مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (١٠) العدد (٣) ٢٠٢٦

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies –Basic Sciences Series Vol. (10) No. (3) 2026

تقييم فعالية مستخلص التترودوتوكسين تجاه جراثيم (*Escherichia coli* ، *Klebsiella pneumoniae*) المعزولة من تقرحات جلدية

د. زهير المجيد*

د. هيثم يازجي**

بشرى العلي***

(تاريخ الإيداع ٢٠٢٦/٢/٢٥ – تاريخ النشر ٢٠٢٦/٥/٤)

□ ملخّص □

تشكل التقرحات الجلدية أحد الحالات السريرية الشائعة، وغالباً ما تترافق مع إنتانات جرثومية تعيق عملية الشفاء، لاسيما تلك الناجمة عن الجراثيم سالبة غرام مثل (*Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli*) التي تظهر مقاومة متزايدة للمضادات الحيوية التقليدية.

في هذا السياق، يتجه هذا البحث نحو استكشاف مصادر طبيعية بديلة، ومنها السموم البحرية كالتترودوتوكسين (TTX) المستخلص من الأعضاء السامة لسمكة البالون (*Lagocephalus suezensis*) تجاه جراثيم معزولة من تقرحات جلدية.

جُمِعَت عينات من سمكة البالون، واستخلِصَ المركب السام من (الكبد، المناسل، الجلد، العضلات) باستخدام طريقة الاستخلاص الكيميائي، ثمَّ اختُبِرَت الفعالية المضادة للجراثيم باستخدام اختبار الانتشار بالأقراص وبتراكيز مختلفة.

أظهرت النتائج فعالية مثبطة واضحة للمستخلص تجاه كلا النوعين الجرثوميين، مع تباين درجة الاستجابة. حيث سُجِّلَت أعلى حساسية لدى جراثيم *Klebsiella pneumoniae* بمتوسط قطر تثبيط (٢,٣) سم عند التركيز (١) ميكروغرام/مل، بينما تراوحت قيم أقطار التثبيط بين (١,٢ – ١,٨) سم لدى جراثيم *Escherichia coli* . وهذا يشير إلى إمكانية توظيف التترودوتوكسين كمصدر طبيعي واعد لتطوير مضادات جرثومية بديلة. مع ضرورة إجراء مزيد من الدراسات لتقييم السمية وتحديد التراكيز الآمنة قبل التطبيق السريري.

الكلمات المفتاحية: سمكة البالون، التترودوتوكسين، التقرحات الجلدية، *Klebsiella pneumoniae* ، *Escherichia coli*.

---

* أستاذ، قسم علم الحياة الحيوانية، كلية العلوم، جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً) ــ سورية.

**أستاذ، قسم علم الطب المخبري، كلية الطب، جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً) ــ سورية.

*** طالبة دراسات عليا (دكتوراه)، قسم علم الحياة الحيوانية، كلية العلوم، جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً) ــ سورية.

البريد الالكتروني: boushra.alali@Latakia-univ.edu.sy

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (١٠) العدد (٣) ٢٠٢٦

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies –Basic Sciences Series Vol. (10) No. (3) 2026

Evaluation of the Antibacterial Activity of Tetrodotoxin Extract Against (Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae) Isolated from Skin Ulcers

Prof. Zouhair Almajid*
Prof. Haitham Yazagi**
Boushra Alali***

(Received 25/2/2026.Accepted 4/5/2026)

□ABSTRACT □

Skin ulcers represent one of the most common clinical conditions and are frequently associated with bacterial infections that delay the healing process, particularly those caused by Gram-negative bacteria such as Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae, which exhibit increasing resistance to conventional antibiotics.

In this context, the present study explores alternative natural sources, including marine toxins such as tetrodotoxin extracted from the toxic organs of the pufferfish Lagocephalus suezensis, and evaluates its activity against bacterial strains isolated from skin ulcers.

Specimens of pufferfish were collected, and the toxic compound was extracted from the liver, gonads, skin, and muscle tissues using a chemical extraction method. The antibacterial activity was subsequently assessed using the disc diffusion assay at different concentrations.

The results demonstrated a clear inhibitory effect of the extract against both bacterial species, with variations in susceptibility. The highest sensitivity was observed in *Klebsiella pneumoniae*, with a mean inhibition zone diameter of (2.3) cm at a concentration of 1 µg/mL, while the inhibition zone diameters ranged between (1.2 – 1.8) cm for *Escherichia coli*.

These findings suggest that tetrodotoxin may represent a promising natural source for the development of alternative antibacterial agents. However, further investigations are required to evaluate its toxicity and to determine safe concentration ranges prior to clinical application.

Keywords: Pufferfish, Tetrodotoxin, Cutaneous ulcers, *Klebsiella pneumoniae*, Escherichia coli.

*Prof - Department of Zoology - Faculty of sciences − Latakia university (formerly Tishreen) – Syria.

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

*** Postgraduate Student (PhD) - Department of Zoology - Faculty of sciences − Latakia university (formerly Tishreen) – Syria.
Email: boushra.alali@Latakia-univ.edu.sy

مقدمة

تشكل التقرحات الجلدية أحد أهم الحالات السريرية الأكثر شيوعاً [١]. وغالباً ما تلعب الجراثيم سالبة الغرام، سيما (*Escherichia coli* ، *Klebsiella pneumoniae*) دوراً رئيساً في إحداث إنتانات شديدة أو تؤخر شفاء الجروح [٢ ، ٣]، كونها عوامل ممرضة انتهازية قادرة على استعمار هذه التقرحات، مستفيدة من ضعف المناعة وتعدد آليات مقاومتها للعوامل المضادة للجراثيم.

تُظهر هذه الجراثيم مقدرة ملحوظة على مقاومة الصادات الحيوية التقليدية، من خلال إنتاج أنزيمات حالة للبيتا–لاكتام واسعة الطيف (ESBL)، وتعديل نفاذية الغشاء الخارجي، إضافة إلى تشكل الأغشية الحيوية، ما يحد من فعالية الخيارات العلاجية المتاحة ويزيد العبء العلاجي والاقتصادي [٤ ، ٥]. مما دفع إلى تزايد الاهتمام بالبحث عن مصادر طبيعية لمركبات فعالة بديلة، تمتلك آليات تأثير مختلفة عن الصادات التقليدية.

تعد الكائنات البحرية مصدراً غنياً بمركبات ذات نشاط حيوي متنوع، ويعد سم التترودوتوكسن (**TXX**) أبرز هذه المركبات، إذ يعرف بكونه سماً عصبياً قوياً يوجد في أسماك البالون ومنها (*Lagocephalus suezensis*) [٦]، الشكل (١). وعلى الرغم من سميته العالية، فقد أشارت دراسات حديثة إلى إمكانية الاستفادة منه بجرعات منخفضة ومدروسة في تطبيقات دوائية متعددة، بما في ذلك الفعاليات المضادة للجراثيم [٧ ، ٨].

وانطلاقاً من ذلك، تهدف هذه الدراسة إلى استقصاء التأثير المثبط لمستخلص التترودوتوكسين تجاه بعض الجراثيم الممرضة المعزولة من تقرحات جلدية.



الشكل (١) الشكل العام لسمكة *Lagocephalus suezensis* المصطادة في المياه البحرية لمحافظة اللاذقية، سورية خلال العام ٢٠٢٥

أهمية البحث

يمثل البحث نقلة نوعية في فهم التطبيقات الدوائية المحتملة لسم التترودوتوكسين (TTX) عبر تحويله من مجرد مركب سام يشكل خطراً على الصحة العامة إلى مصدر طبيعي واعد يمكن توظيفه في إنتاج صادات حيوية جديدة غير تقليدية لمعالجة التقرحات الجلدية التي تصيب الإنسان، ومن ثمَّ الاستفادة منه طبياً واقتصادياً.

أهداف البحث

يهدف البحث إلى الآتي:

١. استخلاص مركب التترودوتوكسن من أنسجة (الكبد، المناسل، الجلد، العضلات) لسمكة البالون (*Lagocephalus suezensis*).

٢. تقييم الفعالية التثبيطية للمستخلص تجاه بعض الجراثيم (المعزولة سريرياً) المسببة للتقرحات الجلدية التي تصيب الإنسان.

مواد البحث وطرائقه

اعتمد البحث منهجية عمل متكاملة ومتسلسلة، وفق المراحل الآتية:

✓ جمع العينات واستخلاص السم:

جُمعَت عينات من أسماك (***Lagocephalus suezensis***) بأحجام مختلفة، باستخدام شباك وأقفاص صيد محلية، على أعماق (٢٥ – ٥٠) متر، ثمَّ نُقلَت 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).

جُمعَت أنسجة الأعضاء السامة ثم غُسِلَت وقُطِّعَت، تمت إضافة كل من الميثانول (٣) مل وحمض الخل المائي (٠,١) مل لكل (١) غ من النسيج، طُحِنَت العينات جيداً باستخدام خلاط كهربائي، وثُقِّلَت العينات (٦٠٠٠) دورة/ دقيقة ، لمدة (١٥) دقيقة، جُمِعَت الرشاحة، وبُخرَت باستخدام المبخر الدوار.

بعد ذلك، أضيف الكلوروفورم مع كمية قليلة من حمض الخل المائي لإزالة الدهون، فُصِلَت الطبقات باستخدام قمع الفصل، وبُخرَت الطبقة المائية للحصول على المستخلص النهائي وفق الطرق القياسية لاستخلاص التترودوتوكسين من الأسماك البحرية [٦ ، ٩].

✓ العزل الجرثومي وتحضير المزارع الجرثومية:

أُخذَت مسحات سريرية لتقرحات جلدية نشطة من ساق مريض مقيم في مشفى اللاذقية الجامعي باستخدام مسحات قطنية معقمة، الشكل (٢)، ثم زرعت مباشرةً على أوساط (Blood agar و MacConkey agar)، للتعرف على الجراثيم بالاعتماد على الخصائص المورفولوجية والاختبارات البيوكيميائية القياسية وفق منهجيات التشخيص الجرثومي المعتمدة [١٠]، وشملت العزلات الجراثيم الآتية: (*Klebsiella pneumoniae* ، *Escherichia coli*).

✓ اختبار الانتشار بالأقراص:

حُضِّرَ معلق جرثومي من كل عزلة بمقياس (٠,٥ McFarland)، وزرع المعلق على وسط (Muller-Hinton agar)، استُخدِمَت أقراص ترشيح ورقية معقمة بقطر (٦) مم وشُرِّبَت بتراكيز مختلفة من المستخلص وفق:

- سلسلة تمديد ثنائية (١، ٢، ٣، ٤) ميكروغرام / ميللي غرام.
- سلسلة تمديد عشرية (10^{0} – 10^{-1} – 10^{-2} – 10^{-3}) ميكروغرام / ميللي غرام.



✓
]]]

الشكل (٢) مسحة لتقرحات جلدية من ساق مريض مقيم في مشفى اللاذقية الجامعي

وضِعَت تلك الأقراص في الأطباق التي تمَّ تجهيزها تبعاً لنوع السلالة الجرثومية بوساطة ملقط معقم ومُلَّهَّب، وتُرِكَت لمدة (٣٠) دقيقة بدرجة حرارة المختبر للسماح للمادة الفعالة بالانتشار ضمن الوسط، ومن ثمَّ نُقلَت إلى حاضنة درجة حرارتها (٣٧) درجة مئوية لمدة (٢٤) ساعة [١١]، ثم قيسَت أقطار هالات التثبيط بالميليمتر باستخدام مسطرة مدرجة، وسُجِّلَت النتائج.

النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج أنَّ لمستخلص التترودوتوكسين من سمكة البالون (*Lagocephalus suezensis*) فعالية مثبطة واضحة لنمو الجراثيم المختبرة المسببة للتقرحات الجلدية، وقد تجلى ذلك من خلال قيم أقطار هالات التثبيط كما هي موضحة في الجداول (١ ، ٢ ، ٣ ، ٤).

الجدول (١) أقطار حلقات تثبيط النمو الجرثومي المقدرة بـ (Cm) الناتجة عن مستخلص (TTX) تجاه جراثيم (*Escherichia coli*)

التراكيز (µg/ml)	قطر التثبيط (Cm) / سلسلة التمديد الثنائية			
	١	٢	٣	المتوسط والانحراف المعياري
١/٢	١,٨	١,٩	١,٨	1.8 ± 0.05
١/٤	١,٧	١,٨	١,٧	١,٧ ± 0.05
١/٨	١,٥	١,٥	١,٤	١,٤ ± 0.05
١/١٦	١,٢	١,٣	١,٢	١,٢ ± 0.05

الجدول (٢) أقطار حلقات تثبيط النمو الجرثومي المقدرة بـ (Cm) الناتجة عن مستخلص (TTX) تجاه جراثيم (*Escherichia coli*)

التراكيز (µg/ml)	قطر التثبيط (Cm) / سلسلة التمديد عشرية			
	١	٢	٣	المتوسط والانحراف المعياري
10^0	١,٨	١,٩	٢,٠	١,٩ ± 0.1
10^{-1}	١,٧	١,٨	١,٩	١,٨ ± 0.1
10^{-2}	١,٨	١,٩	٢,٠	١,٩ ± 0.1
10^{-3}	١,٣	١,٤	١,٥	١,٤ ± 0.1

الجدول (٣) أقطار حلقات تثبيط النمو الجرثومي المقدرة بـ (Cm) الناتجة عن مستخلص (TTX) تجاه جراثيم (*Klebsiella pneumoniae*)

التراكيز (µg/ml)	قطر التثبيط (Cm) / سلسلة التمديد الثنائية			
	١	٢	٣	المتوسط والانحراف المعياري
١/٢	2.4	٢,٣	٢,٤	٢,٣ ± 0.05
١/٤	٢,٠	٢,١	٢,٠	٢,٠ ± 0.05
١/٨	١,٦	١,٥	١,٥	١,٥ ± 0.05
١/١٦	١,٥	١,٣	١,٣	١,٣ ± 0.11

الجدول (٤) أقطار حلقات تثبيط النمو الجرثومي المقدرة بـ (Cm) الناتجة عن مستخلص (TTX) تجاه جراثيم (*Klebsiella pneumoniae*)

التراكيز (µg/ml)	قطر التثبيط (Cm) / سلسلة التمديد عشرية			
	١	٢	٣	المتوسط والانحراف المعياري
10^0	٢,٣	٢,٢	٢,٣	٢,٢ ± 0.05
10^{-1}	١,٩	١,٩	١,٨	١,٨ ± 0.05
10^{-2}	١,٧	١,٦	١,٧	١,٦ ± 0.05
10^{-3}	١,٤	١,٣	١,٣	١,٣ ± 0.05

بيَّنَت نتائج الجداول أعلاه، أنَّ جراثيم *Klebsiella pneumoniae* هي الأكثر حساسية للمستخلص، بينما كانت جراثيم *Escherichia coli* أقل تبايناً في الفعالية. مع ملاحظة انخفاض قطر هالات التثبيط مع تغير تركيز المستخلص السام، وهذا يعزى إلى العلاقة المباشرة بين تركيز المادة الفعالة وقدرتها على الانتشار الفعال في الوسط الزرعي.

أبدت جراثيم *Klebsiella pneumoniae* أعلى حساسية تجاه المستخلص، حيث سجل متوسط قطر تثبيط مقداره (٢,٣) عند التركيز (١) في سلسلة التمديد الثنائية، و (٢,٢) سم عند التركيز (١٠) في سلسلة التمديد العشرية، وهو ما يعود إلى طبيعة الكبسولة متعددة السكاريد لديها، التي قد تتأثر بتداخل المركبات الفعالة مع سلامة الجدار الخلوي [١٢]، وهذه الكبسولة لا تشكل حاجزاً مطلقاً أمام جميع المركبات الحيوية، بل قد تتأثر بعض مكوناتها أو بنيتها عند التعرض لمركبات فعالة ذات طبيعة كيميائية معينة، مما يؤدي إلى إضعاف الجدار الخلوي وزيادة نفاذية الخلية الجرثومية.

أما جراثيم *Escherichia coli* أبدت استجابة مثبطة أقل شدة، حيث تراوحت قيم أقطار التثبيط بين (١,٢ – ١,٨) سم في سلسلة التمديد الثنائية وبين (١,٤ – ١,٩) سم في سلسلة التمديد العشرية، يعزى هذا الانخفاض إلى كفاءة أنظمة النفاذية الانتقائية وآلية الطرد الخلوي النشط [١٣ ، ١٤]. وبالرغم من ذلك فإن فعالية المستخلص المثبطة المسجلة عند تراكيز منخفضة نسبياً يشير إلى امتلاكه نشاطاً حيوياً ذو أهمية كبيرة، لا سيما في ظل تزايد مقاومة الجراثيم للصادات الحيوية التقليدية المتاحة حالياً.

استُخدِمَ صادان حيويان الجدول (٥)، منتميان لزمر مختلفة كشاهد إيجابي، اختيرَا حسب السلالة الجرثومية، ودُرِسَت فعاليتهما بالتراكيز المُعتَمَدة تجاه الجراثيم الممرضة المدروسة، وذلك للمقارنة بين فعالية كلٍ منهما والمستخلص السام تجاه الجراثيم الممرضة المدروسة. وكانت فعالية المستخلص السام أفضل من فعالية الصادان الحيويان المُستَخدَمان.

الجدول (٥) مقارنة التركيز الأعلى المثبط (سم) للمستخلص السام (TTX) مع تأثير الصادات الحيوية، تجاه الجراثيم الممرضة المدروسة

الجراثيم	أعلى قيمة لمتوسط قطر التثبيط (Cm)		الصادات	
	سلسلة التمديد الثنائية	سلسلة التمديد العشرية	LEV (Levoflaxacin)	DOR (Dorpenem)
Escherichia coli	١,٨	١,٩	٠,٧	–
Klebsella pneumonia	٢,٣	٢,٢	–	٠,٩

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات

١. إمكانية توظيف السموم البحرية في تطبيقات مضادة للجراثيم المسببة للتقرحات الجلدية.

٢. أظهرت جراثيم *Klebsiella pneumoniae* حساسية أعلى للمستخلص، مقارنةً بجراثيم *Escherichia coli* مما يعكس تأثير بنية الجدار الخلوي في درجة الاستجابة للمركبات الفعالة.

٣. إنَّ فعالية المستخلص السام بشكل عام كانت أفضل من فعالية الصادات الحيوية المُستَخدَمة.

التوصيات

١. تنقية المادة الفعالة وتحديد تركيز (TTX) الفعلي في المستخلص باستخدام تقنيات تحليلية دقيقة، وإجراء اختبارات إضافية على نماذج حيوانية لتقييم السمية الموضعية والفعالية العلاجية، تمهيداً لتطبيقها على حالات سريرية مستقبلية.

٢. تطوير مركبات صيدلانية موضعية واختبار فعاليتها، واستثمار النتائج في مجال التقانة الحيوية البحرية أسوةً بالأبحاث العالمية المهمة.

٣. إمكانية الاستفادة من التترودوتوكسين كمادة فعالة في مستحضرات موضعية مخصصة لعلاج التقرحات الجلدية، مع ضرورة ضبط التراكيز ضمن الحدود الآمنة نظراً للسمية العالية لهذه المادة عند الجرعات المرتفعة.

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]. 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.

[6]. 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.

[7]. 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.

[8].BaneV, Lehane M, Dikshit M, O'Riordan A, Furey A. Tetrodotoxin: chemi stry, toxicity, and sources. Toxins. 2014;6(2):693–755.

[9]. Ahmed N. Alabssawy, "*Antimicrobial activity of Tetrodotoxin extracted from liver, skin and muscles of the puffer fish Lagocephalus sceleratus inhabiting Mediterranean Sea, Egypt",* International journal of cancer and biomedical research, vol. 1(1), pp. 2-8, 2017.

[10]. 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.

[11]. CLSI. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*, 33rd. (USA): Clinical and Laboratory Standards Institute, 2023.

[12]. T. J. Beveridge, "*Structures of gram-negative cell walls and their derived membrane vesicles"* *Journal of bacteriology*, vol. 181(16), pp. 4725-4733, 1999.

[13]. A. H. Delcour, "*Outer membrane permeability and antibiotic resistance*", *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, vol. 1794(5), pp. 808-816, 2009.

[14]. Li XZ, Plésiat P, Nikaido H. *The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria.* Clin Microbiol Rev. 2015;28(2):337–418.