

Effectiveness of tetrodotoxin extracted from the Puffer fish - Lagocephalus suezensis- against some bacteria causing skin ulcers (Laboratory experiment on one sample)

Boushra Alali * 

Dr. Haitham Yazagi **

Dr. Zouhair Almajid ***

(Received 2 / 2 / 2026. Accepted 26 / 2 / 2026)

□ ABSTRACT □

This study aimed to evaluate the antibacterial efficacy of tetrodotoxin (TTX) extract derived from the toxic organs of the pufferfish *Lagocephalus suezensis*- against bacteria causing skin ulcers in humans, a common clinical condition often complicated by bacterial infections that delay healing. Key causative agents include *Staphylococcus aureus*- and *Pseudomonas aeruginosa*-.

Fish samples were collected, and the toxin was extracted from the liver gonads, skin, and muscles using a chemical extraction method. The efficacy to the extract was then tested against the bacterial isolates using the disk diffusion method at various concentrations.

The results showed a clear inhibitory effect of the extract against all tested bacterial strains. The highest susceptibility was observed in *Staphylococcus aureus*-, with a mean inhibition zone diameter of 3.2 cm at a concentration of 1 µg/ml, followed by *Pseudomonas aeruginosa*-. This indicates the potential of tetrodotoxin as a promising natural antibiotic for the treatment of certain human diseases, particularly in light of the growing problem of bacterial antibiotic resistance. However, its high toxicity must be considered, and further studies are essential before any clinical application.

Keywords: Pufferfish, Tetrodotoxin, Cutaneous ulcers, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

Copyright



:Latakia University journal (formerly Tishreen) -Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

* PhD Student - Faculty of sciences - Latakia university (formerly Tishreen) – Latakia- Syria.

boushra.alali@Latakia-univ.edu.sy

** Professor - Faculty of medicine- Department of Laboratory Medicine - Latakia university (formerly Tishreen) – Latakia- Syria.

*** Professor - Faculty of sciences - Latakia university (formerly Tishreen)- Latakia – Syria.

فعالية التترودوتوكسين المستخلص من أسماك البالون *Lagocephalus suezensis* - تجاه بعض الجراثيم المسببة للتقرحات الجلدية (تجربة مخبرية على عينة واحدة)

بشرى العلي*

د. هيثم يازجي**

د. زهير المجيد***

تاريخ الإيداع 2 / 2 / 2026. قبل للنشر في 26 / 2 / 2026

□ ملخص □

يهدف هذا البحث إلى تقييم الفعالية المضادة للجراثيم لمستخلص التترودوتوكسين (TTX) من الأعضاء السامة لسمكة البالون - *Lagocephalus suezensis* - تجاه بعض الجراثيم المسببة للتقرحات الجلدية التي تصيب الإنسان، وهي من الأمراض السريرية الشائعة وقد تترافق مع إنتانات جرثومية تؤخر عملية الشفاء، ومن أهم تلك الجراثيم: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

تمّ جمع العينات من الأسماك لاستخلاص المركب السام من (الكبد، المناسل، الجلد، العضلات) بتطبيق طريقة الاستخلاص الكيميائي، ثمّ اختُبرت فعالية المستخلص باستخدام اختبار الانتشار بالأقراص وبتراكيز مختلفة. أظهرت النتائج فعالية مثبتة واضحة للمستخلص تجاه جميع السلالات الجرثومية المختبرة، حيث سُجّلت أعلى حساسية لدى جراثيم - *Staphylococcus aureus* - بمتوسط قطر تثبيط 3.2 سم عند التركيز 1 ميكروغرام/مل، تلتها - *Pseudomonas aeruginosa* - وهذا يشير إلى إمكانية اعتماد التترودوتوكسين كمضاد حيوي طبيعي واعد والاستفادة منه في معالجة بعض الأمراض التي تصيب الإنسان، خاصةً في ظل تزايد مشكلة مقاومة الجراثيم للصادات الحيوية، مع ضرورة مراعاة سميته العالية والتأكيد على إجراء مزيد من الدراسات قبل التطبيق السريري. الكلمات المفتاحية: سمكة البالون، التترودوتوكسين، التقرحات الجلدية، *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

حقوق النشر : مجلة جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً) - سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

* طالبة دكتوراه ، ، كلية العلوم، جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً)، اللاذقية - سوريا. boushra.alali@Latakia-univ.edu.sy
** أستاذ، قسم علم الطب المخبري، كلية الطب، جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً) - اللاذقية - سوريا.
*** أستاذ، كلية العلوم، جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً) - اللاذقية - سوريا.

مقدمة:

تعد التقرحات الجلدية أحد أهم الحالات السريرية الأكثر شيوعاً، وتشكل عبئاً كبيراً على الصحة العامة، نظراً لارتفاع معدلات حدوثها وصعوبة علاجها عند العديد من المرضى [1]. وغالباً ما تلعب جراثيم - *Staphylococcus aureus* - ، - *Pseudomonas aeruginosa* - دوراً رئيساً في إحداث إنتانات متقدمة أو تؤخر شفاء الجروح [2 ، 3]. وفي ظل تزايد مقاومة الجراثيم للصادات الحيوية خلال العقدين الأخيرين، ظهرت الحاجة إلى مركبات جديدة ذات فعالية كبيرة مضادة للجراثيم، خاصة المستخلصة من المصادر الطبيعية والبحرية ومنها السموم البحرية [4 ، 5].

يعد سم التترودوتوكسين (TXX) مركباً شديداً الفعالية بيولوجياً، وهو أحد أقوى السموم العصبية [6]، ويوجد بتراكيز مختلفة في عدة أنواع من أسماك البالون، أبرزها سمكة البالون - *Lagocephalus suezensis* - [7]، الشكل (1)، وهي منتشرة في شرق البحر المتوسط، وعلى الرغم من كونه ساماً بجرعات تتجاوز /2/ ملغ عند الإنسان، إلا أن الجرعات الصغيرة والدقيقة منه قد تمتلك خصائص دوائية ذات أهمية كبيرة، بما في ذلك فعاليات مضادة للجراثيم [8 ، 9]. وقد أظهرت دراسة سابقة أن مستخلص التترودوتوكسين لأسماك البالون - *Lagocephalus suezensis* -، - *Lagocephalus Sceleratus* - يمتلك تأثيراً مثبطاً ملحوظاً تجاه عدد من الجراثيم الممرضة للإنسان [10].



الشكل (1) الشكل العام لسمكة - *Lagocephalus suezensis* - المصطادة في المياه البحرية

لمحافظة اللاذقية، سورية خلال العام 2025

أهمية البحث وأهدافه:**أهمية البحث:**

تعدّ دراسة فعالية المادة السامة المستخلصة من أعضاء جسم أسماك البالون - *Lagocephalus suezensis* - تجاه الأحياء الدقيقة المسببة للتقرحات الجلدية من الأبحاث المهمة في مجال التقانة الحيوية البحرية. ومن هنا تأتي أهمية البحث، في التوجه نحو الحصول على مواد طبيعية ذات أهمية علاجية من الكائنات الحية البحرية، واستخدامها كصادات حيوية غير تقليدية لمعالجة التقرحات الجلدية التي تصيب الإنسان.

أهداف البحث:

يهدف البحث إلى استخلاص التترودوتوكسين من أنسجة سمكة - *Lagocephalus suezensis* - وتقييم فعاليته تجاه بعض الجراثيم المسببة لتقرحات الجلدية الممرضة للإنسان.

طرائق البحث ومواده:

لتحقيق أهداف البحث اعتمدت منهجية عمل متكاملة، وفق عدة مراحل:

✓ جمع العينات واستخلاص السم:

جُمعت عينات مختلفة الأحجام من أسماك - *Lagocephalus suezensis* - بوسائل صيد محلية (شباك، أقفاص) في المياه البحرية لمحافظة اللاذقية على أعماق تتراوح بين الـ 25 - 50 متر، ثم نُقلت العينات مباشرةً إلى مختبر الدراسات العليا في قسم علم الحياة الحيوانية في كلية العلوم بجامعة اللاذقية لإجراء العمل المخبري، والحصول على مستخلصات الأعضاء السامة في كلٍ من (الكبد، المناسل، الجلد، العضلات).

جُمعت أنسجة الأعضاء السامة ثم غُسِلت وقُطعت، تمت عملية الاستخلاص الأولي بإضافة كل من الميثانول وحمض الخل المائي 3 ، 0.1 مل على التوالي لكل 1 غ من النسيج، طُحنت العينات جيداً بالخلاط، أُجريت عملية التنشيل عند 6000 rpm ، لمدة 15 دقيقة، جُمعت الرشاحة، ويُخزّن باستخدام المبخر الدور.

بعد ذلك، أُضيف الكلوروفورم مع كمية قليلة من حمض الخل المائي لإزالة الدهون، فُصلت الطبقات باستخدام قمع الفصل، ويُخزّن الطبقة المائية للحصول على المستخلص النهائي وفق الطرق القياسية لاستخلاص التترودوتوكسين من الأسماك البحرية [11].

✓ العزل الجرثومي وتحضير المزارع الجرثومية:

أُخذت مسحات لتقرحات جلدية من ساق مريض مقيم في مشفى اللاذقية الجامعي، الشكل (2)، ثم زرعت على أوساط (Blood agar و MacConkey agar)، للتعرف على الجراثيم بالاعتماد على الخصائص المورفولوجية والاختبارات البيوكيميائية القياسية وفق منهجيات التشخيص الجرثومي المعتمدة [12]، وشملت العزلات الجراثيم الآتية: (*Pseudomonas aeruginosa* ، *Staphylococcus aureus*).



الشكل (2) مسحة لتقرحات جلدية من ساق مريض مقيم في مشفى اللاذقية الجامعي

✓ اختبار الانتشار بالأقراص:

حُضِرَ معلق جرثومي وفق معيار (McFarland 0.5)، وزرع على وسط (Muller-Hinton agar)، استُخدمت أقراص ترشيح ورقية معقمة بقطر 6 مم وشُرِّبَتْ بتراكيز مختلفة من المستخلص وفق:

✚ سلسلة تمديد ثنائية (1، 2، 3، 4) ميكروغرام / ميلي غرام.

✚ سلسلة تمديد عشرية ($10^0 - 10^{-1} - 10^{-2} - 10^{-3}$) ميكروغرام / ميلي غرام.

وضِعَت تلك الأقراص بواسطة ملقط معقم ومُلهَّب في الأطباق التي تمَّ تجهيزها تبعاً لنوع السلالة الجرثومية، وتُرِكَت لمدة نصف ساعة بدرجة حرارة المختبر للسماح للمادة الفعالة بالانتشار ضمن الوسط، ومن ثمَّ نُقِلَت إلى حاضنة درجة حرارتها 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة، ثم قيسَت أقطار تثبيط وسُجِّلَت بواسطة مسطرة ميليمترية وفق المعايير المعتمدة [13].

النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج أنَّ مستخلص التترودوتوكسين يمتلك فعالية مثبطة لنمو الجراثيم المختبرة المسببة للتقرحات الجلدية، حيث كانت قيم أقطار التثبيط كما هي موضحة في الجداول (1 ، 2 ، 3 ، 4).

الجدول 1: أقطار حلقات تثبيط النمو الجرثومي المقدر بـ (Cm) الناتجة عن مستخلص (TTX) تجاه

جراثيم *Staphylococcus* وفق سلسلة التمديد الثنائية

المتوسط	قطر التثبيط (Cm) / سلسلة التمديد الثنائية			التراكيز (µg/ml)
	3	2	1	
3.2	3.2	3.3	3.1	1
2.7	2.7	2.6	2.8	2
1.9	2.0	1.9	1.8	3
1.5	1.6	1.5	1.4	4

الجدول 2: أقطار حلقات تثبيط النمو الجرثومي المقدر بـ (Cm) الناتجة عن مستخلص (TTX) تجاه

جراثيم *Staphylococcus* وفق سلسلة التمديد العشرية

المتوسط	قطر التثبيط (Cm) / سلسلة التمديد العشرية			التراكيز (µg/ml)
	3	2	1	
3.2	3.2	3.1	3.3	10^0
2.1	2.1	2.2	2.1	10^{-1}
1.5	1.5	1.4	1.5	10^{-2}
1.3	1.2	1.3	1.3	10^{-3}

الجدول 3: أقطار حلقات تثبيط النمو الجرثومي المقدر بـ (Cm) الناتجة عن مستخلص (TTX) تجاه

جراثيم *Pseudomonas* وفق سلسلة التمديد الثنائية

المتوسط	قطر التثبيط (Cm) / سلسلة التمديد الثنائية			التراكيز (µg/ml)
	3	2	1	
2.6	2.7	2.6	2.5	1
2.2	2.3	2.2	2.1	2
1.8	1.9	1.8	1.7	3
1.2	1.3	1.2	1.1	4

الجدول 4: أقطار حلقات تثبيط النمو الجرثومي المقدر بـ (Cm) الناتجة عن مستخلص (TTX) تجاه جراثيم *Pseudomonas* وفق سلسلة التمديد العشرية

المتوسط	قطر التثبيط (Cm) / سلسلة التمديد عشرية			التركيز (µg/ml)
	3	2	1	
2.1	2.1	2.1	2.1	10 ⁰
1.9	1.8	1.9	1.9	10 ⁻¹
1.9	1.9	1.8	1.9	10 ⁻²
1.7	1.6	1.7	1.7	10 ⁻³

بيّنت نتائج الجداول أعلاه، أنّ جراثيم *Staphylococcus aureus* هي الأكثر حساسية للمستخلص، بينما كانت جراثيم *Pseudomonas aeruginosa* أقلّ تبايناً في الفعالية.

أبدت جراثيم *Staphylococcus aureus* أعلى فعالية لقطر هالة التثبيط 3.2 سم في كلٍ من سلسلتي التمديد (الثنائية والعشرية) عند التراكيز 1، 10⁰ على التوالي، وهو ما يتوافق مع دراسات سابقة تشير إلى حساسية الجراثيم موجبة الغرام للمواد السمية ذات الآلية الغشائية [14، 15]. قد يعود هذا التفوق في الحساسية إلى اختلافات في بنية الجدار الخلوي وتركيبية الأغشية الجرثومية [16]، بالإضافة إلى اختلاف آليات مقاومة الصادات الحيوية بين الأنواع الثلاثة [17].

أما جراثيم *Pseudomonas aeruginosa* المعروفة بارتفاع مقاومتها الطبيعية، فقد أظهرت استجابة جيدة نسبياً، حيث تراوحت قيم أقطار التثبيط بين 1.2 - 2.6 سم في سلسلة التمديد الثنائية وبين 1.7 - 2.1 سم في سلسلة التمديد العشرية، مما يشير إلى قدرة المستخلص على اختراق غشائها الخارجي [18، 19].

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات

1. امتلاك مستخلص التترودوتوكسين فعالية مثبطة لنمو بعض أنواع الجراثيم المسببة للتقرحات الجلدية.
2. إمكانية الاستفادة من التترودوتوكسين كمادة فعالة في مستحضر موضعي يستهدف التقرحات الجلدية، شرط ضبط تركيزه ضمن الحدود الآمنة نظراً لسميته العالية عند الجرعات المرتفعة.

التوصيات

1. إجراء اختبارات إضافية على نماذج حيوانية لتقييم السمية الموضعية والفعالية العلاجية، ثمّ التوجه إلى تطبيقها على حالات سريرية مستقبلية، والاستفادة منها صيدلانياً ومن ثمّ اقتصادياً من خلال تسويقها.
2. استثمار نتائج البحث في مجال التقانة الحيوية البحرية والاستفادة منها عبر الانتقال بها إلى مجال التطبيق المخبري أسوةً بالأبحاث العالمية المهمة.

References:

- [1]. C. K. Sen, G. M. Gordillo, S. Roy, R. Kirsner, L. Lambert, T. K. Hunt, and M. T. Longaker, "Human skin wounds: a major and snowballing threat to public health and the economy", *Wound repair and regeneration*, vol. 17(6), pp. 763-771, 2009.
- [2]. D. Church, S. Elsayed, O. Reid, B. Winston, and, R. Lindsay, "Burn wound infections", *Clinical microbiology reviews*, vol. 19(2), pp. 403-434, 2006.
- [3]. P. G. Bowler, B. I. Duerden, and, D. G. Armstrong, "Wound microbiology and associated approaches to wound management", *Clinical microbiology reviews*, vol. 14(2), pp. 244-269, 2001.
- [4]. C. L. Ventola, "The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats", *Pharmacy and therapeutics*, vol. 40(4), pp. 277, 2015.
- [5]. A. R. Carroll, B. R. Copp, R. A. Davis, R. A. Keyzers, and M. R. Prinsep, "Marine natural products", *Natural Product Reports*, vol. 36(1), pp. 122-173, 2019.
- [6]. H. Narita, T. Noguchi, and O. Arakawa, "Tetrodotoxin toxicity and distribution in puffer fish", *Toxicon*, vol. 119, pp. 51 – 55, 2016.
- [7]. M. M. Sabrah, S. Abd El-Ghani, S. F. Zaied, and A. I. Ahmed, "Toxicity and distribution of *Lagocephalus* species in the Mediterranean Sea", *Biological Invasions*, vol. 21(3), pp. 939 – 951, 2019.
- [8]. T. Noguchi, and O. Arakawa, "Tetrodotoxin–distribution and accumulation in aquatic organisms, and cases of human intoxication", *Marine drugs*, vol. 6(2), pp. 220-242, 2008.
- [9]. P. A. Hwang, H. T. V. Lin, F. W. Kuo, P. Y. Shih, and D. F. Hwang, "Tetrodotoxin: Potential applications in medicine", *Toxins*, vol. 9(4), pp. 99, 2017.
- [10]. B. Alali, "Study the effect of the toxic substance in the puffer fish *Tetraodontidae* (*Lagocephalus sceleratus* - *Lagocephalus suezensis*) and Lion fish *Scorpaenidae* (*Pterios miles*) on some types of pathogenic microorganisms for human" Master's thesis, Dept. of Zoology, Latakia University, Latakia, Syria, 2023.
- [11]. T. Noguchi, and O. Arakawa, "Tetrodotoxin–distribution and accumulation in aquatic organisms, and cases of human intoxication", *Marine drugs*, vol. 18(2), pp. 1-30, 2020.
- [12]. B. A. Forbes, D. F. Sahm, and A. S. Weissfeld, "Study Guide for Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology-E-Book", 13th ed. St. Louis, Missouri (USA): Elsevier, 2016.
- [13]. CLSI. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*, 33rd. (USA): Clinical and Laboratory Standards Institute, 2023.
- [14]. T. J. Beveridge, "Structures of gram-negative cell walls and their derived membrane vesicles" *Journal of bacteriology*, vol. 181(16), pp. 4725-4733, 1999.
- [15]. T. J. Silhavy, D. Kahne, and S. Walker, "The bacterial cell envelope", *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, vol. 2(5), a000414, 2010.
- [16]. A. H. Delcour, "Outer membrane permeability and antibiotic resistance", *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, vol. 1794(5), pp. 808-816, 2009.
- [17]. J. M. Blair, M. A. Webber, A. J. Baylay, D. O. Ogbolu, and L. J. Piddock, "Molecular mechanisms of antibiotic resistance", *Nature reviews microbiology*, vol. 13(1), pp. 42-51, 2015.
- [18]. R. E. Hancock, "Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram-negative bacteria", *Clinical Infectious Diseases*, vol. 27(Supplement_1), pp. S93-S99, 1998.
- [19]. E. B. M. Breidenstein, C. de la Fuente-Nunez, and R. E. W. Hancock, "*Pseudomonas aeruginosa*: All roads lead to resistance", *Trends in Microbiology*, vol. 19(8), pp. 419-426, 2011.

