مجلة جامعة حماة
سلسلة العلوم الطبية والصحية
المجلد الأول – العدد الأول - 2026

Journal of Hama University
Series of Medical And Health Sciences
vol.1 –No.1-2026

دراسة الإصابة بـ الليشمانية المدارية *Leishmania tropica* في القداد السوري الذهبي وفئران BALB/c

ريم العتال * مرشد عدنان كاسوحة** شادي سكرية ***

(الإيداع: 20 تموز 2026، القبول: 19 آب 2026)

الملخص

أجريت هذه الدراسة لتقييم التغيرات السريرية والمرضية الناتجة عن الخمج التجريبي بطفيلي **الليشمانية المدارية** في القداد السوري الذهبي وفئران BALB/c، ومقارنة قابلية كل منهما للإصابة كنموذج حيواني. كما هدفت إلى تتبع توزع الطفيلي في العقدة اللمفية المأبضية والطحال ونقي العظم باستخدام تقنية تفاعل البوليمراز المتسلسل المعشّش Nested-PCR.
شملت الدراسة مجموعتين، ضمت كل منهما 15 أنثى بعمر ثمانية أسابيع، إحداهما من القداد السوري الذهبي والأخرى من فئرانBALB/c.
جرى إكثار الطفيلي مخبرياً، ثم حُقنت الحيوانات في وسادة القدم اليمنى، وتمت متابعتها سريرياً لمدة أربعة أشهر، مع القتل الرحيم لعدد من الحيوانات على فترات شهرية لإجراء الفحوص الجزيئية على الأعضاء المستهدفة.
أظهرت النتائج استمرار الكشف عن الحمض النووي لطفيلي الليشمانية المدارية في القداد السوري الذهبي خلال الأشهر الثلاثة الأولى بعد الخمج، في الأعضاء الثلاثة المستهدفة بالدراسة، وهي العقدة اللمفية المأبضية والطحال ونقي العظم، في المقابل، اقتصر الكشف عن الحمض النووي للطفيلي في فئرانBALB/c على الشهر الأول فقط بعد الخمج، وذلك في العقدة اللمفية المأبضية والطحال فقط. كما ظهر تورم في وسادة القدم وآفات جلدية عابرة لدى بعض حيوانات القداد، إضافة إلى تضخم الطحال في عدد منها، بينما لم تسجل تغيرات سريرية أو مرضية واضحة في فئرانBALB/c.
تشير النتائج إلى وجود اختلاف في قابلية الإصابة ومسار الخمج بين النموذجين الحيوانيين، إذ أظهر القداد السوري الذهبي استمراراً أطول للحمل الطفيلي مقارنةً بفئرانBALB/c. وتبرز أهمية اختيار النموذج الحيواني المناسب لدراسة عدوى الليشمانية المدارية، ولاسيما في أبحاث الإمراضية والاستجابة المناعية وتقييم العلاجات واللقاحات المستقبلية.

الكلمات المفتاحية: الليشمانية المدارية،Nested-PCR ، القداد السوري الذهبي، فئرانBALB/c

---

* طالبة ماجستير- قسم الأحياء الدقيقة – كلية الطب البيطري – جامعة حماة.
** مُدرس - قسم الأحياء الدقيقة – كلية الطب البيطري – جامعة حماة.
*** أستاذ مساعد – قسم علم الحياة الحيوانية - كلية العلوم - جامعة دمشق.

Journal of Hama University
Series of Medical And Health Sciences
vol.1 –No.1-2026

مجلة جامعة حماة
سلسلة العلوم الطبية والصحية
المجلد الأول – العدد الأول - 2026

Study of *Leishmania tropica* Infection in Syrian Golden Hamster and BALB/c Mice

Reem Al-Attal [(1)] Morshed Adnan Kassouha [(2)] Chadi Soukkarieh [(3)]

(Received: 20 July 2026, Accepted: 19 August 2026)

ABSTRACT

This study investigated the clinical and pathological changes induced by experimental infection with *Leishmania tropica* in the Syrian golden hamster and BALB/c mice and compared their suitability as experimental animal models. In addition, the study evaluated the distribution of the parasite in the popliteal lymph node, spleen and bone marrow using nested polymerase chain reaction (Nested-PCR).

Thirty female animals (eight weeks old) were divided into two equal groups: 15 Syrian golden hamsters and 15 BALB/c mice. *Leishmania tropica* promastigotes were cultured in vitro and inoculated into the right hind footpad of each animal. Animals were monitored clinically for four months, and subsets were euthanized at monthly intervals for molecular detection of parasite DNA in the target organs.

Nested-PCR detected *L. tropica* DNA in the Syrian golden hamster during the first three months after infection in all three target organs, namely the popliteal lymph node, spleen, and bone marrow. In contrast, parasite DNA was detected in BALB/c mice only during the first month after infection and was limited to the popliteal lymph node and spleen. In the hamster group, transient footpad swelling and cutaneous lesions were observed in a limited number of animals, together with splenomegaly in some cases. In contrast, BALB/c mice showed no apparent clinical or pathological changes throughout the study period.

These findings demonstrate differences in susceptibility and infection dynamics between the two animal models. The Syrian golden hamster exhibited more prolonged persistence of parasite DNA than BALB/c mice, suggesting that it is a more suitable experimental model for investigating the early course of *L. tropica* infection. These results highlight the importance of selecting an appropriate animal model for studies of pathogenesis, host immune response and the evaluation of future therapeutic and vaccine candidates.

Keywords*:* Leishmania tropica, cutaneous leishmaniasis, Syrian golden hamster, BALB/c mice, Nested-PCR.

[(1)] MSc Student, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Hama University
[(2)] Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Hama University
[(3)] Associate Professor, Department of Animal Biology, Faculty of Science, Damascus University.

1-المقدمة Introduction

يُعد داء الليشمانية ***Leishmaniasis*** من أهم الأمراض الطفيلية المنقولة بواسطة مفصليات الأرجل التي تُصيب الإنسان والحيوان، وهو مرض مُنتشر على نطاق واسع في مختلف أنحاء العالم، حيث يعيش مئات الملايين من الأشخاص في نحو 98 دولة ضمن مناطق معرضة لخطر الإصابة (Dickson D. *et al.*, 2019; González *et al.*, 2010)

و تُصنف منظمة الصحة العالمية(WHO) داء الليشمانية ضمن الأمراض المدارية المهملة *Neglected Tropical Diseases (NTDs)*، كونه يتركز في مناطق جغرافية محددة تعاني من الفقر وسوء الخدمات الصحية، مثل المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية(المدارية)، بالإضافة إلى منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط (Alawieh *et al.*, 2014).

ينجم داء الليشمانية عن طفيلي من الأوالي السوطية، من عائلة المثقبيات Trypanosomatidae، وينتمي إلى جنس الليشمانية وينتقل عن طريق لسعة أنثى الفاصدة المُصابة وهي مسؤولة عن نصف مليون حالة وفاة سنوياً، مما يجعل داء الليشمانية المرض الطفيلي الثاني المميت بعد الملاريا(Heidari-Kharaji *et al.*, 2016).

وتُشير التقديرات العالمية إلى أن عدد حالات الإصابة بالليشمانية يصل إلى حوالي 12 مليون حالة، في حين يُقدر أن 350 مليون شخص حول العالم معرضون لخطر الإصابة، كما يتراوح معدّل الإصابة السنوي عالمياً بين 0,7 الى 1,2 مليون حالة جديدة.

أما من حيث توزع الحالات جغرافياً، تُظهر الإحصائيات أن ما نسبته 70إلى 75 %من إجمالي الحالات (نحو 10ملايين إصابة) تتركّز في عشر دول فقط، هي: كولومبيا وبيرو والبرازيل وكوستاريكا والجزائر وشمال السودان وإثيوبيا وأفغانستان وإيران وسورية(Jamal *et al.*, 2020).

يضم جنس الليشمانية أنواعاً كثيرة من الليشمانية، لكن من المعروف أن هناك 20 نوعاً يصيب الإنسان والحيوان، ويسبب أشكالاً سريرية رئيسة للمرض عند الانسان وهي داء الليشمانيات الجلدي *Cutaneous leishmaniasis* (CL)، وداء الليشمانيات الحشوي *Visceral leishmaniasis* (VL)، وداء الليشمانيات الجلدي المخاطي *Mucocutaneous leishmaniasis* (MCL)، وداء الليشمانيات الجلدي المنتشر *Diffuse cutaneous leishmaniasis* (DCL)، وداء الليشمانيات الناكس *Leishmaniasis recidivans* (LR) (Dickson D. *et al.*, 2019).

الشكل الأكثر شيوعاً والأقل فتكاً هو شكل الليشمانية الجلدي *Cutaneous Leishmaniasis* (CL) ، والذي يظهر على شكل آفات من القُرح والعقيدات والحطاطات واللويحات على أجزاء الجسم المكشوفة (الذراعين والساقين والوجه). وينتشر هذا الشكل من المرض حول العالم وخاصةً في منطقة الشرق الأوسط وأفريقيا، ومن المعروف بأن سورية لديها أعلى معدل انتشار لداء الليشمانيات الجلدي (CL) والذي ينتج بشكل رئيسي عن نوعي الليشمانية الكبرى *L. major* والليشمانية المدارية *L. tropica*، والتي يشار إليها غالباً باسم "حبة حلب" أو "قرحة السنة". في الآونة الأخيرة ازدادت حالات الإصابة بسبب الحرب (Alawieh *et al.*, 2014).

في سورية، يُعد داء الليشمانيات الجلدي مرضاً متوطناً منذ خمسينيات القرن الماضي، حيث سُجلت نحو 40,000 حالة إصابة جديدة سنوياً، ولا يزال المرض مستوطناً في عدد من المحافظات، خاصةً في محافظة حلب، بالإضافة إلى إدلب، واللاذقية، وطرطوس، وحماه، ومدينة دمشق. يُعزى ذلك إلى الانتشار الواسع لنوعي *L. major* و*L. tropica*، حيثُ يُمثل الأخير نحو 99%من حالات الإصابة. وتُظهر الإحصائيات أن 75% من هذه الإصابات كانت في الاشخاص المقيمين في قرى إدلب، وشمال حماه، وريف حلب.

من جهة أخرى، أظهرت دراسة استقصائية حديثة أن نحو 20% من الحالات لا يتم الإبلاغ عنها أو معالجتها، مما يشير إلى وجود مستودع بشري كبير للإصابات غير المُشخصة. كما أن أكثر من نصف المرضى لا يكملون مسارهم العلاجي، إذ ينقطعون عن العلاج تماماً قبل حدوث الشفاء التام. وهو ما يُسهم في استمرار سلاسل انتقال الخمج (Alvar *et al.*, 2012)(مرعي، 2025).

ونظراً لاحتمالية تعرض مئات الملايين من الناس لخطر الإصابة بداء الليشمانية وانتشار المرض السريع عالمياً وعدم توفر لَقاح مناسب وفعال ومُرخص للمرض حتى هذه اللحظة، وكذلك فقدان الكثير من الأدوية المستعملة حالياً لفعاليتها نتيجة ظهور سلالات مقاومة من هذا الطفيلي لا تتأثر بالأدوية كما في السابق، كان لابُد أن يكون هذا الطفيلي هدفاً للعديد من الدراسات الهادفة لفهم بيولوجيا حياته وتطوره، وتجربة العديد من الأدوية الجديدة والواعدة.

وضمن هذا الاطار يتم اجراء دراسات كثيرة على نوع الليشمانية الكبرى *L. major* بمساعدة الحيوان النمطي التجريبي Animal model الأمثل لدراستها في المختبرات وهي فئران (BALB/c) أو فئران (C57BL/6) (Suckow *et al.*, 2024)، في حين، وحتى هذه اللحظة، لا يوجد حيوان نمطي تجريبي مناسب يخدم الدراسات التي تستهدف نوع الليشمانية المدارية (Akküçük *et al.*, 2018) وكما هو معروف، لا يوجد حالياً لقاح معتمد ومتوفر لداء الليشمانية الجلدي، وإن تحديد حيوان التجربة الأمثل لداء الليشمانية الذي تسببه الليشمانية المدارية، الذي هو النوع الأكثر انتشاراً في سورية سيتيح لنا مستقبلاً تجربة وتقييم فعالية اللقاحات عبر دراسة الآفات وتطور المرض في النماذج الحيوانية (Nemati Zargaran *et al.*, 2020; van der Ende and Schallig, 2023)

يعد داء الليشمانيات *Leishmaniasis* مرضاً مدارياً وشبه مداري يسببه طفيلي وحيد خلية داخل خلوي وينتقل إلى الإنسان والحيوان عن طريق لدغة أنثى الفواصد *Phlebotomus*في العالم القديم، واللوتزومية *Lutzomyia* في العالم الجديد (الأمريكيتين). يصيب هذا الطفيلي الفقاريات وبشكل رئيس الإنسان، والكلاب، والقوارض، يتمتع هذا المسبب بأهمية عالمية متزايدة حيث يوجد تقريباً 20 نوعاً من الليشمانيات يصيب الإنسان (Akhoundi *et al.*, 2017; Akküçük *et al.*, 2018).

تتكاثر طفيليات الليشـــمانية في الخلايا البلعمية والخلايا التغصـــنية Dendritic cells والأورمات الليفية Fibroblasts وتشاهد داخل العَدِلات، ولديها إمكانية كبيرة لإلحاق الضرر بوظائف الجسم (Kobets *et al.*, 2012).
يُعد داء الليشمانيات الجلدي (CL) الشكل الأكثر شيوعاً والأقل فتكاً مقارنةً بالأشكال الأخرى. يتميز هذا الشكل بظهور آفات جلدية متقرحة في موضـع لدغ الفاصـدة الحاملة للطفيلي أو بجوارها. وهذا الشكل تسببه أنواع عديدة من الليشمانية، أهمها: الليشمانية الكبرى *L. major*، الليشمانية المدارية *L. tropica*، الليشمانية الأثيوبية *L. aethiopica*، الليشمانية المكسيكية *L. mexicana*، وغيرها(Akküçük *et al.*, 2018).
رغم إمكانية تسبب عدة أنواع من الليشمانية بداء الليشمانيات الجلدي لدى البشر، فإن معظم حالات الخمج غالباً ماتبقى دون أعراض. وتبدأ الإصـــابة عادةً بظهور احمرار جلدي بسـيط في موقع لدغة الفاصـــدة بعد فترة حضـــانة متغيرة. يتطور هذا الاحمرار إلى حطاطة، ثم إلى عقدة جلدية تتقرح تدريجياً خلال فترة تتراوح بين أســـبوعين إلى ســـتة أشـــهر، لتُكون الآفة الجلدية المميزة لهذا المرض(Reithinger *et al.*, 2007)
وتختلف أشكال وطبيعة الآفات الجلدية الناجمة عن كل نوع. حيث يُسبب نوع *L. tropica* إصابات من النمط الجاف Dry Type، والمعروف باســم داء الليشــمانيات الجلدي بشــري المنشــأ *Anthroponotic Cutaneous leishmaniasis* (ACL)، حيث يكون الإنســـان هو العائل الرئيس لهذا النوع. وعلى الرغم من ذلك، فقد كُشـف عن وجود *L. tropica* في عدد من الأنواع الحيوانية، بما في ذلك الكلاب، والوبر، وابن آوى، والثعالب(Ghatee *et al.*, 2020)
يوجد طفيلي الليشمانية حسب انتقاله من الثوي الفقاري إلى الثوي اللافقاري على شكلين رئيسين هما: الطور عديم السوط Amastigote والطور أمامي السوط Promastigote(Chiodini *et al.*, 2001)
أما بالنسـبة لدورة حياة طفيلي الليشـمانية فتصـاب أنثى الفاصـدة بالخمج عندما تتغذى على دم المُضـيف الفقاري الذي يحمل خلايا مصابة تحتوي على الطور عديم السوط Amastigote.
بعد دخول هذه الطفيليات إلى الجهاز الهضـمي للذبابة، تخضـع لسلسـلة من التغيرات الشـكلية والبيوكيميائية، حتى يتم إنشـاء الطور أمامي الســوط Metacyclic promastigotes شــديد الخمج في المعي المتوســط الأمامي للذبابة، ثم يهاجر نحو خرطومها، حيثُ يتم حقنها في أدمة المُضـيف من الثدييات أثناء اللدغ للحصـول على وجبة دم ثانية، لتبدأ دورة حياة جديدة. (Dickson D. *et al.*, 2019; Silva-Moreira *et al.*, 2025)
عقب اللدغـة، تنجذب العَدِلات إلى موقع اللدغ وتقوم بـابتلاع الطفيليـات، التي تتحول داخلهـا إلى الطور عـديم الســـوط Amastigote. وبعد خضـــوع العدلات للموت الخلوي المُبرمج، تقوم الخلايا البلعميةMacrophages بابتلاع بقاياها وما تحتويه من طفيليات، حيث تستمر هذه الأخيرة في التكاثر داخلها عبر الانقسام الثنائي البسيط.
تنتشر الطفيليات لاحقاً لتصيب خلايا أخرى(Efstathiou and Smirlis, 2021; Silva-Moreira *et al.*, 2025)

2-أهداف الدراسة Objectives of the study :

1- مقارنة سلوك الليشمانية المدارية *Leishmania tropica* وتطور المرض وتكاثر الطفيلي في كل من الفئران نوع BALB/c والقداد السوري الذهبي.
2- محاولة تحديد الحيوان التجريبي النمطي الأفضل الفئران نوع BALB/c أم القداد السوري الذهبي، وذلك لدراسة الليشمانية المدارية *Leishmania tropica* المسببة لداء الليشمانية الجلدية.

3- مواد البحث وطرائقه Materials and Methods:

3-1-حيوانات التجربة Experimental animals :

اسـتخدم في هذه الدراسـة 30 حيواناً سـليماً سـريرياً من إناث القوارض بعمر ثمانية أسـابيع، قُسـمت إلى مجموعتين متسـاويتين. ضـمت المجموعة الأولى 15 أنثى من القداد السوري الذهبي(Mesocricetus auratus) ، في حين ضمت المجموعة الثانية 15 أنثى من فئران سلالة BALB/c.
اختير هذان النموذجان الحيوانيان لمقارنة قابليتهما للإصـــابة بطفيلي *Leishmania tropica* وتقييم تطور الخمج. رُبيت الحيوانات في ظروف مخبرية قياسية، مع توفير الغذاء والماء بصورة حرة (ad libitum) طوال مدة الدراسة، وأُتيح لها فترة تكيّف قبل بدء الإجراءات التجريبية.

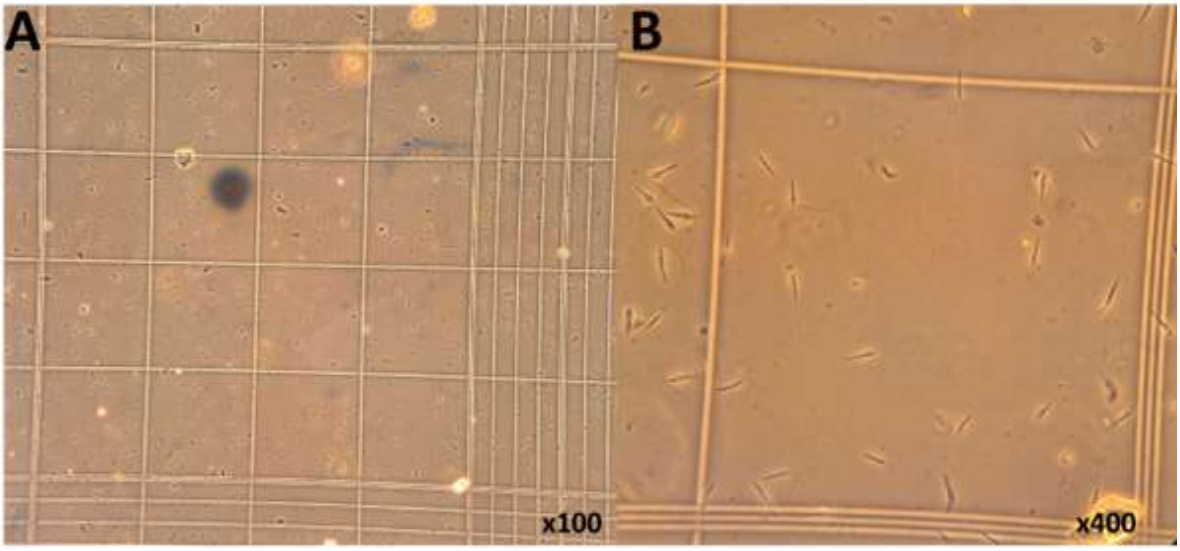
3-2-الحصول على طفيلي الليشمانية المدارية وإكثاره

تم الحصول على طفيلي الليشمانية المدارية من آفة جلدية في مدينة دمشق، حيث تم عزله وإكثاره في المختبر، من خلال زراعته في وسط الإكثار RPMI 1640 (PAN-Biotech, Cat. No. P04-16500) المدعَّم بـL-Glutamine ، والمضـاف إليه مصـل أجنة الأبقار

المعطَّل بالحرارة Fetal bovine serum (FBS) بتركيز10%. كما أُضيفت كمية من المضادات الحيوية ستربتوميسين بتركيز 500 , µg والبنسلين بتركيز 500 U، وحُضنت المنابت عند درجة حرارة 26˚C لمدة سبعة أيام(Cavus *et al.*, 2022).

تم عدّ الطفيليات باستخدام حجرات عدّادة Neubauer (الشكل 3-1)وذلك للحصول على العدد المطلوب من طفيليات الليشمانية اللازمة لحقن الحيوانات التجريبية، حيث تم حقن كل حيوان (سواءً كان من القداد أو الفئران) في وسادة القدم اليمنى Foot pad لإحداث الإصابة. حيث بلغ عدد الطفيليات المستخدمة لكل حيوان 6.5×10^6. تمت مراقبة الحيوانات دورياً كل ثلاثة أيام لملاحظة أي تغيرات سريرية.

بعد مرور شهر على حقن طفيلي الليشمانية، أُجريت عملية القتل الرحيم لثلاثة حيوانات من كل مجموعة. واستمرت عمليات القتل الرحيم لمدة أربعة أشهر، بفاصل زمني قدره شهر واحد بين كل عمليتي قتل رحيم متتاليتين.



الشكل 3-1: عد طفيليات الليشمانية المدارية باستخدام حجرة العد Neubauer
A : المربع العلوي الأيمن من مربعات عد الكريات البيضاء، بتكبير 100X
B : تكبير لأحد المربعات الستة عشر الصغيرة داخل المربع الكبير الموضح في الصورة (A) ، بتكبير400X

3-3-تشريح الحيوانات وجمع العينات

بعد إجراء القتل الرحيم، تم وضع حيوان التجربة على سطح تشريحي مناسب، ثم أُجري التشريح وفقاً للأصول العلمية بهدف استخراج الطحال، والعقدة اللمفية المأبضية، بالإضافة إلى نقي العظم، الذي تم الحصول عليه عن طريق قص رأسي عظم الفخذ وشطف نقي العظم باستخدام محقن معقّم يحتوي على0.5 ml من محلول ملحي Saline.

4-3-استخلاص الـ DNA: DNA Extraction

تم استخلاص الحمض النووي DNA من النسج باستخدام العتيدة التجارية **Genomic DNA Isolation Kit (Tissue) Cat. No. NA026-0100**، وذلك وفقاً لتعليمات الشركة المُصنّعة **(GeneDireX, Taoyuan)**

5-3-تفاعل البوليمراز المتسلسل المعشّش (Nested PCR)

بعد الحصول على العينات، أُجري تفاعل البوليمراز المتسلسل المعشّش Nested-PCR للكشف عن طفيلي الليشمانية المدارية. تم استخدام تسلسلات المرئسات Primers التي تم الحصول عليها من شركة (Macrogen, South Korea) وفق ما ورد في الدراسات (Azizi K *et al.*, 2013; Mohammadi-Azni *et al.*, 2022; Noyes *et al.*, 1998) كما هو موضح في (الجدول 3-1).

الجدول 3-1: تسلسلات المرئسات (Primers) المستخدمة في اختبار Nested-PCR للكشف عن طفيلي الليشمانية المدارية *Leishmania tropica*

	تسلسله'3--------'5	اسم المرئس
Primary PCR	C/GA/GTA/GCAGAAAC/TCCCGTTCA	CSB2XF
	ATTTTTCG/CGA/TTTT/CGCAGAACG	CSB1XR
Secondary PCR	ACTGGGGGTTGGTGTAA AATAG	13Z
	TCGCAGAACGCCCCT	LiR

تم اللجوء إلى هذه التسلسلات من المرئسات لقدرتها على التمييز بين أنواع الليشمانية المسجلة في سورية (المدارية، والكبرى، والطفلية) اعتماداً على طول ناتج التفاعل، دون الحاجة لأية إجراءات أو تحاليل إضافية.
أُجريت التفاعلات على الحمض النووي (DNA) المُستخلص من عينات كلّ من: الطحال، والعقدة اللمفية المأبضية، ونقي العظم. بالإضافة إلى وجود شاهد سلبي (تفاعل لا يحتوي على DNA) وشاهد إيجابي (عينات تحتوي على DNA لطفيلي الليشمانية المدارية، مدروسة ومُنمطة مسبقاً، لأغراض المقارنة).
تم استخدام إنزيمTaq DNA Polymerase، من شركة(Vivantes) ، لتنفيذ تفاعلات التضخيم. أجريت التفاعلات باستخدام جهاز المدور الحراري (thermal cycler) من طراز TECHNE-TC- 512، (Noyes *et al.*, 1998) وفق البرنامج التالي:
مرحلة التمسخ الأولي Initial denaturation: 95 C˚ مدة 5 دقائق، دورة واحدة.
35 دورة من التضخيم PCR Cycles على الشكل التالي: 94˚ C مدة 40 ثانية، 55˚C مدة 50 ثانية، 72˚C مدة 1 دقيقة و30 ثانية.
مرحلة الاستطالة النهائية Final extension: 72˚C مدة 5 دقائق، دورة واحدة.
تم استخدام هذا البرنامج لكل من التفاعل الأولي والثاني.

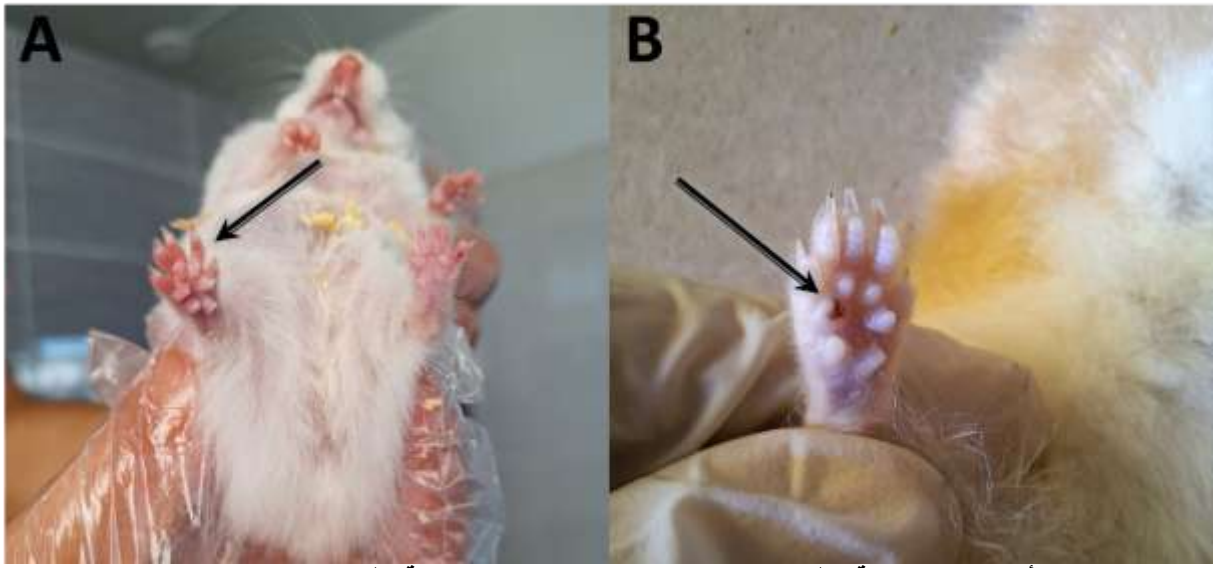
3-6-الرحلان الكهربائي في هلامة الأغاروز

تم تحضير هلامة الأغاروز بتركيز1.5 % باستخدام دارئة TBE بتركيز (1X)، ثم تم تحميل العينات مع سُلَّم أطوال الحمض النووي. تم فحص الهلام باستخدام جهاز توثيق الهلام بالأشعة فوق البنفسجية Gel Documenter، وذلك لتحري وجود الحمض النووي الخاص ب الليشمانية المدارية، والذي يظهر عند الطول الجزيئي 750bp.

4-النتائج Results

4-1-المجموعة الأولى: القداد السوري الذهبي

تم حقن 15 أنثى من القداد السوري الذهبي بطفيليات الليشمانية بتاريخ 2024/7/16. خلال الشهر الأول من التجربة، لوحظ ظهور بعض الأعراض السريرية، حيث تمثّلت في تورم وسادة القدم عند ست حيوانات (الشكل 4-1 A)، حيث تشكلت آفات جلدية واضحة في اثنين من هذه الحيوانات في الشهر الأول (الشكل 4-1 B)، وقد اختفت هذه الآفات بعد أسبوعين من ظهورها.



الشكل4-1: الأعراض السريرية الظاهرة على حيوانين من القداد بعد الإصابة بطفيليات*Leishmania tropica*
A: يُظهر تورم في وسادة القدم بعد الإصابة بالليشمانية ،B :آفة جلدية واضحة في وسادة القدم ناتجة عن الإصابة بالطفيلي.

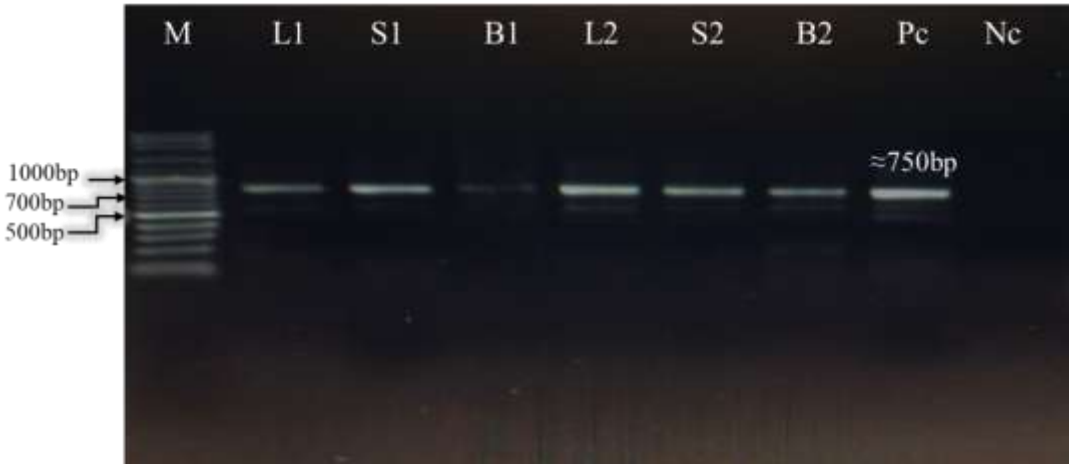
كما لوحظ أثناء التشريح تضخُّم في الطحال لدى حالتين من أصل ثلاث حيوانات تم قتلها قتلاً رحيماً في تلك الفترة. أما خلال الفترة الكاملة للتجربة، فلم تُسجل أي تغيّرات ملحوظة في أوزان الحيوانات. كما بقيت الحيوية العامة للحيوانات جيدة دون ظهور علامات ضعف أو خمول. كذلك، حافظت الحيوانات على كساء شعري سليم طوال مدة الدراسة، دون تساقط يُذكر.

أظهرت نتائج تفاعل البوليمراز المتسلسل المعشّش Nested-PCR للكشف عن الحمض النووي لطفيلي الليشمانية المدارية *Leishmania tropica* نتائج إيجابية خلال الأشـهر الثلاثة الأولى بعد الخمج (الشـكل 4-2)، في حين كانت النتائج سـلبية في الشـهر الرابع، تم إجراء تفاعل إضـافي في الشـهر الخامس لتأكيد النتيجة، وكان سـلبياً. يؤكد ذلك اختفاء الحمض النووي للطفيلي في هذه المرحلة لدى هذه المجموعة، كما هو موضـح في أيضـاً (الجدول 4-1). تجدر الإشـارة إلى أن جميع العينات الإيجابية لم تظهر في التفاعل الأول، بينما ظهرت في التفاعل الثاني.

الجدول 4-1: نتائج تفاعل Nested-PCR في أعضاء مجموعة القداد خلال الفترات الزمنية المختلفة للقتل الرحيم.

*** بدأت التجربة بحقن 15 أنثى من القداد السوري الذهبي بطفيليات الليشمانية المدارية بتاريخ 2024/7/16.**

القتل الرحيم وتاريخه*	العينات	العقدة اللمفية المأبضية	الطحال	نقي العظم
اعدام 2024/8/16	همستر1:	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي
	همستر2:	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي
	همستر3:	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي
اعدام 2024/9/16	همستر1:	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي
	همستر2:	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي
	همستر3:	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي
اعدام 2024/10/16	همستر1:	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي
	همستر2:	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي
	همستر3:	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي
اعدام 2024/11/16	همستر1:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
	همستر2:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
	همستر3:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
اعدام 2024/12/16	همستر1:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
	همستر2:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
	همستر3:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي



الشكل4-2: نتائج التفاعل الثاني لاختبارNested-PCR الخاص بالأنسجة المجموعة من اثنين من حيوانات القداد، حيث تظهر أنطقة الـDNA في ست عينات إيجابية بطول يُقارب 750 bp

S:الطحال Spleen، L: العقدة اللمفية المأبضية Popliteal lymph node، B: نقي العظم Bone marrow، Pc: الشاهد الإيجابي، Nc: الشاهد السلبي، M: مُعَلِّم أطوال الـ DNA (100bp)

4-2-المجموعة الثانية: الفئران من سلالة BALB/c

تم حقن 15أُنثى من فئران ســـلالة BALB/c بطفيليات الليشـــمانية بتاريخ 2024/7/16. خلال الفترة الكاملة للتجربة، لم تلاحظ أي أعراض سريرية على الفئران، سواء من حيث الشكل الظاهري أو تغيّر الوزن. كما لم يُلاحظ أي تضخم أو فروق بين طحالات الفئران.

بقيت الحيوية العامة للحيوانات جيدة، دون ظهور علامات ضعف أو خمول. كذلك، حافظت الفئران على كساء شعري سليم طوال فترة الدراسة، دون تساقط يُذكر.

أظهرت نتائج تفاعل البوليمراز المتسلسل المعشّش Nested-PCR للكشف عن الحمض النووي لطفيلي الليشمانية المدارية *Leishmania tropica* نتائج إيجابية خلال الشـهر الأول بعد الخمج، ونتائج سـلبية في الأشـهر الثاني، والثالث، والرابع (جدول 4-2).

الجدول 4-2: نتائج Nested PCR للفئران من سلالةBALB/c

القتل الرحيم وتاريخه*	العينات	العقدة اللمفية المأبضية	الطحال	نقي العظم
اعدام 2024/8/16	فأر1:	تفاعل إيجابي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
	فأر2:	تفاعل إيجابي	تفاعل إيجابي	تفاعل سلبي
	فأر3:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
اعدام 2024/9/16	فأر1:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
	فأر2:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
	فأر3:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
	فأر4:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
اعدام 2024/10/16	فأر1:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
	فأر2:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
	فأر3:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
	فأر4:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
اعدام 2024/11/16	فأر1:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
	فأر2:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
	فأر3:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي
	فأر4:	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي	تفاعل سلبي

*** بدأت التجربة بحقن 15 أنثى من فئران سلالة BALB/c بطفيليات الليشمانية المدارية بتاريخ 2024/7/16.**

5-المناقشة Discussion:

أظهرت الدراسة الحالية أن الخمج التجريبي بـــ *Leishmania tropica* في القداد السوري الذهبي السليم مناعياً أدت إلى ظهور اسـتجابة سـريرية ومرضـية محدودة تمثلت بحدوث تورم في وسـادة القدم لدى بعض الحيوانات وظهور آفات جلدية مؤقتة لدى عدد محدود منها، مع اختفائها خلال فترة قصـــيرة. ويُعد تورم وســـادة القدم من العلامات المبكرة للالتهاب الموضـعي الناتج عن اسـتجابة المضـيف لوجود الطفيلي في موقع الحقن، وهو ما يتفق مع ما أشـار إليه (Bastien and Killick-Kendrick, 1992) بشأن قابلية هذا النموذج الحيواني للإصابة بـ *L. tropica* وتطور تغيرات موضعية متفاوتة الشـدة. كما أن التباين في شـدة الاسـتجابة بين الحيوانات يتوافق مع ما ذكره (Ribeiro-Romão *et al.*, 2014)، والذي أرجع اختلاف تطور الآفات الجلدية في القداد إلى التباين الفردي والخلفية الوراثية للمضيف.

وقد يعكس اختفاء الآفات الجلدية خلال فترة قصيرة انخفاض الحمل الطفيلي في موضع الحقن أو تطور استجابة مناعية أكثر كفاءة، إلا أن غياب العلامات الســريرية لا يُعد دليلًا على التخلص الكامل من الطفيلي، إذ قد تســتمر أعداد قليلة من أطوار Amastigotes داخل الخلايا البلعمية دون إحداث تغيرات جلدية واضـحة. وهو ما يتفق مع ما أشـار إليه (Rostamian and Niknam, 2019). كما لوحظ تضـخم الطحال في بعض الحيوانات خلال المرحلة المبكرة من الخمج، مما يشـير إلى احتمال حدوث انتشـار مبكر للطفيلي إلى أعضـاء جُملة البلعميات والوحيدات - (Mononuclear Phagocyte System MPS). وتدعم هذه النتيجـة مـا أورده (Bastien and Killick-Kendrick, 1992) حول قدرة بعض عزلات *L.*

*tropica*على إحداث إصـابة حشـوية في نموذج القداد، في حين قد يسـهم الانخفاض النسـبي في كفاءة آليات قتل الطفيلي داخل الخلايا البلعمية في استمرار الخمج خلال المراحل المبكرة (Nieto *et al.*, 2011).

وعلى المستوى الجزيئي، أظهرت نتائج Nested PCRالكشف عن الحمض النووي للطفيلي خلال الأشـهر الثلاثة الأولى بعد الخمج، ثم أصـبحت النتائج سـلبية في الشـهرين الرابع والخامس، مما يشـير إلى انخفاض الحمل الطفيلي إلى مسـتوى لم يعد بالإمكان الكشـف عنه بالتقنية المسـتخدمة. كما أن ظهور الإيجابية فقط بعد إجراء التفاعل الثاني يؤكد الحسـاسـية العالية لتقنية Nested PCR في الكشـف عن الإصـابات ذات الحمل الطفيلي المنخفض. ومع ذلك، فإن سـلبية الفحص الجزيئي لا تعني بالضرورة القضاء الكامل على الطفيلي، إذ قد يستمر بأعداد قليلة منه في بعض الأنسجة دون تجاوز حد الكشف، وهو ما يتفق مع ما أورده (Espitia *et al.*, 2010; Nylén and Eidsmo, 2012).

وعلى النقيض من نتائج القداد السـوري الذهبي، لم تُظهر فئران BALB/c علامات سـريرية واضـحة، كما أصـبح الحمض النووي لطفيلي *L. tropica* غير قابل للكشـف بعد الشـهر الأول من الإصـابة. وقد يعكس ذلك اختلاف اسـتجابة المضـيف للخمج تبعاً للخلفية الوراثية، إضـافة إلى تأثرها بخصـائص العزلة الطفيلية وجرعة الخمج. ومن المُحتمل أن تكون الجرعة المستخدمة (6.5×10^6 طفيلي)قد أسـهمت في تحفيز استجابة مناعية حدت من استمرار الحمل الطفيلي، وهو ما انعكس في اختفاء الكشف الجزيئي خلال الأشهر اللاحقة من التجربة، دون تطور إصابة جلدية أو حشوية واضحة.

وتدعم هذه النتائج ما أشـار إليه (Loeuillet *et al.*, 2016) من أن عدوى *L. tropica* في فئران BALB/c قد تُحفّز استجابة مناعية تميل إلى النمط Th1، الأمر الذي يرتبط عادة بإصابة محدودة تميل إلى الشفاء الذاتي. وفي المقابل، أظهرت دراسـة (Mahmoudzadeh-Niknam *et al.*, 2007) اسـتمرار وجود الطفيلي في بعض الأعضـاء الحشـوية رغم السـيطرة على نموه في وسـادة القدم، بينما أظهرت الدراسـة الحالية اختفاء الحمض النووي للطفيلي بعد الشـهر الأول. وقد يعود هـذا الاختلاف إلى تبـاين العزلات الطفيليـة، أو جرعـة الخمج، أو بروتوكول التلقيح، أو الاختلاف في ديـنـاميكيـة الاستجابة المناعية بين الدراسات.

وبصـورة عامة، توضـح نتائج الدراسـة أن مسـار خمج *L. tropica* يختلف باختلاف النموذج الحيواني، إذ أظهر القداد السوري الذهبي قابلية أكبر لاستمرار الخمج وظهور تغيرات مرضية مبكرة، في حين أظهرت فئران BALB/c قدرة أكبر على خفض الحمل الطفيلي خلال فترة أقصر.

وتؤكد هذه الملاحظات أهمية اختيار النموذج الحيواني المناسب وفق الهدف من الدراسـة، كما تبرز ضـرورة الاعتماد على التقييم السريري والمرضي والجزيئي مجتمعة عند دراسة الخمج بطفيلي الليشمانية وتفسير نتائجها.

6-الاستنتاجات Conclusions:

1- أظهر الخمج التجريبي بـ *Leishmania tropica*في القداد السوري الذهبي استجابة سريرية ومرضية محدودة، تمثلت بظهور تورم في وسـادة القدم وآفات جلدية عابرة لدى بعض الحيوانات، مع وجود دليل جزيئي على انتشـار الطفيلي إلى بعض الأعضاء الداخلية خلال الأشهر الثلاثة الأولى بعد الخمج.

2- اسـتمر الكشـف عن الحمض النووي للطفيلي في العقدة اللمفية المأبضـية والطحال ونقي العظم في القداد خلال الأشـهر الثلاثة الأولى، ثم أصـبح غير قابل للكشـف باسـتخدام تقنية Nested-PCRفي الشـهرين الرابع والخامس، مما يشـير إلى انخفاض الحمل الطفيلي مع تقدم الخمج دون أن يثبت بالضرورة التخلص الكامل من الطفيلي.

3- لم تُظهر فئران BALB/cتغيرات سـريرية أو مرضـية واضـحة، كما اقتصـر الكشـف الجزيئي عن الحمض النووي للطفيلي على الشهر الأول بعد الخمج، مما يشير إلى انخفاض الحمل الطفيلي بصورة أسرع مقارنةً بالقداد السوري الذهبي.

4- تشـير النتائج إلى أن القداد السـوري الذهبي يُعد نموذجاً تجريبياً أكثر ملاءمة من فئران BALB/cلدراسـة المراحل المبكرة من الخمج بـــ *Leishmania tropica*، ولاسـيما فيما يتعلق باسـتمرار الحمل الطفيلي وإمكانية متابعة التغيرات المرضية خلال الأشهر الأولى بعد الإصابة.

7-التوصيات Recommendations:

1- متابعة الدراسات والعمل من أجل إيجاد نموذج حيواني تجريبي لدراسة الليشمانية المدارية.

2- اعتماد تقنية Nested PCR كأداة جزيئية عالية الحساسية للكشف عن وجود طفيليات *Leishmania tropica* ، ولاسيما في الحالات ذات الحمل الطفيلي المنخفض، للمساعدة في تشخيص الحيوانات المصابة أو الحاملة للعدوى من القداد والقوارض الأخرى.

3- إجراء دراسات مستقبلية لتقييم أنماط الاستجابة المناعية في القداد السوري الذهبي وفئران BALB/c تجاه الليشمانية المدارية المنتشرة في سوريا.

8-المراجع References:

المراجع العربية:

1-مرعي، مؤيد يزبك (2025): التوصيف والتنميط الجزيئي لعزلات محلية من طفيليات الليشمانيا المسببة للداء الجلدي في سورية، أطروحة مقدمة لنيل درجة الدكتوراه في علم الحياة الحيوانية، كلية العلوم، جامعة دمشق.

English references:

Akhoundi, M.; Downing, T.; Votypka, J.; Kuhls, K.; Lukes, J.; Cannet, A.; Ravel, C.; Marty, P.; Delaunay, P.; Kasbari, M.; Granouillac, B.; Gradoni, L.;Sereno, D., (2017). Leishmania infections: Molecular targets and .diagnosis. Molecular aspects of medicine 57, 1-29

Akküçük, Ş.; Kaya, Ö.M.;Yaman, M., (2018). What is the best animal model for .leishmaniasis studies? Turkish Journal of Veterinary Research 2, 28-31

Alawieh, A.; Musharrafieh, U.; Jaber, A.; Berry, A.; Ghosn, N.;Bizri, A.R., (2014). Revisiting leishmaniasis in the time of war: the Syrian conflict and the Lebanese outbreak. International Journal of Infectious Diseases .29, 115-119

Alvar, J.; Vélez, I.D.; Bern, C.; Herrero, M.; Desjeux, P.; Cano, J.; Jannin, J.; Leishmaniasis Worldwide and .(012Boer, M.d.;the, W.H.O.L.C.T., (2 .Global Estimates of Its Incidence. PLOS ONE 7, e35671

Azizi K; Badzohreh A; Sarkari B; Fakoorziba MR; Kalantari M; Moemenbellah-Fard MD;M., A.-A., (2013). Nested polymerase chain reaction and leishmania infection of sand flies in recently sequence- based detection of

emerged endemic focus of zoonotic cutaneous leishmaniasis, southern .iran. Iran J Med Sci. 38, 156-162

Bastien, P.;Killick-Kendrick, R., (1992). Leishmania tropica infection in hamsters and a review of the animal pathogenicity of this species. .Experimental parasitology 75, 433-441

Cavus, I.; Aksoy, T.; Yildirim, A.; Sahin, M.T.;Ozbilgin, A., (2022). Could RPMI-1640 Medium be Used in the Diagnosis and Isolation of Cutaneous Turkiye parazitolojii dergisi 46, ?Leishmaniasis Lacking NNN Medium .249-252

Chiodini, P.L.; Moody, A.H.;Manser, D.W., (2001). Atlas of medical .helminthology and protozoology. Churchill Livingstone

Dickson D., D.; Daniel O., G.; Robert W., G.; Peter J. , Hotez;Charles A., K., .(2019). Parasitic Diseases, Vol Seventh Edition

Efstathiou, A.;Smirlis, D., (2021). Leishmania Protein Kinases: Important Regulators of the Parasite Life Cycle and Molecular Targets for Treating .Leishmaniasis. Microorganisms 9, 691

Espitia, C.M.; Zhao, W.; Saldarriaga, O.; Osorio, Y.; Harrison, L.M.; Cappello, M.; Travi, B.L.;Melby, P.C., (2010). Duplex real-time reverse transcriptase PCR to determine cytokine mRNA expression in a hamster .model of New World cutaneous leishmaniasis. BMC Immunology 11, 31

A.; Taylor, W.R.;Karamian, M., (2020). The Geographical .Ghatee, M Distribution of Cutaneous Leishmaniasis Causative Agents in Iran and Its Neighboring Countries, A Review. Frontiers in Public Health Volume 8 - .2020

González, C.; Wang, O.; Strutz, S.E.; González-Salazar, C.; Sánchez-Cordero, V.;Sarkar, S., (2010). Climate Change and Risk of Leishmaniasis in North

America: Predictions from Ecological Niche Models of Vector and .Reservoir Species. PLOS Neglected Tropical Diseases 4, e585

T.; Doroud, D.; Habibzadeh, S.;Rafati, S., (2016). ,Heidari-Kharaji, M.; Taheri Solid lipid nanoparticle loaded with paromomycin: in vivo efficacy against Leishmania tropica infection in BALB/c mice model. Applied .microbiology and biotechnology 100, 7051-7060

Jamal, Q.; Shah, A.; Rasheed, S.B.;Adnan, M., (2020). In vitro Assessment and Characterization of the Growth and Life Cycle of Leishmania tropica. .Pakistan Journal of Zoology 52

Kobets, T.; Havelkova, H.; Grekov, I.; Volkova, V.; Vojtiskova, J.; Slapnickova, M.; Kurey, I.; Sohrabi, Y.; Svobodova, M.; Demant, P. andLipoldova, M., (2012). Genetics of host response to Leishmania tropica in mice - different control of skin pathology, chemokine reaction, and invasion into .spleen and liver. PLoS neglected tropical diseases 6, e1667

Loeuillet, C.; Bañuls, A.-L.;Hide, M., (2016). Study of Leishmania pathogenesis .in mice: experimental considerations. Parasites & vectors 9, 144

Mahmoudzadeh-Niknam, H.; Kiaei, S.S.;Iravani, D., (2007). Viscerotropic growth pattern of Leishmania tropica in BALB/c mice is suggestive of a murine model for human viscerotropic leishmaniasis. The Korean journal .of parasitology 45, 247-253

Mohammadi-Azni, S.; Kalantari, M.;Pourmohammadi, B., (2022). Molecular Detection of Leishmania Infection in Phlebotomine Sand Flies from an Endemic Focus of Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis in Iran. Journal of .arthropod-borne diseases 16, 233-242

Nemati Zargaran, F.; Rostamian, M.; Akya, A.;Niknam, H.M., (2020). Leishmania tropica:The comparison of two frequently-used methods of

parasite load assay in vaccinated mice. Asian Pacific Journal of Tropical .Biomedicine 10, 248–253

Nieto, A.; Domínguez-Bernal, G.; Orden, J.A.; De La Fuente, R.; Madrid-Elena, N.;Carrión, J., (2011). Mechanisms of resistance and susceptibility to experimental visceral leishmaniosis: BALB/c mouse versus syrian .hamster model. Veterinary Research 42, 39

Noyes, H.A.; Reyburn, H.; Bailey, J.W.;Smith, D., (1998). A Nested-PCR-Based Schizodeme Method for Identifying Leishmania Kinetoplast Minicircle Classes Directly from Clinical Samples and Its Application to the Study of the Epidemiology of Leishmania tropica in Pakistan. Journal .of Clinical Microbiology 36, 2877-2881

Nylén, S.;Eidsmo, L., (2012). Tissue damage and immunity in cutaneous .leishmaniasis. Parasite Immunology 34, 551–561

Reithinger, R.; Dujardin, J.-C.; Louzir, H.; Pirmez, C.; Alexander, B.;Brooker, S., (2007). Cutaneous leishmaniasis. The Lancet Infectious Diseases 7, .581-596

Ribeiro-Romão, R.P.; Moreira, O.C.; Osorio, E.Y.; Cysne-Finkelstein, L.; Gomes-Silva, A.; Valverde, J.G.; Pirmez, C.; Da-Cruz, A.M.;Pinto, E.F., (2014). Comparative evaluation of lesion development, tissue damage, and cytokine expression in golden hamsters (Mesocricetus auratus) infected by inocula with different Leishmania (Viannia) braziliensis .concentrations. Infect Immun 82, 5203-5213

Rostamian, M.;Niknam, H.M., (2019). Chapter One - Leishmania tropica: What we know from its experimental models, In: Rollinson, D.;Stothard, J.R. .(Eds.) Advances in Parasitology. Academic Press, pp. 1-38

Silva-Moreira, A.L.; Serravite, A.M.; Rios-Barros, L.V.; Menezes, J.P.B.d.; Horta, M.F.;Castro-Gomes, T., (2025). New insights into the life cycle,

host cell tropism, and infection amplification of Leishmania spp. Infection .and Immunity 93, e00123-00125

Suckow, M.A.; Bolton, I.D.;McDowell, M.A., (2024). Overview and Approaches for Handling of Animal Models of Leishmaniasis. .Comparative medicine 74, 148–155

van der Ende, J.;Schallig, H., (2023). Leishmania Animal Models Used in Drug Discovery: A Systematic Review. Animals : an open access journal from .MDPI 13