

Évaluation de l'activité antibactérienne et anti-biofilm des nanoparticules de dioxyde d'étain (SnO₂)

Zahra Obeizi^{1*}, Houneida Benbouzid² et Abdelghani Djahoudi³

¹Laboratoire de biochimie et microbiologie appliquée, Département de biochimie, Faculté des sciences, Université Badji Mokhtar, Annaba 23000, Algérie.

²Laboratoire de toxicologie cellulaire, Département de biologie, Faculté des sciences, Université Badji Mokhtar, Annaba 23000, Algérie.

³Laboratoire de microbiologie, Département de pharmacie, Faculté de médecine, Université Badji Mokhtar, Annaba 23000, Algérie.

Abstract. Multidrug resistance to antibiotics poses a huge public health problem. The formation of biofilms by adherence of bacteria to medical devices, implants and damaged tissues is the main cause of nosocomial infections. So, the need to develop alternative technologies as antibacterial agents has become more than essential. In this research, SnO₂ nanoparticles (Sigma-Aldrich, 99.99% pure) were characterized by using X-Ray Diffraction (XRD) analysis, Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), Scanning Electron Microscopy (SEM) and Ultraviolet-visible (UV-Vis) spectroscopy. The antibacterial activity of SnO₂ NPs was carried out by the determination of minimum inhibitory concentration against both Gram-negative and Gram-positive bacteria; anti-biofilm activity was performed using 96-well microtiter plate method against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. XRD Results confirm crystal structure of SnO₂ NPs, the average grain size was found to be 36 nm Morphological findings by SEM indicate flake-shaped morphology forming agglomerates. SnO₂ NPs were exhibited good antibacterial activity against all bacterial strains tested, the minimum inhibitory concentration values varied between 4 and 512 µg/ml. The significant percentage of biofilm inhibition was found 64.07% and 68.37 % against *S. aureus* and *P. aeruginosa* biofilm respectively.

Keywords: SnO₂ nanoparticles, Antibacterial, Anti-biofilm, Minimum inhibitory concentration.

Résumé. La multi-résistance bactérienne aux antibiotiques pose un énorme problème de santé publique. La formation des biofilms par adhérence des bactéries aux dispositifs médicaux, implants et tissus endommagés est la principale cause d'infections nosocomiales. Ainsi, la nécessité de développer des technologies alternatives en tant qu'agents antibactériens est devenue plus qu'essentielle. Dans cette recherche, les nanoparticules de SnO₂ (Sigma-Aldrich, pureté 99,99%) ont été caractérisées en utilisant l'analyse de diffraction des rayons X (DRX), la spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR), la microscopie électronique à balayage (MEB) et la spectroscopie ultraviolet-visible (UV-Vis). L'activité antibactérienne des NPs de SnO₂ a porté sur la détermination de la concentration minimale inhibitrice vis-à-vis des bactéries Gram-négatives et Gram-positives, l'activité anti-biofilm a été réalisée en utilisant la méthode de plaque de microtitration à 96 puits contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats de DRX confirment la structure cristalline des NPs de SnO₂, la taille moyenne des grains s'est avérée être de 36 nm. Les résultats morphologiques par MEB indiquent une morphologie en forme de flocon formant des agglomérats. Les NPs de SnO₂ ont présenté une bonne activité antibactérienne contre toutes les souches bactériennes testées, les valeurs des concentrations minimales inhibitrices varient entre 4 et 512 µg / ml, ainsi qu'une inhibition de formation du biofilm de *S. aureus* et *P. aeruginosa* de l'ordre de 64.07% et 68.37 % respectivement.

Mots clés: Nanoparticules de SnO₂, Antibactérien, Anti-biofilm, Concentration minimale inhibitrice.

* Corresponding author.

E-mail: zahra24abeizi@gmail.com (Zahra Obeizi).

Address: PO Box 12, Annaba 23000, Algeria

1. Introduction

Les antibiotiques ont progressivement perdu leur activité bactéricide en raison de leur utilisation croissante et parfois inappropriée. De nombreuses souches bactériennes ont commencé à s'adapter et à développer des résistances face à cette thérapeutique [1, 2]. Ajoutant au problème de résistance, les bactéries sont capables de former un biofilm dans certains environnements, ce qui leur permet de développer des facteurs de virulence et de survivre en présence de fortes concentrations d'antibiotiques [3, 4]. Par conséquent, nous avons le plus grand besoin de développer des technologies alternatives et de trouver de nouveaux agents antibactériens efficaces, capables de détruire les microorganismes ou d'empêcher leur prolifération, et contre lesquels, les bactéries sont incapables de développer une résistance. Actuellement, les nanotechnologies ont observé des progrès énormes dans le domaine de synthèse et de préparation des nanoparticules (NPs) métalliques antimicrobiennes et le développement des diverses techniques de fabrication des nanomatériaux antibactériens [5, 6].

Plusieurs métaux, tels que l'argent (Ag), le cuivre (Cu), le magnésium (Mg) et le zinc (Zn) ont historiquement été utilisés pour tuer les bactéries avant que les antibiotiques ne soient largement utilisés. En conséquence, les nanomatériaux inorganiques ont attiré une attention considérable en tant qu'agents antibactériens en raison de leurs propriétés physicochimiques et leurs utilisations polyvalentes par rapport aux antibiotiques traditionnels [7, 8]. L'oxyde d'étain (SnO_2) est un matériau unique ayant des propriétés importantes telles qu'une stabilité thermique élevée et un degré élevé de transparence dans la région visible du spectre. C'est également un semi-conducteur important de type n avec une énergie à large bande (3,6-3,8 eV) [9]. En raison de ses excellentes propriétés optiques, électrochimiques et catalytiques, il est utilisé dans de nombreuses applications pratiques telles que les capteurs à semi-conducteurs, les cellules solaires, les batteries Lithium et les dispositifs optoélectroniques [10-11]. Le SnO_2 , similaire à d'autres matériaux énergétiques à large bande interdite tels que TiO_2 , SiO_2 et ZnO , présente une bonne activité photo-catalytique et antibactérienne ainsi qu'un pouvoir de dégradation des contaminants organiques [12]. Des études antérieures ont montré que les nanomatériaux de SnO_2 ont une activité bactéricide extrêmement élevée contre *E. coli*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* et *S. enterica* [13, 14].

Dans ce travail de recherche, les nanoparticules de SnO_2 (Sigma-Aldrich, pureté 99,99%) ont été caractérisées par DRX, FTIR, MEB et UV-Vis. Les activités antibactériennes et anti-biofilm ont été réalisées sur des souches de référence et des souches cliniques, certaines d'entre elles sont des souches bactériennes multi-résistantes isolées à partir de divers échantillons pathologiques de patients et d'environnement hospitalier.

2. Méthodologie

2.1. Matériel

Les poudres des nanoparticules de SnO_2 (Sigma – Aldrich, pureté 99,99%) ont été utilisées dans cette étude. L'étude de l'activité antibactérienne des NPs a porté sur 15 souches bactériennes gracieusement fournies par le laboratoire de Microbiologie Générale, Faculté de Médecine, Université Badji Mokhtar d'Annaba, dirigé par le professeur DJAHOUDI A.E.G, et sont représentées par 4 souches de références (**A**: American **T**: Type **C**: culture **C**: collection) : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 et *Escherichia coli* ATCC 25922 et 11 souches cliniques : *klebsiella pneumoniae* carbapénémase positif (KPC+), *klebsiella pneumoniae* carbapénémase négatif (KPC-), *Proteus penneri*, *Bacillus cereus*, *Acinetobacter baumannii*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas aeruginosa* VIM-2, *Pseudomonas aeruginosa* résistant à l'imipénem (IMP R), *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM).

2.2. Méthodes

Caractérisation des nanoparticules de SnO₂

La structure cristalline des NPs de SnO₂ a été examinée par diffraction des rayons X (DRX) à l'aide d'un diffractomètre Panalytical X'PERT équipé d'une source de rayonnement CuK α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) et fonctionnant à une tension / courant de 40 kV / 30 mA. La spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) est réalisée à l'aide de SHIMADZU FTIR-8400S. 2 mg des poudres SnO₂ ont été soigneusement mélangés avec 200 mg de bromure de potassium (KBr), puis le mélange obtenu a été pressé (10 tonnes) pour obtenir des granulés fins, compacts et homogènes. Les spectres ont été enregistrés dans la plage de nombres d'ondes de 400 à 4000 cm⁻¹ et analysés en déduisant le spectre KBr pur. La morphologie et la taille des particules ont été caractérisées par microscopie électronique à balayage (MEB) en utilisant MEB ZEISS fonctionnant à 10 kV. Une petite quantité de poudre est dissoute dans l'éthanol, puis une goutte de la suspension est prélevée et déposée sur un adhésif double face en carbone collé à un porte-échantillon en aluminium. Les spectres d'absorption UV-Vis ont été enregistrés à température ambiante par spectrophotomètre UV-Visible en utilisant le spectrophotomètre Jenway 6405 Uv / vis, dans la gamme 200–900 nm avec une résolution de 1 nm à une vitesse de balayage de 200 nm / min.

Activité antibactérienne des NPs de SnO₂

L'activité antibactérienne des nanoparticules de SnO₂ a été étudiée par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) à l'aide de la technique de diffusion sur milieu gélosé conformément aux normes du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2020) [15]. La CMI représente la concentration d'un antibiotique inhibant totalement la croissance bactérienne visible après 24 h d'incubation à 37 ° C [16]. Les bactéries à Gram positif et à Gram négatif ont été cultivées sur gélose Nutritif à 37 ° C pendant 24 h. Les suspensions bactériennes ont été préparées dans un bouillon nutritif stérile puis ajustées à une DO entre 0.08 et 0.1 à une longueur d'onde de 625 nm, ce qui correspond à 0.5 Mac Farland (10⁸ organismes / ml). Une solution mère des NPs de SnO₂ à une concentration de 2048 $\mu\text{g} / \text{ml}$ a été préparée, suivie d'une sonication et d'un autoclavage à 121 ° C pendant 30 minutes. Des dilutions semi-logarithmiques de demi en demi dans de l'eau distillée stérile ont été préparées (1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5) jusqu'à la concentration finale de 0,5 $\mu\text{g} / \text{ml}$. Pour préparer les dilutions des boîtes de Pétri, 2 ml de chaque concentration des NPs ont été mélangés avec 18 ml de gélose Muller Hinton dans la boîte de Pétri correspondante. Après solidification du milieu, nous avons déposé les spots bactériens. Après cela, les boîtes de Pétri ont été laissées à température ambiante jusqu'à ce que l'humidité soit absorbée (séchage localisé, pas plus de 30 minutes), puis les boîtes ont été incubées à 37 ° C pendant 18 à 24 heures.

Activité anti-biofilm

L'activité anti-biofilm des NPs de SnO₂ a été déterminée vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, en utilisant la méthode de plaque de microtitration à 96 puits telle que décrite par Saising et al. [17]. Toutes les expériences de biofilm ont été répétées trois fois. La turbidité des cultures bactériennes cultivées pendant la nuit dans le milieu Brain Heart Infusion Brown (BHIB) a été ajustée à 0.08-0.1 de DO à une longueur d'onde de 625 nm. Dans les puits de microplaque, 100 μl de chaque suspension bactérienne ont été mélangés avec un volume égal de solution de nanoparticules de SnO₂ ayant différentes concentrations (8, 16, 32 et 64 $\mu\text{g} / \text{mL}$), l'incubation est réalisée à 37 ° C pendant 24 h. L'inoculum sans NPs et le BHIB seul ont servi de contrôle positif et négatif, respectivement. Après incubation, le surnageant de culture a été retiré, et les puits de microplaque ont été lavés trois fois avec du Buffer Saline Phosphate (PBS) pour éliminer les cellules non adhérentes. Les bactéries adhérentes à la plaque ont été colorées avec 200 μl de solution de cristal

violet à 0,1% (w / v) pendant 30 minutes. Ensuite, la microplaque a été lavée trois fois avec de l'eau déminéralisée pour éliminer l'excès de cristal violet et séchée à température ambiante. 200 µl de mélange éthanol-acétone (75/25%) ont été ajoutés à chaque puits pendant 30 minutes. L'inhibition du biofilm a été déterminée en enregistrant la densité optique (DO) à 595 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (Filter Max F5 ELIZA), et le taux d'inhibition du biofilm a été calculé selon l'équation :

$$\text{Taux d'inhibition du biofilm (\%)} = (DO_{\text{Contrôle positif}} - DO_{\text{Concentration Test}}) / (DO_{\text{Contrôle positif}}) \times 100$$

3. Résultats et discussion

Diffraction des rayons X (DRX)

Le diagramme de diffraction des rayons X des nanoparticules de SnO₂ est illustré dans la fig.1. Les pics indiqués aux valeurs 2θ peuvent être associés à (110), (101), (200), (111), (210), (211), (220), (002), (310), (112), (301), (202) et (321) respectivement, correspondent à la cristallite à structure rutile tétragonale de SnO₂ (groupe spatial, P42 / mmm), qui sont en accord avec les valeurs de la littérature (carte JCPDS n ° 41-1445). La taille moyenne des nanoparticules de SnO₂ peut être estimée par l'équation de Scherrer [18]. $D = k\lambda / \beta \cos \theta$, où D est la taille des cristallites, K = 0,9, λ est la longueur d'onde des rayons X, β est la largeur totale de la moitié du maximum du pic de diffraction et θ est l'angle de diffraction de Bragg des pics de diffraction. La taille moyenne des nanoparticules de SnO₂ est de 36 nm.

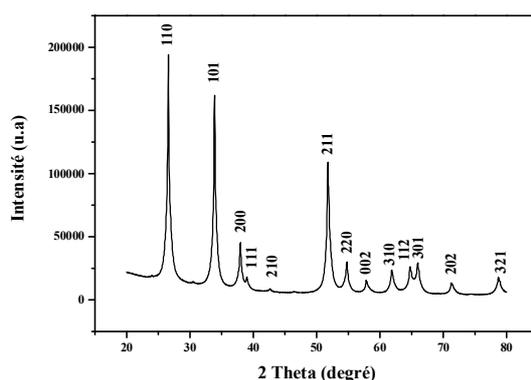
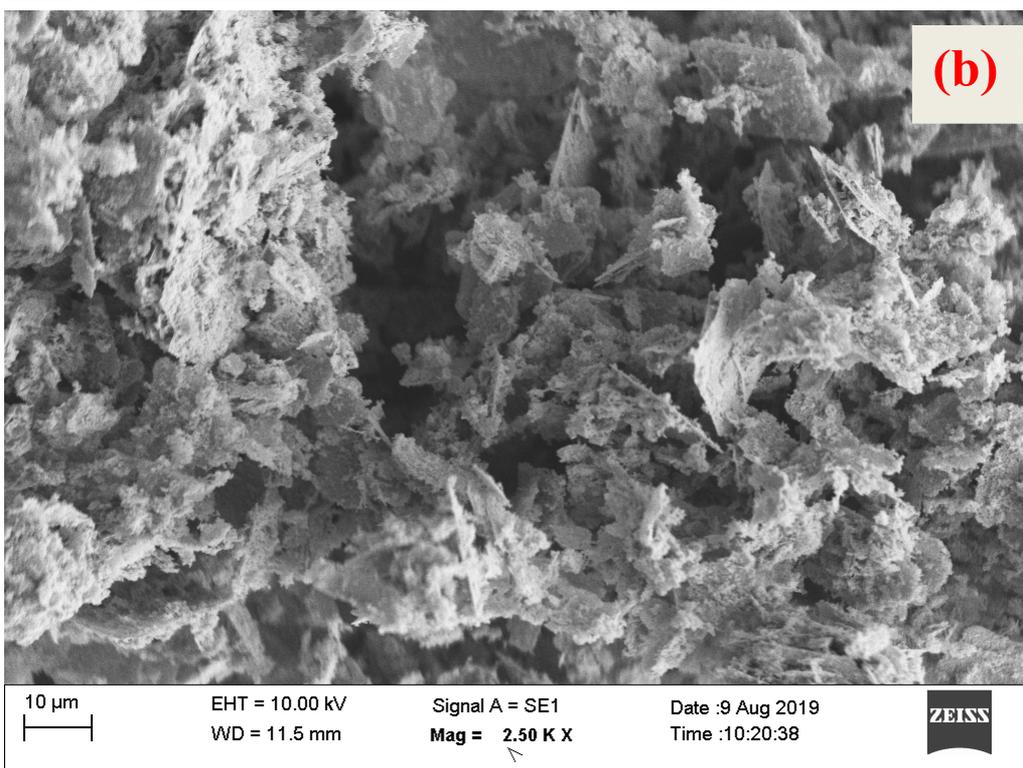
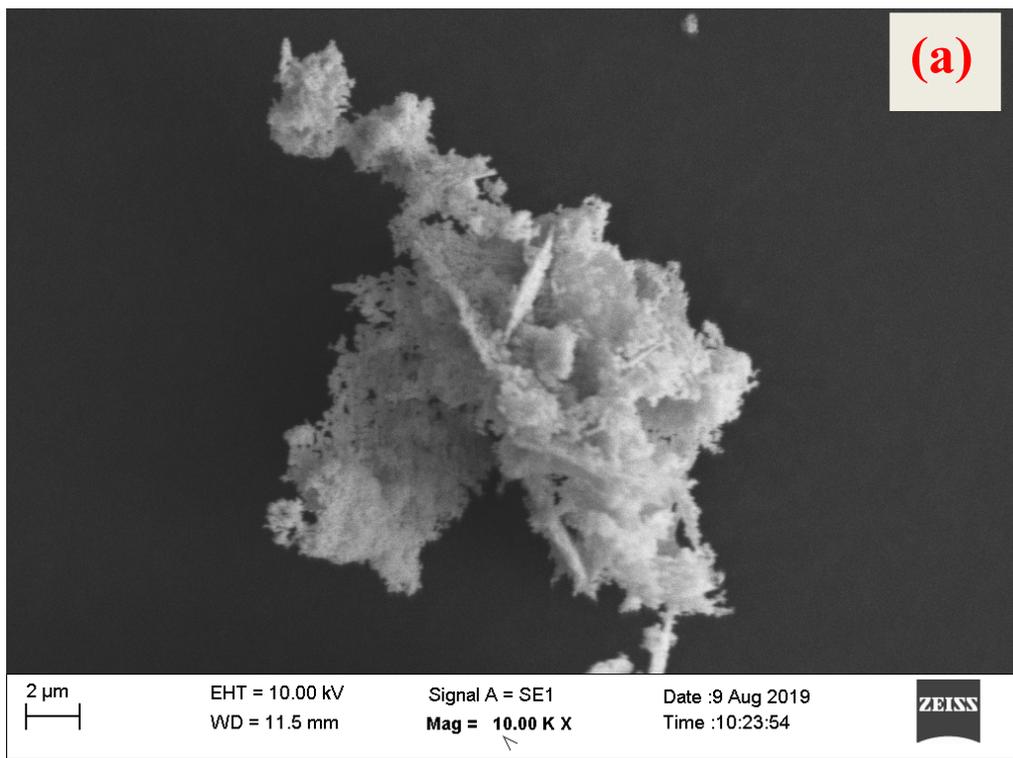
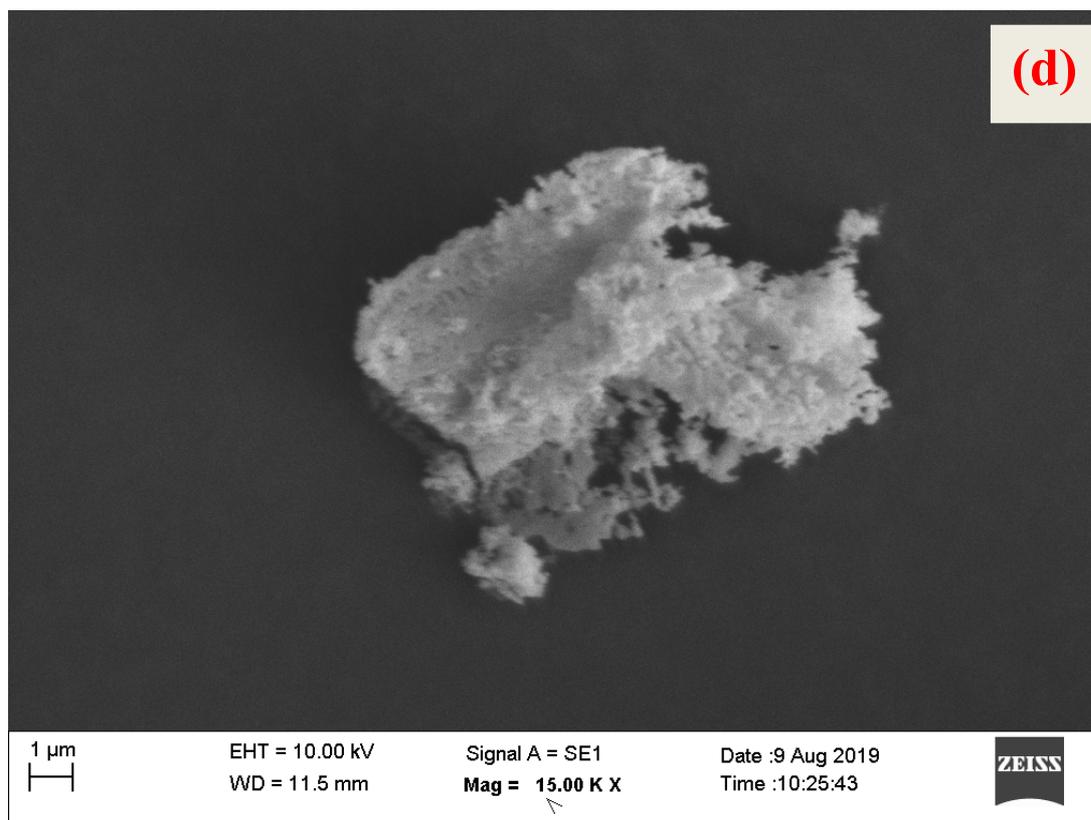
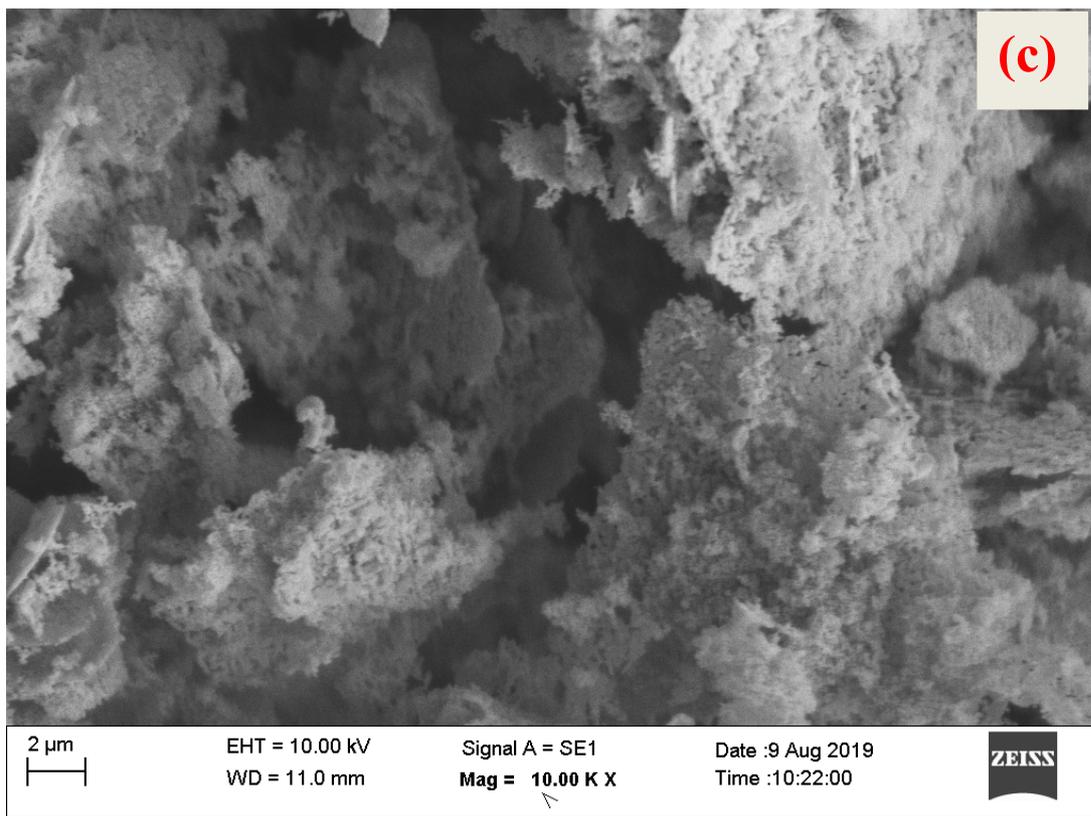


Fig. 1: Diagramme de diffraction des rayons X des nanoparticules de SnO₂

Microscopie électronique à balayage (MEB)

La fig. 2 montre la morphologie des nanoparticules de SnO₂. Les photos MEB (a) - (b) - (c) - (d) et (e) à différents grossissements indiquent une morphologie en forme de flocon formant des agglomérats. Des résultats similaires ont été rapportés dans la littérature [19].





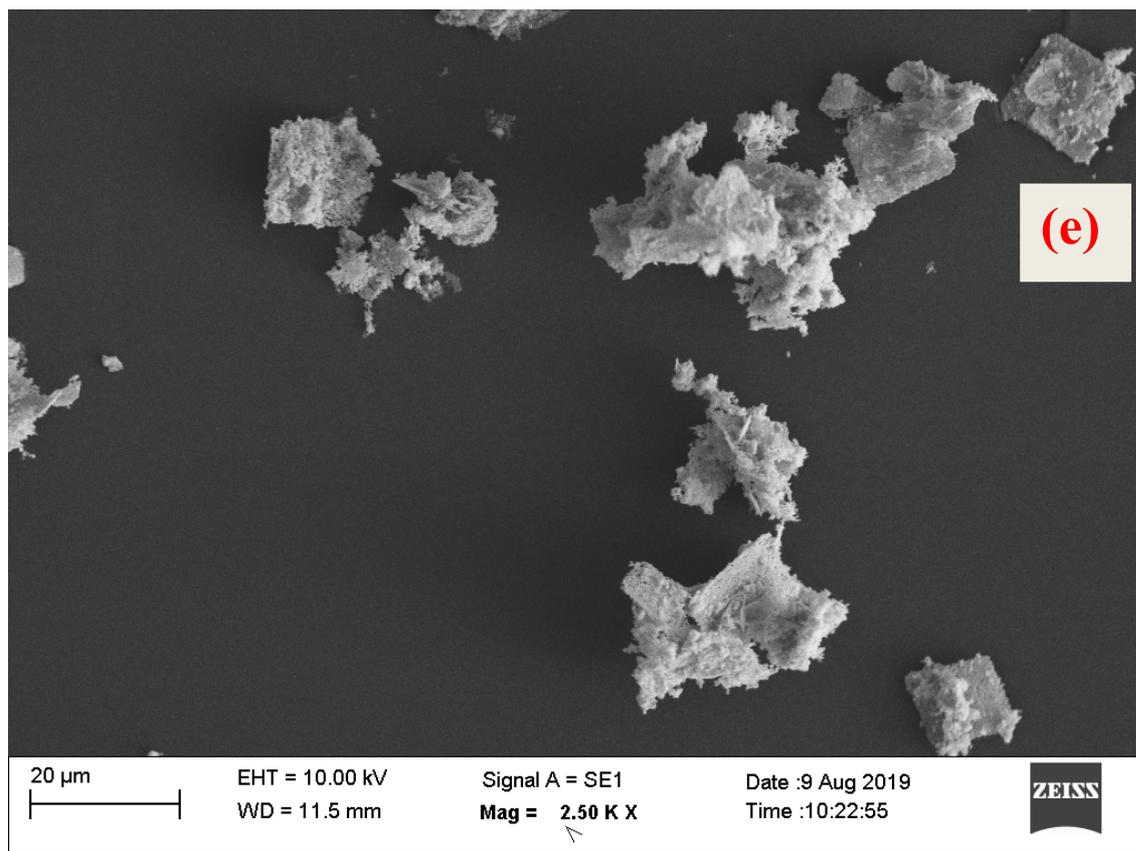


Fig. 2: (a) - (b) - (c) - (d) et (e) Photos MEB à différents grossissements

Spectroscopie infrarouge à Transformer de Fourier (FTIR)

Le spectre infrarouge des nanoparticules de SnO_2 est présenté sur la fig. 3. A partir de ce spectre, les pics entre 1628 et 3421 cm^{-1} correspondent aux vibrations de liaison de l'eau moléculaire absorbée et à la vibration d'étirement des groupes -OH [20]. Une bande apparaissant dans la gamme de 400 à 700 cm^{-1} , spécifiquement, à 633 cm^{-1} est attribuée au mode d'étirage antisymétrique Sn-O-Sn et antisymétrique Sn-O du pont de surface de l'oxyde formé par condensation de la vibration du groupe hydroxyle de surface adjacente [21]. Le pic d'absorption entre 3300 et 3475 cm^{-1} (3442 cm^{-1}) est attribué à la vibration d'étirement O-H du H_2O absorbé à la surface de l'oxyde d'étain [22].

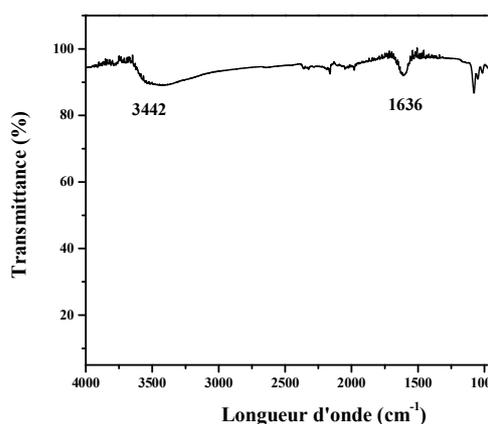


Fig. 3: Diagramme de l'infrarouge des nanopoudres de SnO₂.

Spectroscopie ultraviolet-visible

La spectroscopie ultraviolet-visible est une technique non destructive puissante pour explorer les propriétés optiques des nanoparticules semi-conductrices. Les spectres d'absorption des nanoparticules pures de SnO₂ présentés dans la fig.4 montrent une coupure ultraviolette d'environ 250-290 nm, qui peut être attribuée à la photo-excitation d'électrons d'une bande de valence à une bande de conduction.

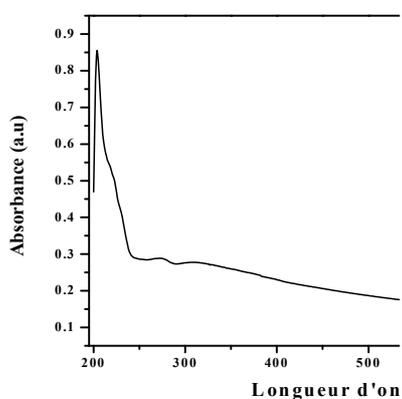


Fig. 4: Diagramme de l'infrarouge des poudres de SnO₂

Activité antibactérienne

La lecture des résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) a été réalisée après incubation à 37 °C pendant 24 h dans des conditions aérobies. Le tableau 1 regroupe les valeurs de la CMI obtenues après traitement des bactéries Cocci à Gram positif aux différentes concentrations de SnO₂. La CMI se situe dans un intervalle entre 16 et 512 µg/ml (Tableau 1).

Tableau 1. Valeurs des CMI des Cocci à Gram positif traités par le SnO₂

Souches		CMI (µg/ml)
Cocci à Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	512
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	16
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	16
	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline (SARM).	32
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	64

Le tableau 2 regroupe les valeurs de la CMI obtenues après traitement des bactéries bacilles à Gram positif aux différentes concentrations de SnO₂. L'espèce *Bacillus cereus* présente une CMI de 512 µg/ml (Tableau 2).

Tableau 2. Valeurs des CMI des bacilles à Gram positif traités par le SnO₂.

Souches		CMI (µg/ml)
Bacilles à Gram positif	<i>Bacillus cereus</i>	512

Le tableau 3 rassemble les valeurs des CMI obtenues après traitement des bactéries bacilles à Gram négatif entérobactéries aux différentes concentrations de SnO₂. Les valeurs de CMI se situent dans un intervalle entre 128 et 512 µg/ml (Tableau 3).

Tableau 3. Valeurs des CMI des bacilles à Gram négatif entérobactéries.

Souches		CMI (µg/ml)
Bacilles à Gram négatif entérobactéries	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	128
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapénèmase positif (KPC+)	512
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapénèmase négatif (KPC-)	256
	<i>Proteus penneri</i>	512

Le tableau 4 regroupe les valeurs de la CMI obtenues après traitement des bactéries bacilles à Gram négatif non entérobactéries aux différentes concentrations de SnO₂. Les valeurs de CMI se situent entre 4 et 64 µg/ml (Tableau 4).

Tableau 4. Valeurs de la CMI des bacilles à Gram négatif non entérobactéries traités par le SnO₂.

Souches		CMI (µg/ml)
Bacilles à Gram négatif entérobactéries non	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	32
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> VIM-2	16
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> résistant à l'imipénem (IMP R)	4
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	64

Une CMI inférieure correspond à une efficacité antibactérienne plus élevée. Les résultats sont comparables à ceux de la littérature qui montrent que la toxicité des nanoparticules peut varier significativement entre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, et dans certains cas varient même entre les organismes [23]. Cette différence d'activité contre ces deux types de bactéries peut s'expliquer par les différentes structures et composition chimique des surfaces cellulaires. La paroi cellulaire des bactéries Gram-négatif est différente des bactéries Gram-positif en ayant une membrane externe qui recouvre la couche de peptidoglycane. En plus, la présence des porines en contact direct avec le milieu extérieur facilite la diffusion transmembranaire des nanoparticules de petite taille rendant la bactérie facile à détruire [24]. Alors que la paroi des bactéries à Gram négatif n'est constituée qu'une couche fine de peptidoglycane, de phospholipides et de lipopolysaccharides.

Aussi, l'existence d'une attraction électrostatique entre les oxydes métalliques chargés positivement et les microorganismes chargés négativement permet une adsorption des NPs à travers la paroi bactérienne [25]. Par conséquent, des fosses vont se former au niveau des porines conduisant à une perméabilité accrue et une mort cellulaire [26]. Plusieurs hypothèses ont été formulées pour expliquer les mécanismes de ces dommages qui ne sont pas encore bien élucidés [27]. L'hypothèse la plus probable est celle de la déstabilisation de la paroi par les NPs qui peut être due à la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui provoqueraient des réactions radicalaires destructrices en chaîne (peroxydation lipidique) dans la couche des lipopolysaccharides bactériennes ; cette production d'ERO conduisant à des dommages membranaires et des dommages oxydatifs de l'ADN [28].

Nos résultats sont comparables à plusieurs recherches rapportées dans la littérature. Ayeshamariam et al (2015) [29] ont constaté que les nanomatériaux SnO₂-Chitosan inhibaient la croissance bactérienne d'*E. Coli*, *S. aureus*, *S. typhimurium*, *S. pyogenes* et *P. aeruginosa* avec des valeurs de CMI variant entre 5 et 25 mg / ml. L'étude réalisée par Rehman et al (2019) [30] a démontré que les NPs de SnO₂ préparées par méthode ultrasonique ont une bonne activité antimicrobienne avec des valeurs de CMI de 0.5 mg / ml pour *E. coli* et de 8 mg / ml pour *C. albicans*.

Activité anti-biofilm

Les biofilms représentent un problème majeur de santé publique car leur formation protège les bactéries pathogènes contre les antibiotiques et est considérée comme l'une des principales causes de l'émergence des infections nosocomiales. Les biofilms sont formés par l'adhésion de bactéries sur une surface solide et par la sécrétion d'une matrice (protéines, ADN et extra-polysaccharide), qui constituent une communauté microbienne complexe [31].

La population totale de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* est significativement réduite de 64.07% et 68.37 %, respectivement après contact avec les NPs de SnO₂ (Fig.5).

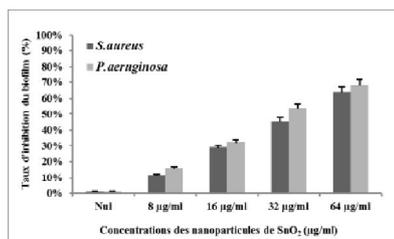


Fig. 5: Effet des nanoparticules de SnO₂ sur l'inhibition du biofilm.

Al-Shabib et al (2018) [32] ont démontré que les nanofleurs creuses à l'oxyde d'étain présentaient une inhibition significative de la virulence régulée par quorum sensing et de la formation de biofilm des bactéries pathogènes (*Serratia marcescens*, *Chromobacterium violaceum* et *Pseudomonas aeruginosa*). Khan et al (2020) [33] ont également constaté que les NPs de SnO₂ ont efficacement inhibé les biofilms formés par *S. aureus* et *L. monocytogenes*.

Actuellement, l'éradication des biofilms est un défi majeur pour surmonter les infections chroniques. Dans cette étude, l'impact des NPs de SnO₂ sur les biofilms préformés a également été déterminé. Les résultats montrent que ces NPs sont efficaces contre le biofilm de 24 heures des souches testées avec une éradication supérieure à 60%, présentant ainsi une excellente efficacité pour inhiber la formation de biofilm et capables de perturber rapidement et efficacement l'architecture de biofilm multicouche et tridimensionnelle. La capacité d'un agent antimicrobien à pénétrer et à disperser le biofilm confirme sa puissance et son efficacité car la couche de biofilm est une barrière imperméable à plusieurs antibiotiques [34].

4. Conclusion

A l'issue de cette étude, nous pouvons conclure que les nanoparticules de SnO₂ ont de bonnes capacités antibactériennes et anti-biofilm sur les bactéries testées et il peut être possible de les utiliser comme agent désinfectant pour éviter la contamination bactérienne en inhibant les microorganismes directement en contact avec la surface réceptrice.

Remerciements

Les auteurs remercient le Département de génétique et de bio-ingénierie de l'Université Yeditepe d'Istanbul (Turquie) pour la réalisation de l'étude de caractérisation.

Références

- [1]Zheng K., Setyawati M. I., Leong D. T. &Xie, J.,2018- Antimicrobial silver nanomaterials. Coord. Chem. Rev., 357:1-17.
- [2]Magiorakos A. P., Srinivasan A., Carey R. B., CarmeliY., Falagas M. E., Giske C. G., Harbarth S., Hindler J. F., Kahlmeter G., Olsson-Liljequist B., Paterson D. L., Rice L. B., Stelling J., Struelens M. J., Vatopoulos A., Weber J. T. & Monnet, D. L., 2012- Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. ClinMicrobiol Infect, 18(3): 268-281.
- [3]Lebeaux D., GhigoJ. M. & Beloin, C., 2014- Biofilm-related infections: bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics. MicrobiolMolBiol Rev, 78(3): 510-543.
- [4]Arciola C. R., Campoccia D., Speziale P., Montanaro L. &Costerton, J. W., 2012- Biofilm formation in Staphylococcus implant infections.A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials.Biomaterials, 33(26): 5967-5982.

- [5] Hasan J., Crawford R. J. & Ivanova, E. P., 2013- Antibacterial surfaces: the quest for a new generation of biomaterials. *Trends Biotechnol*, 31(5):295-304.
- [6] Hajipour M. J., Fromm K. M., Ashkarran A. A., Jimenez de Aberasturi D., de Larramendi I. R., Rojo T., Serpooshan V., Parak W. J. & Mahmoudi, M., 2012- Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends Biotechnol*, 30(10): 499-511.
- [7] Lemire J. A., Harrison J. J. & Turner, R. J., 2013- Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. *Nat Rev Microbiol*, 11(6): 371-384.
- [8] Sirelkhatim A., Mahmud S., Seeni A., Kaus N., Ann L. C., Bakhori S., Hasan H. & Mohamad D., 2015- Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nanomicro Lett*, 7(3): 219-242.
- [9] Straumal B., Baretzky B., Mazilkin A., Protasova S., Myatiev A. & Straumal, P., 2009- Increase of Mn solubility with decreasing grain size in ZnO. *J. Eur. Ceram. Soc*, 29(10): 1963-1970.
- [10] Tam K. H., Djurišić A. B., Chan C. M. N., Xi Y. Y., Tse C. W., Leung Y. H. & Au D. W. T., 2008- Antibacterial activity of ZnO nanorods prepared by a hydrothermal method. *Thin Solid Films*, 516(18): 6167-6174.
- [11] Khan S.A., Shahid, S. & Ijaz F., 2017- Green Synthesis of Copper oxide Nanoparticles & Biomedical Application, Publisher: Lambert Academic Publishing, 1: 1-133.
- [12] Viet P. V., Thi C. M. & Hieu L. V., 2016- The High Photocatalytic Activity of SnO₂ Nanoparticles Synthesized by Hydrothermal Method. *J. Nanomater*, 2016: 1-8.
- [13] Arularasu M. V., Anbarasu M., Poovaragan S., Sundaram R., Kanimozhi K., Magdalane C. M., Kaviyarasu K., Thema F. T., Letsholathebe D., Mola G. T. & Maaza M., 2018- Structural, Optical, Morphological and Microbial Studies on SnO₂ Nanoparticles Prepared by Co-Precipitation Method. *J Nanosci Nanotechnol*, 18(5): 3511-3517.
- [14] Rehman S., Asiri S. M., Khan F. A., Jermy B. R., Khan H., Akhtar S. & Qurashi A., 2019- Biocompatible Tin Oxide Nanoparticles: Synthesis, Antibacterial, Anticandidal and Cytotoxic Activities. *ChemistrySelect*, 4(14): 4013-4017.
- [15] Wang J., Wei X. & Fan, M., 2018- Assessment of Antibiotic Susceptibility within Lactic Acid Bacteria and Coagulase-Negative Staphylococci Isolated from Hunan Smoked Pork, a Naturally Fermented Meat Product in China. *J. Food Sci.*, 83(6): 1707-1715.
- [16] Soriano A., Marco F., Martínez J. A., Pisos E., Almela M., Dimova V. P., Alamo D., Ortega M., Lopez J. & Mensa, J., 2008- Influence of vancomycin minimum inhibitory concentration on the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis*, 46(2): 193-200.
- [17] Saising J., Dube L., Ziebandt A. K., Voravuthikunchai S. P., Nega M., & Götz, F., 2012- Activity of gallidermin on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*, 56(11): 5804-5810.
- [18] Ganesh E. P., Dnyaneshwar D.K., Vishwas B. G., & Gotan H. J., 2012- Preparation and characterization of SnO₂ nanoparticles by hydrothermal route. *Int. Nano Lett*. 2(17): 1-5.
- [19] Zhang D., Sun Y., Li P., & Zhang, Y., 2016- Facile Fabrication of MoS₂-Modified SnO₂ Hybrid Nanocomposite for Ultrasensitive Humidity Sensing. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 8(22): 14142-14149.
- [20] Bagal L. K., Patil J.Y., Mulla S., & Suryavanshi S.S., 2012- Influence of Pd-loading on gas sensing characteristics of SnO₂ thick films. *Ceram. Int*, 38: 4835-4844.

- [21]Deosarkar M. P., Pawar S.M., Sonawane S.H. &Bhanvase B.A., 2013- Process intensification of uniform loading of SnO₂ nanoparticles on graphene oxide nanosheets using a novel ultra sound assisted in situ chemical precipitation method. Chem. Eng. Process. 70: 48-54.
- [22]Mazloom J., &Ghodsi F.E., 2013- Spectroscopic, microscopic, and electrical characterization of nanostructured SnO₂: Co thin films prepared by sol-gel spin coating technique. Mater. Res. Bull, 48:1468-1476.
- [23] Jang W., Yang K., Vachet R. W., & Xing B., 2010- Interaction between oxide nanoparticles and biomolecules of the bacterial cell envelope as examined by infrared spectroscopy. Langmuir, 26 (23): 18071-18077
- [24]Baek Y. W., & An Y. J., 2011- Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO, and Sh203) to Escherichia coli, Bacillus subtilis and Streptococcus aureus. Sci Total Environ, 409(8):1603-1608.
- [25]Zhang H., & Chen G., 2009- Potent antibacterial activities of Ag/TiO₂ nanocomposite powders synthesized by a one-pot sol-gel method. Environ Sci Technol, 43(8): 2905-2910.
- [26]Holt K. B., & Bard A. J., 2005- Interaction of silver(I) ions with the respiratory chain of Escherichia coli: an electrochemical and scanning electrochemical microscopy study of the antimicrobial mechanism of micromolar Ag⁺. Biochemistry, 44(39):13214-13223.
- [27]Fang J., Lyon D. Y., Wiesner M. R., Dong J., & Alvarez, P. J., 2007- Effect of a fullerene water suspension on bacterial phospholipids and membrane phase behavior. Environ Sci Technol, 41(7): 2636-2642.
- [28]Gurr J. R., Wang A. S. S., Chen C. H., & Jan K. V., 2005-Ultrafine titanium dioxide nanoparticles induce cell death in human bronchial epithelial cells. Toxicology, 213 (1-2): 66-73.
- [29]Ayeshamariam A., Sankaracharyulu G. V., Kashif M., Hussain S., BououdinaM.,&Jayachandran M., 2015-Antibacterial Activity Studies of Ni and SnO₂ loaded Chitosan Beads. Mater. Sci. Forum, 832: 110-122.
- [30]Rehman S., Asiri S. M., Khan F. A., Jermy B. R., Khan H., Akhtar S.,&Qurashi A., 2019-Biocompatible Tin Oxide Nanoparticles: Synthesis, Antibacterial, Anticandidal and Cytotoxic Activities.ChemistrySelect, 4: 4013-4017.
- [31]Landini P., Antoniani D., Burgess J.G.,&Nijland R., 2010- Molecular mechanisms of compounds affecting bacterial biofilm formation and dispersal. Appl.Microbiol.Biotechnol 86: 813-823.
- [32]Al-Shabib N. A., Husain F. M., Ahmad N., Qais F. A., Khan A., Khan A.,& Ahmad I., 2018-Facile Synthesis of Tin Oxide Hollow Nanoflowers Interfering with QuorumSensing-Regulated functions and bacterial biofilms . J. Nanomater,2018 :1-11.
- [33]Khan F., Lee J. W., Pham D., Khan M. M., Park S. K., Shin I. S.,& Kim Y. M., 2020 – Antibiofilm Action of ZnO, SnO₂ and CeO₂ Nanoparticles.Recent Pat Nanotech,2020 : 1-10
- [34]Ahmed A., Khan A. K., Anwar A., Ali S. A.,& Shah M.R., 2016- Biofilm inhibitory effect of chlorhexidine conjugated gold nanoparticles against Klebsiella pneumoniae. MicrobPathog, 98: 50-56.