioxidants and antioxidant–related enzymes in protective responses to

- environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 674(1-2), 137-147.
84. Lo, V. M., Ching, C. K., Chan, A. Y., & Mak, T. W. (2008). Bromadiolone toxicokinetics: diagnosis and treatment implications. *Clinical toxicology*, 46(8), 703-710
 85. Maellaro, E., Del Bello, B., Casini, A. F., Comporti, M., Ceccarelli, D., Muscatello, U., & Masini, A. (1990). Early mitochondrial dysfunction in bromobenzene treated mice: a possible factor of liver injury. *Biochemical pharmacology*, 40(7), 1491-1497.
 86. Marangoni, M. N., Martynowycz, M. W., Kuzmenko, I., Braun, D., Polak, P. E., Weinberg, G., ... & Feinstein, D. L. (2016). Membrane cholesterol modulates superwarfarin toxicity. *Biophysical journal*, 110(8), 1777-1788.
 87. Marks, S. L., Gieger, T. L., & Williams, J. (2001). Presumptive intramural gastric hemorrhage secondary to rodenticide intoxication in a dog. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 11(1), 27-31.
 88. Maxwell, M. H. (1984). Histochemical identification of tissue eosinophils in the inflammatory response of the fowl (*Gallus domesticus*). *Research in veterinary science*, 37(1), 7-11.
 89. McEver, R. P. (2001). Adhesive interactions of leukocytes, platelets, and the vessel wall during hemostasis and inflammation. *Thrombosis and haemostasis*, 86(09), 746-756.
 90. Mendenhall, V. M., & Pank, L. F. (1980). Secondary poisoning of owls by anticoagulant rodenticides. *Wildlife Society Bulletin*, 311-315.
 91. Mondal, S. K. (2017). *Manual of histological techniques*. JP Medical Ltd.

92. Morgan, B. W., Tomaszewski, C., & Rotker, I. (1996). Spontaneous hemoperitoneum from brodifacoum overdose. *The American journal of emergency medicine*, 14(7), 656–659.
93. Murphy, M. J., Ray, A. C., Woody, B., & Reagor, J. C. (1985). Serum brodifacoum concentrations and coagulopathic effects in anticoagulant poisoned dogs treated with Vitamin K1. *Toxicologist*, 5, 88.
94. Natt, M. P. and C. A. Herrick (1952). Anew blood diluents for counting the erythrocytes of chicken. *Poult.Sci.*31:735–738.
95. Neyrinck, A. J. B. M. A. R. M. B. (2004). Modulation of Kupffer cell activity: physio–pathological consequences on hepatic metabolism. *Bull Mem Acad R Med Belg*, 159(5–6), 358–66.
96. Nicpoń, J., Zawadzki, M., Niedźwiedź, A., Kubiak, K., Jankowski, M., & Magdalan, J. (2007). Anticoagulant rodenticides poisoning in dogs. *Medycyna Weterynaryjna*, 63(12), 1604–1606.
97. Oldenburg, J., Bevans, C. G., Müller, C. R., & Watzka, M. (2006). Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1): the key protein of the vitamin K cycle. *Antioxidants & redox signaling*, 8(3–4), 347–353.
98. Olmos, V., & López, C. M. (2007). Brodifacoum poisoning with toxicokinetic data. *Clinical toxicology*, 45(5), 487–489.
99. Owen, R. P., Gong, L., Sagreiya, H., Klein, T. E., & Altman, R. B. (2010). VKORC1 pharmacogenomics summary. *Pharmacogenetics and genomics*, 20(10), 642.
100. Pallister, C. J., & Watson, M. S. (2010). Haematology. Bloxham. UK: Scion Publishing, 334–336.

101. Palmer, R. B., Alakija, P., Baca, J. C., & Nolte, K. B. (1999). Fatal brodifacoum rodenticide poisoning: autopsy and toxicologic findings. *Journal of Forensic Science*, 44(4), 851–855.
102. Park, C., Lim, C. Y., Kim, J. H., Jang, J. I., & Park, H. M. (2011). Successful therapy of coumatetralyl rodenticide induced pericardial effusion with pericardiocentesis in a dog. *The Canadian Veterinary Journal*, 52(2), 165.
103. Petrus, D. J., & Henik, R. A. (1999). Pericardial effusion and cardiac tamponade secondary to brodifacoum toxicosis in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 215(5), 647–648.
104. Petterino, C., & Paolo, B. (2001). Toxicology of various anticoagulant rodenticides in animals. *Veterinary and human toxicology*, 43(6), 353–360.
105. Pirmohamed, M. (2006). Warfarin: almost 60 years old and still causing problems. *British journal of clinical pharmacology*, 62(5), 509.
106. Radi, Z. A., & Thompson, L. J. (2004). Renal subcapsular hematoma associated with brodifacoum toxicosis in a dog. *Veterinary and human toxicology*, 46(2), 83–84.
107. Ragab, S. M., Sayed, Z. H., Wilson, M. B., Sayed, A., & Sayed, H. E. D. M.(2019) . Effects of Brodifacoum, Acetylsalicylic Acid and its Combination on Hemostatic, Hematological and Hepatic Markers of Wild Rat Rattus Rattus. *Assiut Univ. J. of Zoology*. 48(2), pp.60–86.
108. Rattner, B. A., Volker, S. F., Lankton, J. S., Bean, T. G., Lazarus, R. S., & Horak, K. E. (2020). Brodifacoum toxicity in American kestrels (*Falco sparverius*) with evidence of increased hazard on subsequent

- anticoagulant rodenticide exposure. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39(2), 468–481.
109. Robben, J. H., Mout, H. C., & Kuijpers, E. A. (1997). Anticoagulant rodenticide poisoning in dogs in the Netherlands. *Tijdschrift voor diergeneeskunde*, 122(17), 466–471.
 110. Robben, J.H., Kuijpers, E.A. and Mout, H.C. (1998). Plasma superwarfarin levels and vitamin K1 treatment in dogs with anticoagulant rodenticide poisoning. *Vet. Q.* 20, 24–27.
 111. Robertson, H. A., Colbourne, R. M., & Nieuwland, F. (1993). Survival of little spotted kiwi and other forest birds exposed to brodifacoum rat poison on Red Mercury Island. *Notornis*, 40(4), 253–262.
 112. Saran, D. (2017). Morphological studies on the digestive system of Guinea fowl (*Numidameleagris*) with special reference to histomorphology and histochemistry of its stomach (Doctoral disserlation, Rajasthan University of Vet. Anim. Sci. Bikaner).
 113. Schmidt, R. E.; Reavill, D. R. and Phalen, D. N. (2003). Pathology of pet and aviary bird. 1st ed. Ablack well publishing company, USA: 234.
 114. Schnellmann, R. G., Ewell, F. P., Sgambati, M., & Mandel, L. J. (1987). Mitochondrial toxicity of 2-bromohydroquinone in rabbit renal proximal tubules. *Toxicology and applied pharmacology*, 90(3), 420–426.
 115. Schulman, S., & Furie, B. (2015). How I treat poisoning with vitamin K antagonists. *Blood*, *The Journal of the American Society of Hematology*, 125(3), 438–442.
 116. Serieys, L. E., Lea, A. J., Epeldegui, M., Armenta, T. C., Moriarty, J., VandeWoude, S., & Uittenbogaart, C. H. (2018). Urbanization and anticoagulant poisons promote immune dysfunction in bobcats.

- Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285(1871), 20172533.
117. Sheen, S. R., Spiller, H. A., & Grossman, D. (1994). Symptomatic brodifacoum ingestion requiring high-dose phytonadione therapy. *Veterinary and human toxicology*, 36(3), 216–217.
 118. Sturkie, P. D., & Griminger, P. (1986). Body fluids: blood. *Avian physiology*, 102–129.
 119. Sung, Y. J., Hotchkiss, J. H., Austic, R. E., & Dietert, R. R. (1991). L-arginine-dependent production of a reactive nitrogen intermediate by macrophages of a uricotelic species. *Journal of Leukocyte Biology*, 50(1), 49–56.
 120. Swieringa, F., Spronk, H. M., Heemskerk, J. W., & van der Meijden, P. E. (2018). Integrating platelet and coagulation activation in fibrin clot formation. *Research and practice in thrombosis and haemostasis*, 2(3), 450–460.
 121. Talcott, P. A., & Peterson, M. E. (2012). Small animal toxicology. *Elsevier Health Sciences*.
 122. Talebi, A., Asri-Rezaei, S., Rozeh-Chai, R., & Sahraei, R. (2005). Comparative studies on haematological values of broiler strains (Ross, Cobb, Arbor-acres and Arian). *International journal of poultry science*, 4(8), 573–579.
 123. Thomas, P. J., Mineau, P., Shore, R. F., Champoux, L., Martin, P. A., Wilson, L. K., ... & Elliott, J. E. (2011). Second generation anticoagulant rodenticides in predatory birds: probabilistic characterisation of toxic liver concentrations and implications for predatory bird populations in Canada. *Environment international*, 37(5), 914–920.

124. Tie, J. K., & Stafford, D. W. (2008). Structure and function of vitamin K epoxide reductase. *Vitamins & Hormones*, 78, 103–130.
125. Treinen–Moslen, M. (2001). Toxic responses of the liver. Casarett & Doull's Toxicology: *The basic science of poisons*.
126. Valchev, I., Binev, R., Yordanova, V., & Nikolov, Y. (2008). Anticoagulant rodenticide intoxication in animals—a review. *Turkish journal of veterinary and animal Sciences*, 32(4), 237–243.
127. Vandenbroucke, V., Bousquet-mélou, A., De Backer, P., & Croubels, S. (2008). Pharmacokinetics of eight anticoagulant rodenticides in mice after single oral administration. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 31(5), 437–445.
128. Ware, K. M., Feinstein, D. L., Rubinstein, I., Weinberg, G., Rovin, B. H., Hebert, L., ... & Brodsky, S. V. (2015). Brodifacoum induces early hemoglobinuria and late hematuria in rats: novel rapid biomarkers of poisoning. *American journal of nephrology*, 41(4–5), 392–399.
129. Ware, K., Qamri, Z., Ozcan, A., Satoskar, A. A., Nadasdy, G., Rovin, B. H., & Brodsky, S. V. (2013). N-acetylcysteine ameliorates acute kidney injury but not glomerular hemorrhage in an animal model of warfarin–related nephropathy. *American Journal of physiology–Renal physiology*, 304(12), F1421–F1427.
130. Watt, B. E., Proudfoot, A. T., Bradberry, S. M., & Vale, J. A. (2005). Anticoagulant rodenticides. *Toxicological reviews*, 24(4), 259–269.
131. Weitz, J. I. (2011). Blood coagulation and anticoagulant, fibrinolytic, and antiplatelet drugs. *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12th ed. New York, New York: McGraw–Hill Medical*

132. Whittow, G. C. (2000). *Gastrointestinal Anatomy and physiology (Avian physiology)* 5th ed. Academic press. Honoiula., Hawaii: pp 704.
 133. Woody, B. J., Murphy, M. J., Ray, A. C., & Green, R. A. (1992). Coagulopathic effects and therapy of brodifacoum toxicosis in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 6(1), 23–28.
 134. Worthing, C. R. (1991). *The Pesticide Manual A World Compendium* 9TH ed. Worthing, CR (Ed.). *The Pesticide Manual: A World Compendium*, 9th Edition. Xlvii+ 1141p. British Crop Protection Council: Farnham, England, Uk. Illus. Isbn 0–948404–42–6.; 0 (0). 1991. Xlvii+ 1141p., 6.
 135. Yan, H., Qiao, Z., Shen, B., Xiang, P., & Shen, M. (2016). Plasma metabolic profiling analysis of toxicity induced by brodifacoum using metabonomics coupled with multivariate data analysis. *Forensic science international*, 267, 129–135.
 136. Zager, R. A. (1997). Pathogenetic mechanisms in nephrotoxic acute renal failure. *Semin. Nephrol.* 17, 3–14.
 137. Zawadzki, M., & Szpot, P. (2019). Anticoagulant Rodenticides Poisonings in Humans and Animals–Short Review.
 138. Zawadzki, M., Magdalan, J., & Niedźwiedź, A. (2007). Poisonings with anticoagulant rodenticides. *Archiwum Medycyny Sadowej i Kryminologii*, 57(4), 427–429.
 139. Zowail, M. E., El-Balshy, R. M., Asran, A. E. M. A., Khidr, F. K., & Zaki, G. G. (2019). Effect of ginger against the toxicity of brodifacoum on albino male mice. *The Egyptian journal of experimental biology (Zoology)*, 15(2), 253–253.
-

Macroscopic pathological changes in the kidneys manifested as enlargement especially the Cranial lobes, bleeding, congestion in the third and fourth groups after 24 hours, and it appeared in a pale color in the third and fourth groups of administration. On the last day of the experiment, enlargement and bleeding increased in the Cranial lobes of the kidneys in all birds.

The histopathological changes were represented by congestion of blood vessels, hydropic degeneration and necrosis (in epithelium of the renal tubules, glomeruli and collecting ducts), in addition to hemorrhage within the lumen of proximal and distal renal tubules and collecting ducts at the groups that had high doses in the fifth and ninth days of administration. The inflammatory reaction was represented by the infiltration of the heterophils and lymphocytes. Changes in the rate of blood parameters were recorded a significant decrease ($P \leq 0.05$) in the total number of red blood cells, platelets, hematocrit, and showed a significant increase ($P \leq 0.05$) in the total number of white blood cells, Lymphocytes and Heterophils, and the time of clotting, 24 hours after administration the brodifacoum and continued until the end of the experiment on the ninth day.

Our microscopic results abreast with hematological parameters indicate a toxic effect of brodifacoum on broilers, and the pathological changes increased in severity with increasing dose and over time, peaking in group fourth birds that received the highest dose of brodifacoum.

Keywords: Rodenticides– Brodifacoum– Pathological changes– Liver– Kidney– Blood picture– Broiler Chicken

Abstract

This research aims at studying macroscopic and microscopic pathological changes in liver and kidney tissues, and blood picture caused by brodifacoum in broiler chickens.

The experiment was conducted on (48) broiler chickens two weeks old and lasted 9 days, divided into four groups, each of which includes (12) birds. Then the birds were given a single oral dose of brodifacoum 0.005% (2.25–4.5–9) mg/kg respectively except the control group who were not given such doses.

Clinical symptoms and mortality were recorded. Blood samples of four birds from each group were collected randomly after 24 hours, on the fifth and ninth days of administration, then the birds were slaughtered, macroscopic lesions were recorded. liver and kidney tissue samples were collected to study histopathological changes.

The results showed neurological disorders and bleeding was observed in the eyes, ears and subcutaneous layers.

Macroscopic pathological changes in the liver were observed as congestion, jaundice, subcapsular hemorrhage, and hepatomegaly. Histopathological changes were in the form of congestion of the blood sinusoids and central veins, and the appearance of cloudy swelling and hydropic degeneration in the cells after 24 hours of administration. Fatty degeneration and necrosis appeared in hepatocytes on the fifth and ninth days of administration.

These changes were accompanied by inflammatory reactions represented by Increased infiltration of Kupffer cells, heterophils, macrophages and lymphocytes around the portal spaces and near the central veins.

Syrian Arab Republic

Hama University

Faculty of Veterinary Medicine

Department of Pathology



The Toxic Effects of Brodifacoum on the Tissues of Liver, Kidneys and Bloody Picture of Broiler Chicken

Thesis Presented by
Haneen Mahmoud Al Rashid
D.V.M

For
M. sc. Degree in Vet. Med. Sc
Forensic medicine specialty

Under the Supervision

Dr. Wasef Al Wassouf

Pro. Dr. Sameer Hammod

1444 - 2023