

无花果制备的银纳米颗粒对临床分离的多药耐药志贺菌的潜在作用

Yunusa Saatter^{1*} Ahmed Faruk Umar² Mahmud Yerima Iiyasu²

1. 尤贝州立大学研究监测和控制中心 尼日利亚 达马图鲁 999062

2. 巴勒瓦大学微生物学系 尼日利亚 包奇 999062

【摘要】：榕树因其财产而闻名于世，志贺氏菌作为一种细菌也因其对传统药物的耐药性而闻名。因此，从无花果中合成了银纳米颗粒。本研究旨在研究从无花果茎树皮水提取物合成的银纳米颗粒对多药耐药（MDR）志贺氏菌的抗志贺氏病潜力，该志贺氏杆菌是从尼日利亚达马图鲁尤贝州专科医院的患者的临床标本中分离出来的。共对400份腹泻粪便进行了筛选，以分离志贺氏菌，并使用标准方法确定其抗生素敏感性模式。采用绿色合成方法，利用无花果提取物的植物化学成分合成银纳米颗粒。使用紫外可见光谱、FTIR和扫描电子显微镜（SEM）分析纳米颗粒的透射率、官能团、尺寸和形状，并测试其对多药志贺氏菌分离株的抗菌活性。志贺氏菌恢复率与患者性别之间无显著差异（ $P < 0.05$ ）。0-10岁年龄组更易感，40%（36），其次是30岁以上（21）。志贺氏菌还发现对环丙沙星（92%）、克拉维酸阿莫西林（87%）、头孢呋辛（85%）、链霉素（83.5%）敏感，而最常见的耐药性表现为对纳利西酸（48%）和四环素（27%）。检测到的植物化学物质包括皂苷、黄酮、生物碱、心苷和单宁。Uv-vis在460nm附近显示宽峰，FTIR显示烷烃羟基的C-H拉伸，SEM显示具有宽范围形状和尺寸的纳米颗粒。与粗水提取物和AgNO₃溶液对MDR志贺菌的活性相比，银纳米颗粒的抗志贺菌活性在10mm和30mm之间的抑制区更高，表现出增强的活性。在这项研究中，儿童志贺菌病的高流行率表明，该地区的儿童需要改善卫生状况，需要进行详细检查以治疗成人腹泻。环丙沙星、克拉维酸阿莫西林、纳利西酸只能在培养和敏感性结果占优势的情况下使用。增强型传统医学因其潜力而应优先考虑。这项研究证明了绿色合成梧桐病毒作为一种有效的抗志贺菌病来对抗该疾病的全球负担的可行性。这是该地区首次对悬铃木茎皮水提取物对抗志贺菌的研究。

【关键词】：纳米颗粒；志贺菌病；腹泻病；达马图鲁；无花果；耐多药

Potential of Silver Nano Particles Synthesized from *Ficus sycomorus* Linn Against Multidrug Resistant *Shigella* species Isolated from Clinical Specimens

Yunusa Saheed^{1*} Ahmed Faruk Umar² Mahmud Yerima Iiyasu²

1. Desert Research Monitoring and Control Centre Yobe State University Nigeria Damaturu 999062

2. Microbiology Department Abubakar Tafawa Balewa University Nigeria Bauchi 999062

Abstract: *Ficus sycomorus* Plant was known traditionally for its medicinal properties, *Shigella* species as a bacterial was also known for their resistance to orthodox medicine. Hence the synthesis of silver nanoparticles from *Ficus sycomorus*. This study was carried out to investigate the anti-shigellosis potential of silver nanoparticles synthesized from *Ficus sycomorus* Linn stem bark aqueous extract against Multi-drug Resistant (MDR) *Shigella* species isolated from clinical specimen collected from patients attending Yobe State Specialist Hospital Damaturu, Nigeria. A total of 400 diarrhoeagenic stools were screened for isolation of *Shigella* species and determined their antibiotic susceptibility pattern using standard methods. Phytochemical constituents of *Ficus sycomorus* extract were used to synthesize silver nanoparticles using green synthesis approach. The nanoparticles was analyzed for transmittance, functional groups, sizes and shapes using Uv-vis, FTIR and Scanning Electron Microscopy (SEM), and was tested for antibacterial activities on MDR *Shigella* isolates. There is no significant difference in *Shigella* recovery relation to patients gender ($P < 0.05$). The age group, 0 - 10 years were more susceptible, 40% (36), followed by >30 years (21). *Shigella* were also found to be sensitive to Ciprofloxacin (92%), Augmentin (87%), Cefuroxime (85%), Streptomycin (83.5%) while the most frequent resistance was showcased against Nalidixic Acid (48%), and Tetracycline (27%). Phytochemicals detected include saponins, flavonoids, alkaloids, cardiac glycoside and tannin. Uv-vis showed broad peaks around 460nm, the FTIR showed C-H stretch of hydroxyl group of alkanes and the SEM showed nanoparticles with wide range of shapes and sizes. Anti-*Shigella* activities of silver nanoparticles is higher at zones of inhibition between 10mm and 30mm higher compared to the activities of crude aqueous extract and AgNO₃ solution against the MDR *Shigella* species which showed an enhanced activities. The high prevalence of shigellosis among children in this study, indicated that improved hygiene is needed for children in the area and detailed examination is required for the treatment of diarrhoea in adults. Ciprofloxacin and Amoxicillin Clavulanate, Nalidixic acid could be used only where culture and sensitivity results prevailed. Enhanced traditional medicine should be given priority because of its potentials. This study have demonstrated feasibility of the green synthesis of *F. sycomorus* as a potent antishigellosis to combat the global burden of the disease. This is the first study On

Stem bark aqueous extracts of *F. sycomorus* against shigella species in the area.

Keywords: Nanoparticles; Shigellosis; Diarrhoeagenic; Damaturu; *Ficus sycomorus*; MDR

1 引言

痢疾是热带国家5岁以下儿童发病率和死亡率高的主要公共卫生问题。这是一种由志贺氏菌引起的急性腹泻病，志贺氏杆菌是一种革兰氏阴性菌，属于肠杆菌科，有四种：痢疾志贺氏菌（A组）、福氏志贺氏杆菌（B组）、宋内志贺氏菌（C组）和博伊迪志贺氏杆菌（D组）^[1]。

志贺氏菌感染似乎在成年人中更为频繁，通过意外摄入粪便污染的食物或通过直接口腔肛门接触直接经口腔传播^[2]。它相对没有动物库，这使得体内研究和疫苗开发变得困难。在发达国家，它是一种儿科疾病，但在发展中国家，它在儿童和成人之间普遍存在。这种疾病可能在战争时期和自然灾害中广泛传播^[3]。全球分布与过度拥挤和卫生条件差有关。它可以通过苍蝇、手指、食物和粪便传播，这是同性恋肠综合征的一部分。在美国北部的宋内志贺氏菌，在印度南部的福氏志贺氏杆菌，福氏志贺氏菌是温带地区的优势种，其次是痢疾杆菌和宋内志贺氏杆菌^[4]。在尼日利亚和其他发展中国家，增加痢疾风险的易感因素包括：饮食习惯、识字、职业和卫生等^[5]。

抗生素的高成本、城市中容易兜售的假药、过期和药物储存不当都导致了药物的不当使用，导致多重耐药性。抗生素治疗主要推荐给年龄较小或较大的患者、营养不良的儿童、感染艾滋病毒的患者、食品处理人员、保健工作者和日托中心的儿童。因此，耐药机制取决于药物抑制了哪些特定途径，以及生物体可以修改这些途径以获得生存途径的替代途径^[6]。尽管需要对抗生素耐药菌株，但已描述的感染志贺菌的噬菌体相对较少，从而带来治疗挑战^[7]。

药用植物对治疗胃肠炎和其他由细菌引起的传染病有很大的积极影响^[8]。如今，它们不仅在尼日利亚等发展中国家，而且在发达国家作为补充药物广泛用于常规和替代医疗实践^[9]。无花果悬铃木（*Moraceae*）、豪萨的法林·包尔（*Farin Baure*）、富尔富德的伊比（*Ibbi*）、梧桐树（*Sycamore Fig*）是一种大型、半落叶蔓延的稀树草原树，高达21（最大46）米，偶尔有扶壁。它的树皮呈淡粉色，有大量的乳胶流。叶宽卵形，钝具粗糙表面^[10]。对悬铃木甲醇茎树皮提取物的体外抗菌筛选显示，该提取物抑制了对粪肠球菌、大肠杆菌、伤寒沙门氏菌、痢疾志贺菌和白色念珠菌的不同活性^[11]。

银及其化合物自古以来就被用于治疗细菌和伤口感染，尤其是严重烧伤患者^[12]。银纳米颗粒是尺寸在1nm和100nm之间的银颗粒。纳米颗粒主要由银合成，但金刚石、八角形和薄片也很受欢迎^[13]。纳米颗粒的生物合成是纳米技术领域的一个重要领域，它是经济和环保的。它有望作为革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的抗菌剂^[14]。银纳米颗粒因其相应的小尺寸、不寻常的物理、化学和生物财产而引起了人们的兴趣^[15]。它具有强大的抗菌和抗氧化活性，并具有潜在的生物医学和工业应用^[16]。据报道，它们作为药物载体具有优势^[17]。在抗菌活性中，最初银纳米颗

粒附着在细菌膜的表面，然后渗透到细菌中。渗透后，它们使微生物的酶失活，产生H₂O₂，导致细菌死亡。银纳米粒子的绿色合成表明其在医疗器械中用作抗菌涂层^[18]。AgNP的抗菌活性也可能是由于（i）在细胞膜上形成孔隙，最终导致细胞内容物泄漏，或（ii）银离子穿透离子通道不会损坏细胞膜；相反，使核糖体变性，并表现出ATP生产所必需的酶和含硫醇蛋白的表达，从而导致细胞死亡，如^[19]所述。从包括无花果在内的各种植物合成的AgNPs显示出对病原菌的有效抗菌活性^[20]。

达马图鲁是尼日利亚东北部约贝州的首府，受叛乱影响，我们在该市有许多国内流离失所者营地，由于州政府免费提供药物、医院提供的所有其他服务的补贴和受害者支持基金，专科医院一直是国内流离失所者和居民的首选医院。卫生设施已被腹泻、痢疾和其他与贫困、战争、国内流离失所、卫生条件差、个人卫生和供水短缺有关的疾病所淹没。这需要进行前瞻性研究，以确定从尤贝州立专科医院达马图鲁护理的患者腹泻粪便中分离出的志贺氏菌的流行率和抗菌谱，以及使用银纳米颗粒增强的无花果病毒对抗2019年4月至2019年10月间分离出的多种耐药菌株的潜力。这应为设计适合该地区的志贺菌病治疗指南提供信息。此外，该研究还将补充现有文献中有关志贺氏菌分离株耐药性模式的流行病学信息，这些耐药性模式对公共卫生具有重要意义，以及在该地区使用和加强天然产品对抗志贺氏杆菌病的可行性。

2 方法

2.1 研究区域和人口

这项研究在尼日利亚东北部达马图鲁的尤贝州立专科医院进行。它位于北纬12000'，东经11030'，面积45502平方公里，估计人口275000。

2.2 样本采集

研究区域内所有年龄和性别的腹泻/痢疾患者采用非侵入性方法共采集了400份粪便样本。无菌样品容器用于收集粪便样品。

2.3 志贺氏菌的分离、鉴定和表征。

当天对样本进行处理，以分离志贺氏菌。根据公布的方法处理粪便样本^[21]。在MacConkey乳糖琼脂（MLA）和赖氨酸脱氧胆酸乳糖琼脂（XLD）上划线一环粪便样品，并在37°C下培养24小时。MLA板显示存在凸形、无色菌落，XLD板显示存在半透明或红色菌落，考虑进一步鉴定。如^[22]所述，在其他选择性培养基上重新划线疑似菌落，即Hektoen肠内琼脂（HEA）、沙门氏菌志贺氏菌琼脂（SSA）和柠檬酸脱氧胆酸盐琼脂（DCA）。对培养板进行了志贺氏菌属典型形态特征的检查。

2.4 志贺氏菌的生化特征

在选择性培养基上表现出特征性外观的菌落在Kligler铁琼脂（KIA）和三糖铁琼脂（TSI）上进行亚培养。如^[22]所述，进行了氧化酶、脲酶、吲哚、柠檬酸盐和运动试验以进一步鉴定。

2.5 抗生素敏感性测试

所有菌株的敏感性均采用单盘扩散技术^[23]。这是通过对革兰氏阴性菌盘使用商业抗生素盘 (Optu 盘) 实现的, 该盘由氧氟沙星 (25mcg)、头孢呋辛 (30mcg), 环丙沙星 (25mcg), 克拉维酸阿莫西林 (30mcg), 链霉素 (25mcg), 头孢菌素 (5mcg) 和庆大霉素 (10mcg) 组成, 将适当浓度的氨苄西林 (30mcg) 放置在志贺氏菌分离株划线板上, 并在 37°C 下孵育过夜。使用卡尺测量的抑制区直径, 单位为毫米。使用标准^[24], 使用抑制区来确定耐药和敏感生物。

2.6 悬铃木茎皮提取物中纳米银颗粒的绿色合成和表征

使用悬铃木茎皮提取物水溶液作为还原剂进行纳米银颗粒的生物合成^[25]。在持续搅拌下, 在 50-60°C 下将 50ml AgNO₃ 溶液 (1mM) 滴加到悬铃木树皮水提取物中, 以还原 Ag²⁺。将该溶液在 37°C 的黑暗中孵育直至使用。在相同条件下孵育对照溶液 (不含提取物)^[26]。

2.7 紫外可见光谱分析

这是通过使用 UV-2401 (印度) 测量光密度 (OD) 对悬铃木茎皮提取物的纳米颗粒进行的。测量在 200-800nm 之间进行, 分辨率为 1nm, 扫描速度为 300nm/min。通过测量 1ml 等分样品和 2ml 去离子水在石英池中的紫外可见光谱来监测 Ag²⁺ 的还原。使用硝酸银 (1mM) 作为空白调整基线^[14]。

2.8 傅里叶透射红外分析 (FT-IR)

使用 IRAffinity-1S 光谱仪 (Buck Scientific-530) 和 Perkin Elmer 分光光度计对 AgNP 粉末样品进行分析。将 AgNP 溶液以 10000rpm 离心 20 分钟。然后在室温下干燥获得的固体残留物, 并将获得的粉末用于 FTIR 测量。

2.9 扫描电子显微镜

使用 Phenom Pro-X 800-07334 在 25 kv 下进行扫描电子显微镜 (SEM)。通过将一滴悬铃木银纳米颗粒涂覆到碳涂层铜网格上并使其蒸发, 同时在扫描前借助样品架保持^[27], 拍摄扫描电子显微镜图像。

2.10 提取物抗菌效力试验

该试验采用椎间盘扩散法^[24]进行。制备了 McFarland 0.5 标准接种物^[28]。使用制备并消毒的 6mm 滤纸盘 (Whatman No.1) 进行测试。用稀释后的 100μl AgNP (100mg/ml) 浸渍盘, 然后在最小量的溶剂中进行重组, 然后将其应用于之前接种 106 cfu/ml 志贺氏菌培养物的每个培养板上, 并在 37°C 下培养 18 小时。对粗提取物和 AgNO₃ 重复上述步骤^[29]。孵育期后, 与茎皮粗提取物、其 AgNPs 和 AgNO₃ 相比, 测量抑制区作为抗菌活性的指标。

3 结果和讨论

3.1 粪便样本中志贺氏菌分离物的特征

年龄分布数据显示, 从 85 例病例中分离出志贺氏菌, 其中 0-10 岁组的最高频率为 40% (34), 其次是 11-20 岁组的 22.2% (19), 14%。大多数分离物 52% (44) 来自男性患者。

表 1 根据患者的人口统计学特征, 志贺氏菌分离株的分布

Demographic Characteristics	No. of Specimen collected (n=400)	No. of Positive Isolates (n=85)	% of positive Isolates
Age (Years)			
0-10	143	54	40.0
11-20	91	19	22.4
21-30	66	11	12.9
31-40	39	06	7.1
41-50	25	08	9.4
51-60	15	02	2.4
>60	21	05	5.9
Sex			
Male	221	44	51.8
Female	179	41	48.2

本研究中分离出志贺氏菌的频率 (22.4%) 与伊朗报道的 19.72% 的工作有关, 但与尼日利亚拉各斯报道的 13.5% 相比略高^[30, 31]。据其他研究报道, 孟加拉国 11.6% 的腹泻患者、埃塞俄比亚的斯亚贝巴 8.56% 的腹泻患者和尼日利亚迈杜古里 8.0%^[32, 33, 34]。与尼日利亚卡诺的报告相比, 本研究得出的值也较低^[35]。本研究中志贺氏菌的高流行率表明患者的卫生水平较低。与埃塞俄比亚的斯亚贝巴的 Anduallem 报告的病例相反, 发现 11 岁以下儿童中的志贺氏菌更为流行, 15 至 35 岁年龄组的发病率最高, 并声称志贺氏杆菌在加利福尼亚州的 MSM (男性与男性同睡) 中更为常见^[2]。男性和女性的数量略有差异, 但在统计学上不显著 (P<0.05=0.026), 这表明男性和女性受访者中志贺氏菌的恢复率没有统计学差异。

3.2 从粪便样本中分离的志贺氏菌的抗生素敏感性模式

尽管, 通过口服补液和护理, 志贺菌可以自我限制, 但需要使用抗生素作为降低感染严重程度、疾病持续时间和病原脱落的唯一途径。发展中国家抗菌药物的选择取决于该地区药物的可用性、成本和耐药性模式。本研究中记录的总耐药率为纳利西酸 (48.2%), 其次是四环素 (27.1%)、氨苄西林 (24.7%)。另一方面, 环丙沙星 (90.6%) 导致了分离株的敏感性, 其次是克拉维酸阿莫西林 (Augmentin) (87.1%) 和头孢呋辛 84.7%。

没有完全耐药性, 对本研究中使用的抗生素的总体敏感性有限。这与先前一些研究中的报道相反, 这些研究对氨苄青霉素的总体耐药率为 100%, 对环丙沙星和氧氟沙星的总体敏感性为 100%, 但令人担忧的是, 对两种或多种抗生素的耐药率非常高, 因为研究结果显示, 从患者中分离出的志贺氏菌有 95.1% 表现出 MDR 表型^[33, 34, 30]。

据一项研究报道, 氨苄西林 (一种以前用于该地区血性腹泻的常见抗生素) 的耐药性较低, 为 24.7%^[34]。但美国国家抗生素耐药性监测系统和其他研究报告了对氨苄西林的高耐药性 (78.0%)^[20]。在本研究中, 对纳利西酸的高抗性 (48.2%) 与伊朗报告的值 (31%) 略有一致^[30]。在过去十年中, 全球范围内, 对已知对志贺氏菌分离株 (如氨苄西林、氯霉素、复方新诺明和四环素) 有效的药物产生耐药性的分离株比例有所增加。因此, 在没有培养和敏感性的情况下, 这些抗生素不应再被视为合适的经验性治疗^[30]。

表 2 根据抗生素敏感性模式从腹泻患者中分离出志贺氏菌的分布

Antibiotic (μg)	No. (%) of Shigella isolates (n=85) and susceptibility pattern	
	Sensitive	Resistant
Ofloxacin (25)	68 (80.0)	19 (20.0)
Cefuroxime (30)	72 (84.7)	13 (15.3)
Ciprofloxacin (25)	77 (90.6)	08 (9.4)
Augmentin (30)	74 (87.1)	11 (12.9)
Spectinomycin (25)	71 (83.5)	14 (16.5)
Cotrimoxazole (25)	68 (80.0)	17 (20.0)
Gentamycin (10)	68 (80.0)	17 (20.0)
Nalidixic Acid (25)	41 (48.2)	44 (51.8)
Tetracycline (25)	23 (27.1)	62 (72.9)
Amoxicillin (10)	64 (75.3)	21 (24.7)

3.3 悬铃木茎皮提取物的植物化学成分

甲醇和树皮水提取物中鉴定的植物化学成分(表3);包括:碳水化合物、皂苷、强心苷、类黄酮、单宁和蒽醌。两种提取物中均不含类固醇。

表3 悬铃木茎皮的植物化学筛选

Phytochemicals	Ficus sycamora extracts and test Inference	
	Water	Methanol
Cardiac Glycosides	-	+
Saponins	+	+
Flavonoids	+	+
Tannins	+	+
Steroids	-	-
Anthraquinones	-	+
Carbohydrate	+	+

Key: (+) Present, (-) Absent.

这与先前的研究结果一致^[36-39]。在另一项使用同一植物根背提取物的研究中,还发现了还原糖^[40]。无花果的植物化学分析表明,叶子和果实的水提取物中都存在生物碱、单宁、皂苷、黄酮和类固醇^[41]。

已知这类化合物具有生物活性,并与无花果的抗菌活性相关^[42, 43]。生物碱已与植物的药用应用相关,其中包括它们对外来生物细胞的毒性。

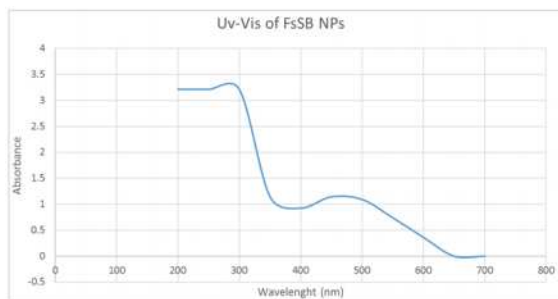


图1 梧桐树皮提取物的AgNPs显示的UV-vis吸收特性是其表面等离子体共振峰宽约460nm的函数。

3.4银纳米粒子的合成和特性

透明的无色硝酸银溶液立即变为透明的深棕色,并在一段时间内保持深棕色。随着时间的推移,颜色变成深棕色是由于表面等离子体共振的激发和金属纳米颗粒内传导电子的集体振荡。表面等离子体共振能够在特定频率下散射和吸收光,从而赋予它们颜色^[44]。悬铃木水性茎树皮提取物的AgNPs显示的UV-vis吸收特性是其表面等离子体共振峰宽约460nm的函数(图1)。本研究中的最高峰值落在与先前学者在450、451、457和460观察到的峰值相近的范围内^[45, 27, 46, 47]。

3.5合成的银纳米粒子的FT-IR特性

从无花果茎皮提取物中获得的AgNPs模拟了显著的条带,表明在3379.4505、2941.7374和1633.6242附近的吸光度忽略了指纹区域(图2)。这些带表示由于粗提取物中存在类黄酮和其他植物化合物等化合物而产生的拉伸振动带^[23]。

3379.4505附近的宽中等吸收率类似于胺的N-H延伸,其可特定于伯胺的延伸振动频率^[48]。在2941.6949附近观察到醛或烷基基的弱C-H拉伸,在1633.6242附近观察到的FIR光谱图表明C=C拉伸,1631-1633拉伸表明在报道范围内的生物碱中发现的烯基的C=C延伸或酰胺的C=O延伸^[46]。对于同一植物的Ag纳米颗粒,观察到了类似类型的红

外光谱带,吸收带有轻微移动。这种微小的变化可能是由于叶提取物与AgNPs的相互作用,这改变了提取物的原始透射率水平。可以得出结论,粗提取物中的水溶性化合物负责纳米颗粒的封端和有效稳定。

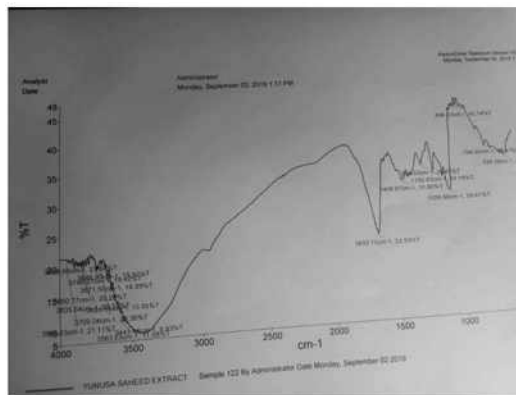


图2 无花果水提取物的FT-IR光谱图。

3.6电子显微镜

通过SEM (Phenom Pro-X 800-07334)测定合成的AgNP的形态,其显示出不同的形态。所得纳米颗粒显示出30-75nm尺寸范围内的均匀球形颗粒。SEM图像还显示在同一样品中存在纳米三角形和其他形态。已经报道了其他大小和形状相同的纳米颗粒,其使用的是来自马尾藻、马尾藻和各种植物的水提取物^[47-49]。

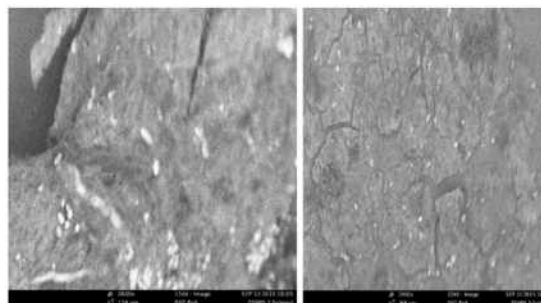


图3 梧桐病毒银纳米粒子的扫描电镜图像。

无花果叶和乳胶提取物纳米粒子已被探索^[14],并使用TEM、EDX表征为椭圆形、球形和不规则形状。

3.7AgNPs的抗痢疾活性

这项研究表明,与粗茎树皮提取物和AgNO₃的活性相比,合成的银纳米颗粒表现出更强的效力,在10mm和30mm之间具有大量抑制区。这些细菌分离物是志贺氏菌属的多药耐药菌株,对两种或多种市售抗生素具有耐药性。由于抑制区产生的活性范围在小于10mm和24mm之间,悬铃木粗提取物的抑制率最高(77.6%)小于10mm,小于10mm-29mm的硝酸银抑制区具有最高的抑制百分比(60.3%),对从无花果茎皮提取物合成的银纳米颗粒产生10mm-14mm的抑制区域,大于10mm-大于29mm的抑制区,最高的抑制率(46%)在15mm至19mm之间,尽管也观察到高达30mm的抑制区域。

表4 粗提取物、AgNO₃和AgNPs对志贺菌分离株的抗志贺菌活性

Number (%) of Isolates positive per test			
Zones of inhibition (mm)	FsSBE	AgNO ₃	FsAgNPs
<10	45 (77.6)	19 (32.8)	00 (00)
10 – 14	09 (15.5)	35 (60.3)	15 (25.9)
15 – 19	03 (5.2)	03 (5.2)	27 (46.6)
20 – 24	01 (1.7)	00 (00)	10 (17.2)
25 – 29	00 (00)	01 (1.7)	05 (8.6)
>29	00 (00)	00 (00)	01 (1.7)

Keys: FsSBE – *F. sycomorus* Stem Bark Extract, FsAgNPs – *F. sycomorus* Silver Nanoparticle.

这些结果与先前研究报告的范围相同^[43, 47, 50, 51, 46, 14, 52]。悬铃木果实和叶提取物对大肠杆菌的抑制区在15mm和17mm之间。据报道,使用无花果叶和胶乳对某些细菌菌株的生物合成AgNPs的抑制区为7-19mm,使用芽孢杆菌合成的NPs对宋内志贺氏菌和伤寒沙门氏菌的抑制区则为32mm^[43, 14, 48]。从colanut合成的NP表现出12mm至15mm的抑制区^[47, 46]。据报道,环丙沙星和链霉素抗性细菌对从卡普里卡叶16mm–21mm合成的银纳米粒子敏感^[53]。无花果叶12mm-24mm,莲心叶约16mm^[29, 51]。然而,目前的研究表明,AgNPs对多药耐药志贺氏菌具有更强的活性,从而证明了该颗粒的有效性,在这个新出现和再出现传染病的时

参考文献:

- [1] Qu F., Bao C., Chen S., Cui E., Guo T., and Wang H. (2012) Genotypes and antimicrobial profiles of *Shigella sonnei* isolates from diarrheal patients circulating in Beijing between 2002 and 2007. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 74 (2): 166–170.
- [2] Aragon, T. J, Vugia D. J, Shallow S., Samuel M. C, Reingold, and A. (2007). Case-Control Study of Shigellosis in San Francisco: The Role of Sexual Transmission and HIV Infection. *Clinical Infectious Diseases*. 44: 327–34.
- [3] Ryan, K. J and Ray C. G (2004). Ed. Sherris Medical Microbiology: An introduction to infectious disease. McGrawHill Medical Publishing Division New York. 4th Edition. P357-362.
- [4] Kumar Surinda (2014). *Essentials of Medical Microbiology*. Jaypee Brothers Medical Publishers. New Delhi. 648p.
- [5] Tam, F. C., Wang, M., and Dong, B., (2008). New rapid test for shigella fever: usefulness, cross-detection, and solution. *Diagnostics Microbiology of Infectious Diseases*. 62 (2): 142-150.
- [6] Byarugaba, D. K. (2004). A view on antimicrobial resistance in developing countries and responsible risk factors. *International Journal of Antimicrobial Agents* 24: 105–110.
- [7] Doore, S. M., Parent, K. N., Schrad, J. R., Dean, W. F., and Dover, J. A. (2018). *Shigella* phages isolated during a dysentery outbreak reveal uncommon structures and broad species diversity. *Journal of Virology* jvi.asm.org.
- [8] Saleh, B., Hammoud, R. and Al-Mariri, A. (2015). Antimicrobial activity of *Ficus sycomorus* L. (Moraceae) leaf and stem-bark extracts against multidrug resistant human pathogens. *Herbal polonica*. 61: 39-49. DOI: 10.1515/hepo-2015-0009.
- [9] Calixto, J. B., Otuki, M. F., and Santos, A. R. (2003). *Planta Medica*. 69: 973–983, PMID: 14735432.
- [10] Orwa, C. A., Mutua, Kindt R., Jamnadass R. and Anthony, S. (2009). *Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0* (<http://www.worldagroforestry.org/sites/treedbs/treedatabases.asp>).
- [11] Abubakar, U. S. (2017). Anticonvulsant activity of the methanol root bark extract of *Ficus sycomorus* linn. (Moraceae). *Journal of Pharmacy and Pharmacognosy Research*. 5 (1), 69 77. ISSN 0719-4250.
- [12] Khatoun N., Mazumder J. A, and Sardar, M. (2017) Biotechnological Applications of Green Synthesized Silver Nanoparticles. *Journal of Nanoscience Current Research* 2: 107. doi: 10.4172/2572-0813.1000107.
- [13] Zhang X., Liu Z., Shen W and Gurunathan S (2016). Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. *International Journal of Molecular Science*. 17 (1534): 1-34; doi: 10.3390/ijms17091534.
- [14] Salem, W. M., Haridy, M., Sayed, W. F., and Hassan N. H. (2014). Antibacterial Activity of Silver nanoparticles Synthesized from Latex and Leaf of *Ficus sycomorus*. *Industrial Crops and Products*. Elsevier. 62: 228-234.
- [15] Sharman, V. K., Yngard, R. A. and Lin, Y. (2009). *Adv. Colloid Surface Interface*. 145: 83. *Shigella sonnei* outbreak among men who have sex with men San Francisco, California, 2000–2001. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2001; 50: 922–6.
- [16] Lateef, A. (2016). Biogenic synthesis of silver nanoparticles using a pod extract of *Cola nitida*: Antibacterial and antioxidant

代, 该颗粒可用于生物医学应用, 以对抗耐药细菌感染。

4 结论

研究发现,痢疾杆菌的分离频率在儿童中很常见(40%),与女性相比,男性(52%)略多,但在95%的置信水平下,这一频率不显著。分离出的志贺氏菌对纳啶酸表现出相当大的耐药性,对克拉维酸阿莫西林和环丙沙星敏感,这表明由于耐药性低,这些药物在志贺氏杆菌病治疗中继续使用。Nalidoxic acid可以排除在该地区治疗志贺菌病的经验性药物之外,因为其耐药率很高。所制备的银纳米颗粒在460nm附近显示出最大吸收带,FT-IR显示出胺的N-H拉伸、烷烃的醛或羟基的弱C-H拉伸和烯烃的C=C拉伸或酰胺的C=O拉伸,而SEM显示出各种特征。与其粗提取物和硝酸银溶液相比,由悬铃木茎皮提取物产生的银纳米颗粒的抗志贺菌活性显示出对耐多药志贺菌物种的值得称赞的抑制区域。生物合成的AgNPs a作为一种抗志贺菌病非常有前途,这表明使用纳米生物技术模型增强当地草药的可能性,这不仅环境友好,而且经济。

- activities and application as a paint additive. *Journal of Taibah University for Science*.
- [17] Shitu, K. O. (2017). Application of gold nanoparticles for improved drug efficiency. *Advanced Natural Science: Nanoscience and Nanotechnology*. 8 035014.
- [18] Abraham, J., Logeswari, P, and Silambarasan, S. (2016). Synthesis of silver nanoparticles using plants extract and analysis of their antimicrobial property. *Journal of Saudi Chemical Society*. 3: 311-317.
- [19] Sondi, I. and Salopek-Sondi, B. (2004) Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid Interface Science* 275: 177-182.
- [20] Sivapalasingam S, Nelson, J. M, Joyce, K, Hoekstra, M, Angulo, F. J, and Mintz E. D. (2006). High prevalence of antimicrobial resistance among *Shigella* isolates in the United States tested by the National Antimicrobial Resistance Monitoring System. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 2006; 50: 49-54.
- [21] Cheesbrough, M (2012). District laboratory practice in tropical countries, Microbiological tests. Chapter 7. In: Cheesbrough M, Ed. pt 2. 2nd Ed. Cambridge: Cambridge University Press. pp: 9-267.
- [22] Gaurav, A, Singh, S. P, Gill, J. P., Kumar, R., and Kumar, D., (2013). Isolation and identification of *Shigella* spp. from human fecal samples collected from Pantnagar, *Indian Veterinary World*. 6 (7): 376-379, doi: 10.5455/vetworld.
- [23] Banerjee P., Satapathy P., Mukhopahayay, M. and Das, P. (2014). Leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles from widely available Indian plants: synthesis, characterization, antimicrobial property and toxicity analysis. *Bio resources and Bioprocessing*. 1 (3): 1-9.
- [24] CLSI. (2019). Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing. 29th Edition. CLSI Supplement M100. Wayne P. A. Clinical Laboratory Standard institute.
- [25] Amalhdhas, T. P., (2012). *Adv. Nat. Sci: nanosci. Nanotechnol.* 3: 045006.
- [26] Umadevi MS, Shalini S and Bondu MR (2012). Synthesis of Silvernanoparticle Using *D. carota* extract. *Advances in Natural Science: Nanoscience and Nanotechnology*. 3 (2): 1-7.
- [27] John J, Aravindakumar C. T and and Thomas S. (2018). Green Synthesis of Silver Nanoparticles using Phyto-Constituents of *Ficus auriculata* Lour. Leaf Extract: mechanistic Approach. *Saudi Arabia Journal of Biotechnology*. 4: 103. 77, 257–262.
- [28] Onuoha, S. C., Eluu and Okata, M. O. (2016). In-vitro Antimicrobial Resistance of *Shigella* and *Salmonella* species Recovered from Abattoir effluent in Afikpo, South Eastern Nigeria. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 5 (4): 488-497. doi: <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.504.058>.
- [29] Saleh B and Al-Mariri A (2017). Phytochemical constitues of *Ficus sycomorus* L. and inhibitory effect of their crude extracts against bacterial pathogens. *Journal of Natural Products*. 10: 06-14.
- [30] Zamanlou S., Rezaee M. A., Aghazadeh M., Ghotaslou R., Nave H. H., and Khalili Y. (2018). Genotypic Diversity of Multidrug Resistant *Shigella* species from Iran. *IC journal of Infection and Chemotherapy*. 50 (1): 29-37. www.icjournal.org.
- [31] Iwalokun BA, Gbenle GO, Smith SI, Ogunledun A, Akinsinde KA, and Omonigbehin EA. (2001) Epidemiology of Shigellosis in Lagos, Nigeria: Trends in antimicrobial resistance. *Journal of Health Population and Nutrition*. 19: 183-90.
- [32] Stoll BJ, Glass RI, Huq MI, Kuan MV, Bann H. and Holt J. Epidemiologic and clinical features of patients infected with *Shigella* who attached a diarrhoea disease hospital in Bangladesh. *J Infect Dis*. 1982; 88:177-83.
- [33] Andualem B, Kassu A, Diro E, Moges F, and Gedefaw M.(2006). The prevalence and antimicrobial responses of *Shigella* Isolates in HIV-1 infected and uninfected adult diarrhea patients in north west Ethiopia. *Ethiop. J. Health Dev.* 20 (2): 99-105.
- [34] Ngoshe I. Y., Denué B. A., Bello S. A., Akawu C. B and Gashua W. (2017). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Shigella* species isolates from diarrheal stool of patients in a tertiary health facility in northeastern Nigeria. *SubSaharan African Journal of Medicine*; 4: 96-101.
- [35] Mas'ud Abdullahi. (2017). Shigellosis and Socio-Demography of hospitalized Patients in Kano, North-West, Nigeria. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*. 6 (3). PP. 31-37.
- [36] Abubakar, U. S, DanMalam, U. H., Ahmed, A., Abdullahi S., Abba A., and Rukayya N. (2016). Gc-Ms Analysis of Ethyl Acetate Extract of *Ficus sycomorus* Root Linn. (Moraceae). *Bayero Journal of Pure Applied Sciences*, 9 (2): 30–34.
- [37] Ahmad A. S., Dahiru, A., Muhammad, A. T., Idriss, H. and Gautam K. (2016). Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of *Ficus sycomorus* Extracts of the Stem Bark and Leaves on Some Pathogenic Microorganisms. *American Chemical Science Journal*. 13 (3): 1-5.
- [38] Oluwasesan M. B., Agbende M. Z. and Jacob G. A. (2013). Comparative studies of phytochemical screening of *Ficus sycomorus* linn stem bark extract and *Piliostigma thonningii* roots extract. *Asian Journal of Plant Science Research*, 3 (6): 69-73.
- [39] Daniel D. and Dluya T. (2016). In vitro Biochemical Assessments of Methanol Stem Bark Extracts of *Ficus sycomorus* Plant.

Jordan Journal of Biological Sciences. 9 (1);63–68.

[40] Garba, S. H, Prasad, J. and Sandabe, U. K. (2007). Hepatoprotective Effect of the Aqueous Root-Back Extract of *Ficus sycomorus* (Linn) on Carbon Tetrachloride induced Hepathotoxicity in Rats. *Journal of Biological Sciences*. 7 (2): 276-281.

[41] Mudi SY, Muhammad A, Musa J and Datti Y (2015). Phytochemical Screening and Antimicrobial activity of leaves and fruits of *F. sycomorus*. *Chemsearch Journal*. 6 (1): 1-7.

[42] Kesba HH and El-Beltagi HS (2012). Biochemical changes in grape rootstocks resulted from humic acid treatments in relation to nematode infection. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2 (4): 287-293.

[43] El-Beltagi S. H., Mohammed H. T., Abdelazeem, A. S., Youssef, R., and Safwat, G. (2019). GC-MS Analysis, Antioxidant, Antimicrobial and Anticancer Activities of Extracts from *Ficus sycomorus* Fruits and Leaves. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 47 (2): 493-505.

[44] Aroca RF, Alvarez-Puebla, Piczonka N, Sanchez-Cortez S, and Garcia-Ramos JV (2005). Surface Enhanced Raman Scattering on colloidal nanostructure. *Advanced Colloid interface Science*. 116: 45-61.

[45] Saad A. M, Abdulameen H. A., Ghareeb, M. A., and Hamed M. H. (2017). In vitro antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities and green biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Callistemon citrinus* leaf extract. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 7 (06); 2017: 141-149.

[46] Lateef, A., Adelere, I. A., and Gueguim-Kana, E. B. (2015). *Bacillus safensis* LAU. a new source of keratinase and its multi-functional biocatalytic applications. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 29: 54–63.

[47] Adelere I. A., Lateef, A, Aboyeji, O. O., Abdusalam, R., Abba M. U., and Bala, D. D. (2017). Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Aqueous Extract of *Buchholzia Coriacea* (Wonderful Kola) Seeds and their Antimicrobial Activities. *Annals. Food Science and Technology*. 18 (4): 671-679.

[48] Mahmoud, W, Elazzazy A. M and Danial E. N (2017). In vitro evaluation of antioxidant, biochemical and antimicrobial properties of biosynthesized silver nanoparticles against multidrug-resistant bacterial pathogens. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 31: 2, 373-379.

[49] Mmola M., Roes-Hill, M. L., Durell, K., and Bolton, J. J. (2016). Enhanced Antimicrobial and Anticancer Activity of Silver and Gold Nanoparticles Synthesised Using *Sargassum incisifolium* Aqueous Extracts. *Molecules* (21) 1633. 1–20.

[50] Bhalerao BM and Borkar PA (2017). Plant as a natural source for synthesis of silver nanoparticles. *International Journal of Chemical Studies*. 5 (6): 98-104.

[51] Premanand, G., Shanmugam, N., Kannadasan, N., Sathishkumar, K. and Viruthagi, G. (2016). *Nelumbo nucifera* leaf extract mediated synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial properties against some human pathogens. *Applied Nanoscience*. 6: 409-415.

[52] Augustine R., Kalarikkal N, and Thomas, S. (2014). A facile and rapid method for the black pepper leaf mediated green synthesis of silver nanoparticles and the antimicrobial study. *Applied Nanoscience*, 4: 809–818.

[53] Kotakadi V. S., Gaddam S. A. and Venkata S. K. (2014). New generation of bactericidal silver nanoparticles against different antibiotic resistant *Escherichia coli* strains. *Journal of Applications of Nanoscience*. DOI 10.1007/s13204-014-0381-7.1–9.