



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

Compuestos alternativos a los antibióticos frente a bacterias multirresistentes, situación actual

Alumno/a: Fernando Morillo Catena

Jaén, julio de 2023



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Facultad de Ciencias Experimentales

GRADO EN BIOLOGÍA

Trabajo Fin de Grado

Compuestos alternativos a los antibióticos frente a bacterias multirresistentes, situación actual

Fernando Morillo Catena

Una firma manuscrita en tinta azul, que parece ser "F. Morillo Catena", con una línea horizontal debajo.

Jaén, julio de 2023

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	1
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. Evolución histórica de los compuestos antimicrobianos	3
1.1.1. <i>Edad antigua</i>	3
1.1.2. <i>Siglo XIX</i>	5
1.1.3. <i>Siglo XX</i>	6
1.2. Definición y clasificación de los diferentes tipos de antibióticos	6
1.3. Bacterias multirresistentes a los antibióticos	9
1.3.1. <i>¿Qué es la resistencia a antibióticos?</i>	9
1.3.2. <i>Tipos de resistencia</i>	9
1.4. Alcance del problema	13
1.4.1. <i>Medicina clínica</i>	14
1.4.2. <i>Ganadería</i>	15
1.4.3. <i>Agricultura</i>	16
1.5. Estrategias de acción	17
1.6. Compuestos alternativos a los antibióticos	20
1.6.1. <i>Nanopartículas</i>	21
1.6.2. <i>Aceites esenciales</i>	21
2. OBJETIVOS	23
3. METODOLOGÍA	24
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
4.1. Nanopartículas	25
4.2. Aceites esenciales	29
5. CONCLUSIÓN	35
6. BIBLIOGRAFÍA	36

RESUMEN

El descubrimiento de los antibióticos por Fleming en el siglo XX y su empleo en medicina clínica, veterinaria y agricultura ha supuesto uno de los mayores avances médicos de la historia. Sin embargo, su uso inadecuado ha generado que determinadas bacterias patógenas ofrezcan resistencia frente a los diferentes agentes quimioterápicos, reduciendo así su efectividad y, por tanto, poniendo en riesgo la salud humana y animal. Ante el auge de las bacterias resistentes en las últimas décadas, los organismos nacionales e internacionales en materia de salud han desarrollado estrategias para frenar su avance. De igual forma, se están llevando a cabo numerosas investigaciones sobre compuestos alternativos a los antibióticos.

En esta revisión bibliográfica se analiza el potencial antimicrobiano que exhiben las nanopartículas y los aceites esenciales como alternativa a los antibióticos frente a bacterias multirresistentes, concluyendo que ambos tipos de compuestos son idóneos para tratar enfermedades infecciosas causadas por bacterias patógenas multirresistentes, evitando la generación de resistencias. Además, pueden combinarse con otros agentes antimicrobianos, aumentando así su actividad antibacteriana.

Sin embargo, en el caso de las nanopartículas, se deben realizar más estudios que determinen la concentración óptima y el tipo de nanomaterial adecuado para evitar problemas de inestabilidad, almacenamiento y toxicidad. El uso de ambos tipos de moléculas presenta un escenario de actuación prometedor frente a la propagación de bacterias multirresistentes.

Palabras clave: Bacterias multirresistentes, resistencia bacteriana, compuestos antimicrobianos, antibióticos, nanopartículas, aceites esenciales.

ABSTRACT

The discovery of antibiotics by Fleming in the 20th century and their use in clinical and veterinary medicine as well as in agriculture has been one of the greatest medical advances in modern history. However, their inappropriate use has led to certain pathogenic bacteria becoming resistant to different chemotherapeutic agents, reducing their effectiveness and, consequently, endangering human and animal health. Faced with the rise of resistant bacteria in recent decades, national and

international health organisations have developed strategies to stop their advance. Similarly, much research is being carried out on alternative compounds to antibiotics.

This literature review analyses the antimicrobial potential of nanoparticles and essential oils as an alternative to antibiotics against multidrug-resistant bacteria. Concluding that both types of compounds are suitable for treating infectious diseases caused by multidrug-resistant pathogenic bacteria, without generating resistance. Furthermore, they can be combined with other antimicrobials.

However, in the case of nanoparticles, further studies are needed to determine the optimal concentration and type of nanomaterial to avoid instability, storage and toxicity problems. The use of both types of molecules presents a promising scenario for action against the spread of multidrug-resistant bacteria.

Keywords: Multi-resistance bacteria, bacterial resistance, antimicrobial compounds, antibiotics, nanoparticles, essential oils.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Evolución histórica de los compuestos antimicrobianos

1.1.1. Edad antigua

A lo largo de la historia el ser humano se ha centrado en la búsqueda continua de posibles remedios para tratar sus males, desde encomendarse al poder de los dioses y la magia hasta el uso de minerales y plantas mediante el cual el hombre primitivo a través del método de ensayo y error encontraba tratamientos eficaces (Benítez & Pérez, 2019).

El uso de compuestos con actividad antimicrobiana se remonta a la prehistoria. En septiembre de 1991, en los Alpes (Europa Central), a 3600 m de altitud, una pareja de alpinistas encontró bajo un glaciar un cadáver momificado de aproximadamente 5300 años de antigüedad correspondiente al periodo de la edad de cobre, el cual conservaba todos sus atuendos, además de portar una pulsera de hongos con propiedades antibacterianas (Spindler *et al.*, 1996).

Hace aproximadamente 4000 años, en Mesopotamia (Oriente Próximo), durante la edad de bronce, los sumerios utilizaban múltiples compuestos antimicrobianos, tablillas de arcilla similares al jabón elaboradas a partir de aceites, sales, resinas y potasio, además de recetas recogidas en la farmacopea sumeria en la que se mezclaban vino, enebro y ciruelas (antisépticos y taninos) (Marcén Letosa, 2000).

Antiguas civilizaciones como la egipcia (3200 a. C) incorporaban en su farmacopea la elaboración de múltiples compuestos con propiedades antimicrobianas e inmunoestimulantes, como polvos de maquillaje (Kohl) y lociones ricas en compuestos naturales usadas para tratar enfermedades oculares y de la piel, elaboradas a partir de la mezcla de tierra negra procedente del río Nilo (contenían sulfuro de plomo, el cual estimula a los queratinocitos para producir una gran cantidad de óxido nítrico) y plantas como el azafrán, hinojo y neem (Tapsoba *et al.*, 2010) e incluso la aplicación de cierto tipo de hongo procedente de aguas estancadas sobre llagas y heridas (Soriano, 2003).

Además, diversos papiros antiguos egipcios como el de Smith (1600 a. C) y el de Ebers (1400 a. C) recogen numerosos métodos curativos, como el drenaje de pus, el lavado de heridas con agua caliente, miel, vino y cerveza (Broughton *et al.*, 2006), el uso de gasas con emplastos (mezcla de hierbas y grasa) (Majno, 1976) e instrucciones para la desecación y conservación de cadáveres (momificación) en las que se utilizaban sales como el natrón (bicarbonato y carbonato sódico) y resinas aromáticas como la mirra y el incienso en el embalsamamiento de clases altas y cebollas en los de clase baja (Hugo, 1995).

Del mismo modo en la cultura China, se utilizaban múltiples compuestos con actividad antibacteriana, como el queso de soja enmohecido para tratar infecciones e infusiones de té verde, obtenida a partir de la *Camellia sinensis*, utilizadas frecuentemente en la medicina tradicional para la prevención y tratamiento de diarreas causadas por infecciones de origen bacteriano, que también fueron utilizadas para las infecciones provocadas por *Vibrio cholerae* en las epidemias de cólera del siglo XIX. Esta costumbre pasó a los musulmanes, los cuales añadieron hierbabuena al té, aumentando así su acción antimicrobiana, y a los hindúes, que fermentaron el té verde consiguiendo té negro, potenciando aún más sus propiedades antibacterianas (Marcén Letosa, 2000).

Destacando la gran aportación hecha por los hindúes a la medicina, mediante el Ayurveda basado en 3 principios o doshas (pitta, vata y kapha), y, cuyos conocimientos se transmitieron a lo largo del tiempo por diversas regiones y países tales como Indonesia, Indochina, Japón, Arabia y Grecia (Hankey, 2001).

En la farmacopea Ayurveda se recogen múltiples tratamientos con propiedades antimicrobianas tanto para uso humano como veterinario, elaborados principalmente a partir de la combinación de plantas (poliherbolaria) como pastas, jugos, polvos, aceites esenciales, píldoras e infusiones (Gujarathi *et al.*, 2013). También se incluye el uso de alcohol (de Mora, 1990) y de apósitos con mantequilla fermentada y miel como profilácticos sobre llagas y heridas (Marcén Letosa, 2000).

Finalmente, la medicina helénica se nutrió del conocimiento de antiguas civilizaciones como la egipcia, sumeria e hindú.

Hipócrates, considerado el padre de la medicina contemporánea, recogió en su obra *Corpus Hippocraticum*, numerosas historias clínicas y aforismos (Rodríguez

Alfageme, 2007), además de hacer énfasis en el aseo personal, la desinfección de sumideros y calles con sahumerios de azufre y alquitrán (Moll, 1934), describió la utilización de diversos compuestos con actividad antimicrobiana, como el aceite de canela, emplastos de miel y tomillo, vino (alcohol y malvosida) y vinagre, que gracias a su acidez es eficaz frente a *Pseudomonas* (Marcén Letosa, 2000).

1.1.2. Siglo XIX

Con el paso del tiempo surgieron nuevos compuestos antimicrobianos e hipótesis sobre el origen de la vida, pero no fue hasta mediados del siglo XIX cuando el estudio sobre microorganismos y su relación para causar ciertas enfermedades permitió que la ciencia pudiera dar un salto cualitativo hacia la búsqueda de tratamientos efectivos de origen natural y de síntesis.

En la segunda mitad del siglo XIX, Louis Pasteur refutó experimentalmente la teoría de la generación espontánea, además de exponer la teoría germinal en la que afirmaba que los microorganismos eran los responsables de múltiples enfermedades y que su transmisión se producía tras el contacto con un enfermo o a través del aire, siendo esta teoría, esencial para el futuro desarrollo de la microbiología clínica y la medicina moderna (Madigan *et al.*, 2005).

Tras la trascendencia de esta teoría surgieron nuevos compuestos antimicrobianos de aplicación externa como el formol y el fenol (Marcén Letosa, 2000).

Esta teoría fue ratificada por Robert Koch en 1881, después de la realización de diversas investigaciones y experimentos sobre la tuberculosis. Por otra parte, incorporó un medio sólido a las placas con la finalidad de desarrollar un cultivo bacteriano y poder observar su crecimiento (Benítez & Pérez, 2019).

Posteriormente, diseñó una serie de criterios recogidos en los postulados de Koch los cuales establecían si el microorganismo en cuestión era responsable de la enfermedad (Segre, 2013).

Años más tarde Hans Christian Gram elaboró una técnica de tinción que permitiría la identificación bacteriana con mayor precisión (Benítez & Pérez, 2019).

1.1.3. Siglo XX

A principios del siglo XX Paul Ehrlich formuló la hipótesis de las balas mágicas (antibióticos) en la que describía la existencia de sustancias con capacidad de causar daño a ciertos patógenos sin perjudicar a las células del huésped. Tal es el caso de las sulfamidas, quinolonas y antipalúdicos de síntesis (Marcén Letosa, 2000).

Tiempo después, Alexander Fleming descubrió casualmente y tras la realización de un cultivo de moho el primer antibiótico, la penicilina, obtenida a partir de *Penicillium notatum*, la cual tenía un potente efecto bactericida. Este descubrimiento no tuvo la acogida que cabía esperar ante la sociedad científica a pesar de que su aplicación reducía sustancialmente las infecciones (Uriarte, 2000).

Paralelamente, René Dubos descubrió como las distintas cepas bacterianas contenidas en la tierra liberaban sustancias antibióticas (Uriarte, *op. cit.*).

Fue en la Segunda Guerra Mundial cuando Walter Florey junto a Chan recuperan las investigaciones de Fleming y Dubos, haciendo posible la fabricación de la penicilina y su distribución a gran escala en el continente americano, la cual se destinó al tratamiento de infecciones en heridos de guerra, pasando a ser distribuida en el continente europeo tras la finalización del conflicto (Uriarte, *op. cit.*).

Posteriormente, Walkman descubrió otro antibiótico, la estreptomicina, obtenida a partir de la fermentación *Streptomyces griseus* (Uriarte, *op. cit.*).

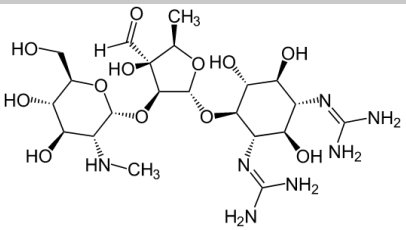
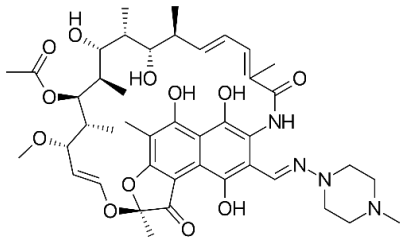
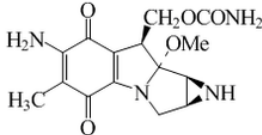
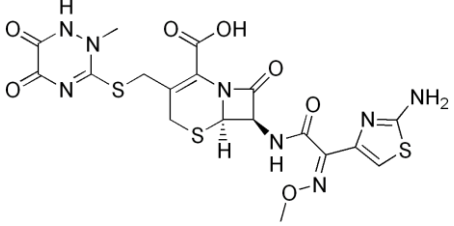
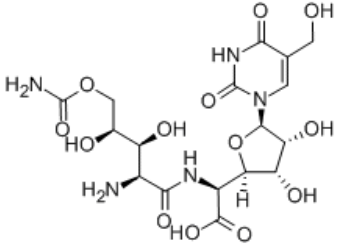
En la década de los 50 se introdujo la utilización de estos antibióticos en animales de granja, en vista a aumentar su crecimiento y evitar la aparición de infecciones (Uriarte, *op. cit.*).

Y sería a partir de los años 60 cuando comenzaría la distribución y utilización a gran escala de los diferentes compuestos antimicrobianos, desde los no destinados al uso clínico como los desinfectantes hasta los de utilización clínica como los antisépticos y antibióticos.

1.2. Definición y clasificación de los diferentes tipos de antibióticos

Los antibióticos son agentes químicos con actividad bacteriostática y bactericida, sintetizados por bacterias y hongos. Estos tienen la capacidad de interactuar con las diferentes estructuras diana, vitales para la bacteria. Por tanto,

pueden dañar e inhibir el crecimiento de los microorganismos sin afectar al huésped. Además, debido a su baja toxicidad pueden ser administrados y utilizados para el tratamiento de infecciones en la medicina clínica y veterinaria e incluso en la agricultura. Estos se clasifican conforme a su estructura (Tabla 1.1) y modo de acción (Figura 1.1) (Madigan *et al.*, 2005).

Clasificación	Subclasificación	Ejemplos	Estructura representativa
Compuestos que contienen carbohidratos	Azúcares puros	Nojirimicina	 Estreptomicina
	Aminoglicósidos	Estreptomicina	
	Ortosomicinas	Everninomicina	
	N-Glicósidos	Vancomicina	
	Glicolípidos	Moenomicina	
Lactosas macrocíclicas	Macrólidos	Eritromicina	 Rifampicina
	Poliénicos	Candidina	
	Ansamicinas	Rifampicina	
	Macrotetrólidos	Tetranactina	
Quinonas y compuestos relacionados	Tetraciclinas	Tetraciclina	 Mitomicina C
	Antraciclinas	Adriamicina	
	Naftoquinonas	Actinorrodina	
	Benzoquinonas	Mitomicina	
Aminoácidos y análogos peptídicos	Derivados aminoácidos	Cicloserina	 Ceftriaxona
	β -lactámicos	Penicilina,	
	Peptídicos	ceftriaxona	
	Depsipéptidos	Bacitracina	
	Péptidos formadores de quelado	Actinomicina	
Compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno		Valinomicina	 Polioxina B
	Nucleosídicos	Bleomicina	

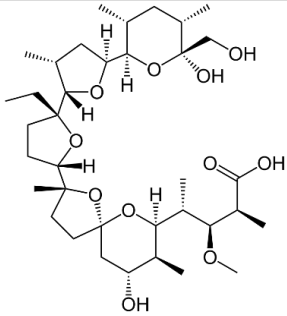
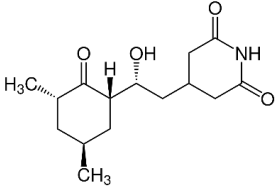
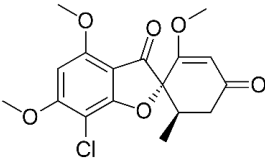
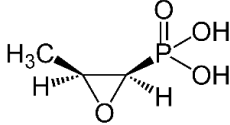
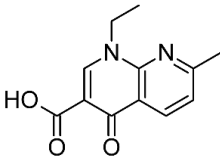
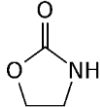
Compuestos heterocíclicos que contienen oxígeno	Poliéter	Monensina	 Monensina
Derivados alicíclicos	Derivados del cicloalcano Esteroides	Cicloheximida Ácido fusídico	 Cicloheximida
Compuestos aromáticos	Derivados del benceno Aromáticos condensados Éter aromáticos	Cloranfenicol Griseofulvina Novobiocina	 Griseofulvina
Compuestos alifáticos	Compuestos que contienen fósforo	Fosfomicina	 Fosfomicina
Compuestos quinolónicos	4-Qinolona Fluoro - 4 - quinolonas	Ácido nalidíxico Ciprofloxacino	 Ácido nalidíxico
Oxazolidinona	Lactona cíclica	2-Oxazolidinona	 2- Oxazolidinona

Tabla 1.1. Clasificación de los antibióticos en función de su estructura química. Se incluye un ejemplo de cada grupo (adaptado de Madigan *et al.*, 2005).

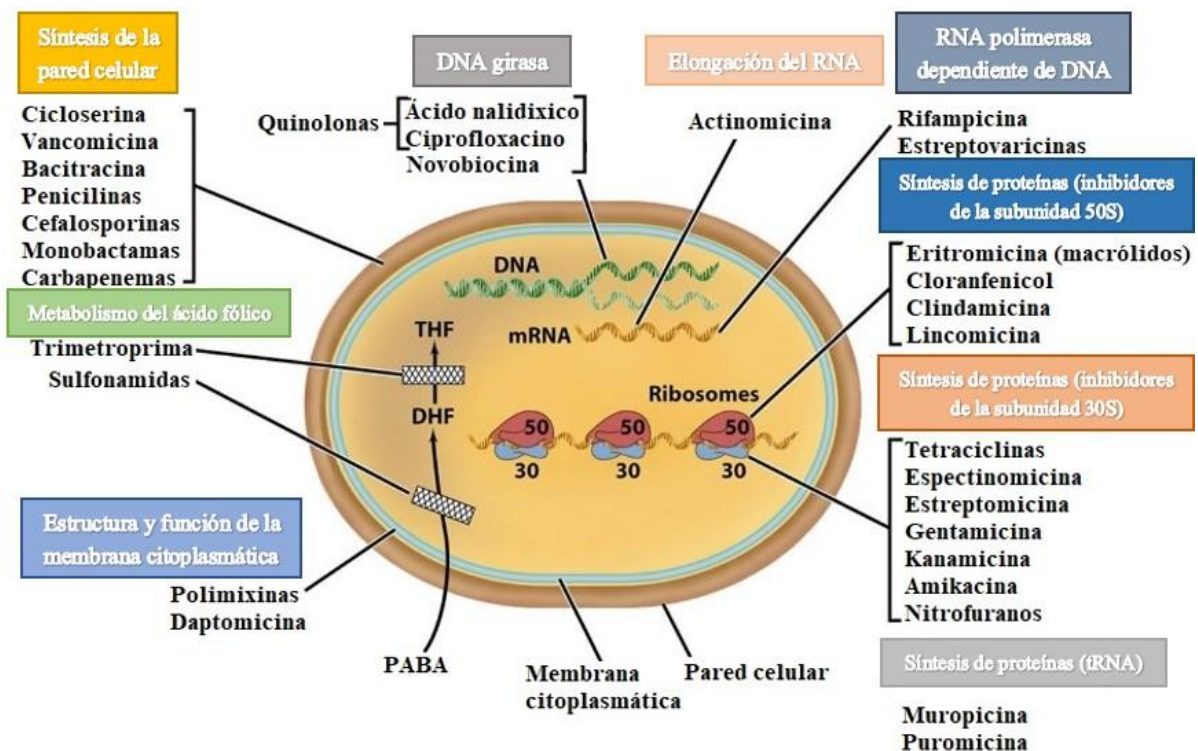


Figura 1.1. Clasificación de los principales antibióticos según el modo de acción (adaptado de Madigan *et al.*, 2005).

1.3. Bacterias multirresistentes a los antibióticos

1.3.1. ¿Qué es la resistencia a antibióticos?

La resistencia a antibióticos es la capacidad que adquieren determinadas cepas bacterianas para sobrevivir en un ambiente hostil y al que se es sensible normalmente, originada por los distintos agentes quimioterapéuticos, con actividad bactericida y bacteriostática. En consecuencia, se reduce la competencia por parte de otras cepas sensibles al antibiótico a favor de las cepas resistentes, las cuales se siguen multiplicando y dispersando en el ambiente (Madigan *et al.*, 2005).

1.3.2. Tipos de resistencia

Los tipos de resistencia bacteriana se agrupan principalmente en (Figura 1.2):

- Intrínseca (RI): De forma natural, las bacterias pueden codificar genes capaces de activar los distintos mecanismos de defensa y ofrecer resistencia frente a uno o varios tipos de antibióticos (Cox & Wright, 2013). Estos pueden ser:

- Mecanismos que sirven como barreras de permeabilidad, como en el caso de las bacterias Gram-negativas, impermeables a la penicilina G y de *E. coli*, resistente a la vancomicina, gracias a la presencia de una barrera que ofrece su membrana externa (Arthur & Courvalin, 1993).
- Enzimas que inhiben el efecto de los diferentes antibióticos, como las β -lactamasas, producidas por los estafilococos y que rompen el anillo β -lactámico de la mayoría de cefalosporinas y penicilinas (Madigan *et al.*, 2005).
- Bombas de expulsión como la AcrAB/TolC en *E. coli*, la cual presenta una alta especificidad, además de la capacidad de exportar diversos tipos de agentes quimioterapéuticos, detergentes, desinfectantes y colorantes (Nikaido & Takatsuka, 2009).
- Además, las bacterias pueden carecer de la estructura diana que inhibe el antibiótico, como la pared celular en micoplasmas, ofreciéndoles resistencia a la penicilina (Madigan *et al.*, 2005).
- Adquirida (RA): Considerada la forma de resistencia más habitual, puede lograrse por medio de mutaciones en los loci cromosómicos o por la adquisición horizontal de genes de resistencia (HGT) adquiridos a través de plásmidos, transposones e integrones (Wang *et al.*, 2020).

Un pequeño porcentaje de las cepas bacterianas aisladas clínicamente (del 2% aproximadamente) son afectadas por mutaciones. Este fenómeno puede aparecer de forma espontánea, con una frecuencia de entre 10^{-6} y 10^{-9} , dependiendo del tipo de cepa y de las características del ambiente (Davies & Davies, 2010).

Tras la exposición bacteriana al antibiótico, se produce la selección de cepas mutantes, capaces de resistir el efecto producido por los diferentes agentes quimioterápicos. Este tipo de resistencia es transmitida de forma vertical. Las mutaciones sufridas en la estructura diana, la adaptación global de la célula, las modificaciones de la molécula antibiótica o el descenso de la penetración y el eflujo, pueden afectar a la actividad del antibiótico y, por tanto, a su efectividad (Davies & Davies, *op.cit.*).

Algunos de estos ejemplos serían, bacterias resistentes al cloranfenicol como *S. aureus*, las cuales presentan mutaciones en el ARN ribosomal 23S, además de ofrecer resistencia cruzada frente al linezolid (North *et al.*, 2005) siendo también resistente al cloronfenicol, gracias a la presencia de enzimas acetiltransferasa (Woodford, 2005).

En algunas especies, la mutación es considerada como la causa principal de los problemas de resistencia clínica. Uno de los casos más relevantes es el de *M. tuberculosis* cuya resistencia a la isoniazida esta mediada por mutaciones en *atC*, *ahpC*, *furA*, *inhA* y *oxyR*, a la pirazinamida en *pncA*, a la rifampicina en *rpoB*, al etambutol en *embB*, a las fluroquinolonas en *gyrA* y *gyrB* y a la estreptomicina en *rpsL* y *rrs* (Gillespie, 2002).

La adquisición horizontal de genes de resistencia es la más común, con un porcentaje aproximado del 80% del total de los casos de RA demostrados en clínica. Este traspaso de genes entre bacterias permite una difusión extensa y acelerada de la información genética, llevada a cabo horizontalmente, independientemente de los mecanismos de reproducción. De modo que, una bacteria puede obtener resistencia a un agente quimioterápico sin haber estado en contacto con él. Este tipo de resistencia es el que más inquieta a la comunidad científica, debido a su impredecibilidad respecto a la resistencia intrínseca (Oromí Durich, 2000).

La HGT puede contribuir en gran medida a la propagación de la resistencia. Muchos mecanismos de HGT son capaces de liberar genes de herencia vertical. La transducción por bacteriófagos, la conjugación de plásmidos y la transformación natural por ADN extracelular dan lugar a que el material genético pueda transmitirse entre las distintas cepas y especies (Figura 1.3). Por consiguiente, la transferencia horizontal de genes adscribe una dimensión relevante a las enfermedades infecciosas, ya que un gen de resistencia a antibióticos podría ser el agente causante de un brote al traspasar la resistencia a patógenos no relacionados (O'Neill, 2014).

Los entornos clínicos son el lugar perfecto para que las bacterias adquieran y transmitan genes. La HGT permite que diversas especies de microbios puedan obtener nuevo material genético que se encuentre fuera de

su linaje clonal. Mediante la HGT, los microorganismos tienen la capacidad de muestrear y de compartir una gran colección genética, además de codificar características que les permiten sobrevivir en ambientes hostiles (Pilla *et al.*, 2017).

Por ejemplo, cuando las bacterias son expuestas a diferentes agentes quimioterápicos, la adquisición horizontal de genes de resistencia (ARG) permite que los genomas se diversifiquen y se lleven a cabo incrementos rápidos de aptitud. La HGT, de hecho, podría ser incluso más rápida en proporcionar los genes imprescindibles para la supervivencia en comparación que los proporcionados por las mutaciones espontáneas (Charpentier *et al.*, 2012).

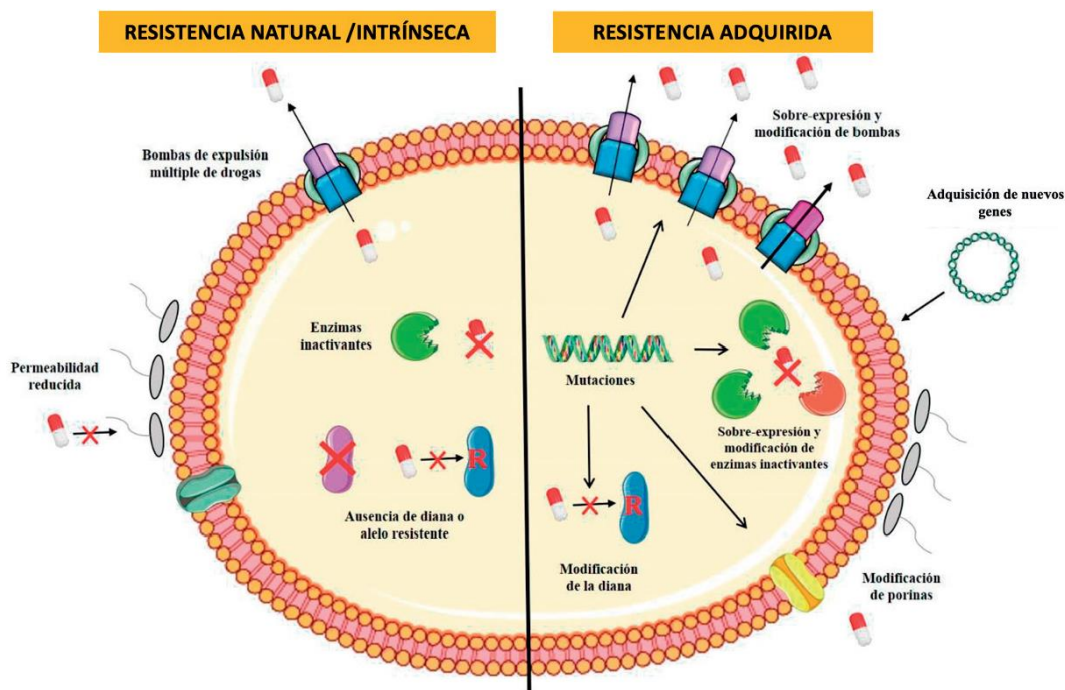


Figura 1.2. Mecanismos de resistencia intrínseca y adquirida en bacterias (Sanz García, 2020).

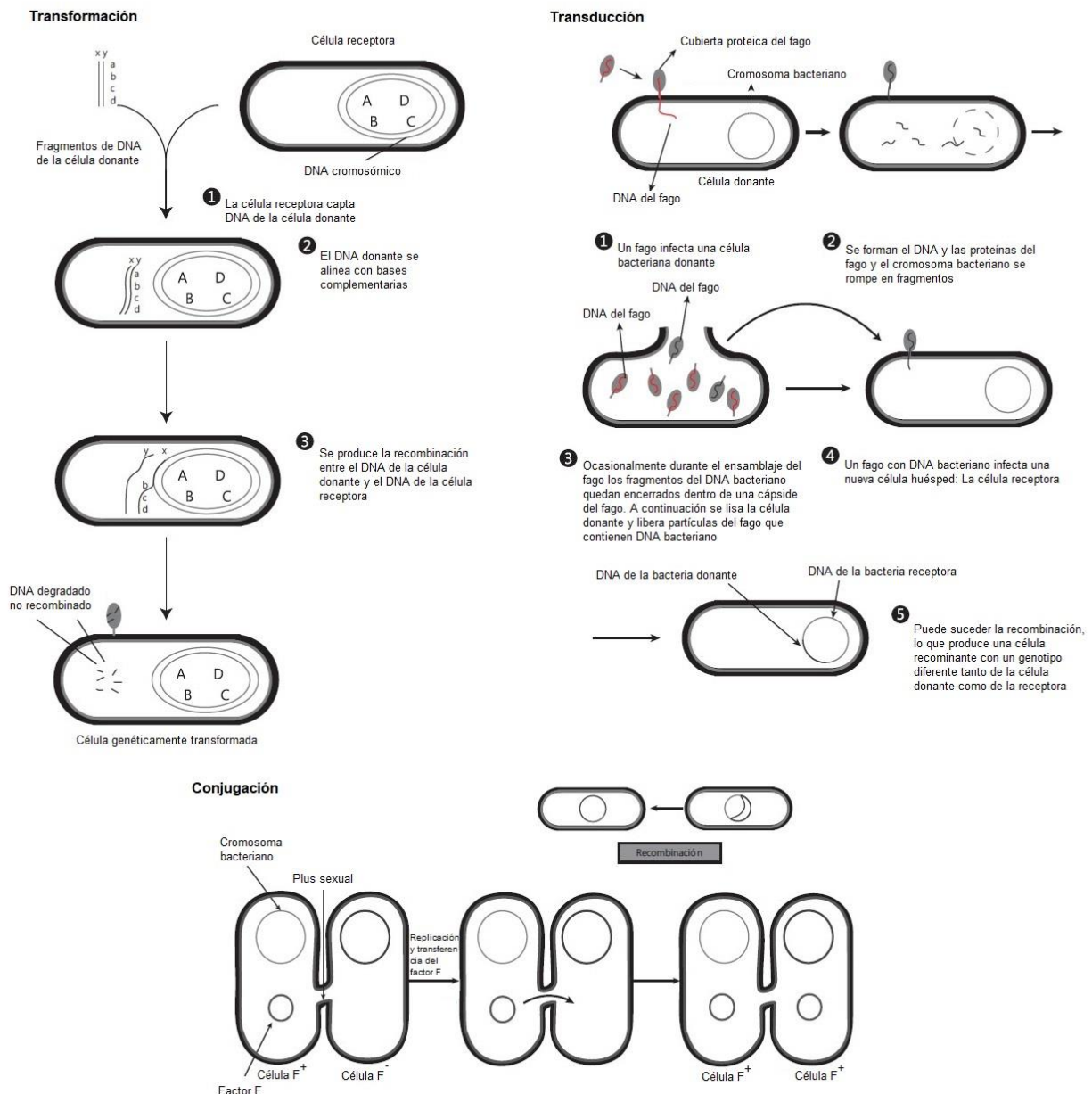


Figura 1.3. Tipos de transferencia horizontal. Transformación, transducción y conjugación (adaptado de Tortora *et al.*, 2007).

1.4. Alcance del problema

El descubrimiento de los antibióticos y su utilización en la medicina clínica, ganadería y agricultura ha supuesto uno de los mayores avances médicos de la historia desde su descubrimiento en el siglo XX (Wang *et al.*, 2020). Sin embargo, su abuso ha generado que determinadas cepas bacterianas ofrezcan resistencia frente a estos (Figura 1.4), reduciendo así su efectividad y, por tanto, poniendo en riesgo la salud humana y animal (Muñoz *et al.*, 2004).

Fue en la década de los 40 cuando Abraham y Chain publicaron los primeros estudios sobre resistencias bacterianas, en el que describían como *E. coli* era capaz de inactivar la penicilina gracias a la producción de enzimas (Uriarte, 2000) como las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) (García *et al.*, 2010).

Introducción de nuevas familias de antibióticos

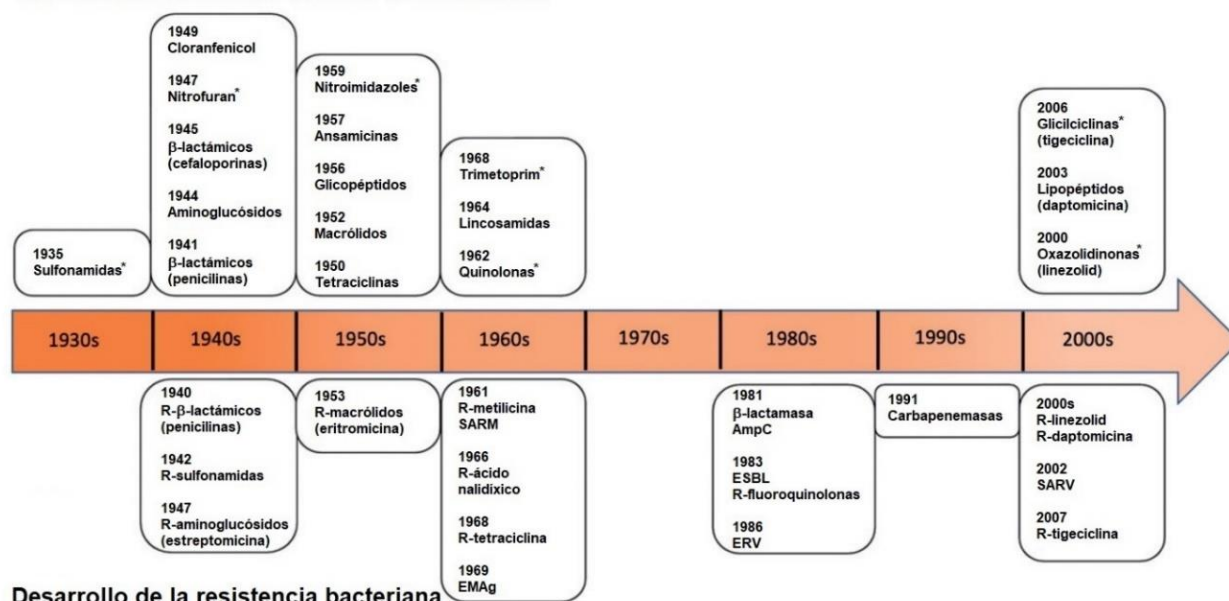


Figura 1.4. Evolución cronológica entre la aparición de nuevas familias de antibióticos y el desarrollo de la resistencia bacteriana. En este se indican los siguientes mecanismos de resistencia: BLEE (β -lactamasas de espectro extendido), EMAG (enzimas modificadas de aminoglucósidos), ERV (enterococos resistentes a la vancomicina), SARM (*S. aureus* resistente a la meticilina) y SARV (*S. aureus* resistente a vancomicina). Los agentes quimioterápicos de naturaleza sintética están marcados con * (Pérez, 2021).

1.4.1. Medicina clínica

El uso de los antibióticos en la medicina clínica ha supuesto un antes y un después en lo que respecta al tratamiento de infecciones. Estos tienen la capacidad de controlar y eliminar la infección, reduciendo así los índices de mortalidad (OMS, 2016).

Por el contrario, numerosos estudios afirman que el uso irracional e inadecuado de los agentes quimioterápicos es una de las principales causas del auge de las bacterias multirresistentes. Dichas bacterias pueden provocar que los antibióticos sean inútiles e ineficaces, conduciendo a la aparición de infecciones más graves, duraderas y costosas (OMS, *op.cit.*).

Así pues, también pueden causar alteraciones del microbioma y disbiosis de la microbiota intestinal, además de ciertas afecciones relacionadas como por ejemplo alergias, trastornos inmunitarios, desarrollo cerebral anormal y obesidad (Sola, 2020).

Los principales problemas asociados al consumo de antibióticos son los siguientes:

- Prescripción inadecuada. La elección de un agente quimioterápico incapaz de combatir la infección, una dosis incorrecta, un tiempo de tratamiento inadecuado e incluso la falta de seguimiento por parte del especialista (Spellberg *et al.*, 2013).
- Prescripción innecesaria. Algunos médicos se ven obligados a recetar antibióticos para tratar infecciones virales como la influenza, debido a la escasez de pruebas precisas y rápidas que les permita diferenciar una infección viral de una bacteriana. En algunos casos, determinados pacientes creen que el uso de antibióticos puede aliviar su sintomatología y obligan a los médicos su prescripción (Pignatari & Myake, 2016). Por otro lado, ciertos especialistas recetan agentes quimioterápicos para tratar infecciones bacterianas que pueden curarse solas, como las infecciones leves causadas en el tracto urinario (CDC, 2022a).
- Automedicación. En algunos países se pueden adquirir antibióticos sin receta médica en las farmacias (Pignatari & Myake, 2016). También se pueden obtener a través de farmacias que operan de forma ilegal en internet (Paget, J. *et al.*, 2017) o incluso se pueden utilizar antibióticos restantes de otras prescripciones (McNulty *et al.*, 2006). En definitiva, se incita a que las personas utilicen estos sin supervisión y por iniciativa propia para tratar “posibles infecciones”.

1.4.2. Ganadería

Desde que se introdujo el uso de antibióticos en animales de granja destinados al consumo en la década de los 50 (Uriarte, 2000), se ha conseguido un aumento de la natalidad, así como un rápido crecimiento y engorde del animal (Grande *et al.*, 2000).

Cabe destacar que la incorporación de animales de distintas procedencias, en espacios tan reducidos y estrechos, como el que se da en las grandes explotaciones ganaderas, ha favorecido la multiplicación y dispersión de los diferentes agentes infecciosos y parasitarios. Estos motivos han conducido al empleo de los distintos agentes quimioterápicos en piensos animales con fines preventivos y terapéuticos. También, suelen utilizarse como impulsores de crecimiento y peso, ya que favorecen el control de la microbiota, por lo que se lleva a cabo un mejor aprovechamiento y absorción de los nutrientes por parte del animal (Grande *et al.*, *op.cit.*).

A pesar de los beneficios que presentan la administración y utilización de antibióticos en la ganadería, numerosos estudios indican que el abuso de los diversos agentes quimioterápicos en animales es un factor clave en la aparición y propagación de bacterias resistentes (Van Boeckel *et al.*, 2015).

Por lo tanto, las bacterias multirresistentes pueden producir zoonosis tras el consumo de alimentos que sirven de vehículos para su transmisión, como la carne (*S. typhimurium* resistente a las fluoroquinolonas) (Hurd *et al.*, 2010), huevos, leche y sus derivados (pueden contener residuos de tetraciclina y por tanto, aparecer cepas resistentes) (Pérez-Rodríguez *et al.*, 2018). Además, pueden propagarse por contacto directo con animales infectados o ambientes contaminados (*S. aureus* resistente a la metilicina) (Angen *et al.*, 2017).

1.4.3. Agricultura

Tras la incorporación de los antibióticos en las prácticas agrícolas en la década de los 50, se ha conseguido mantener el control de múltiples enfermedades bacterianas que afectaban a las cosechas, evitando así su pérdida e incrementando la calidad y productividad (Bonn & Morand, 1980).

Antibióticos como la gentamicina, el ácido oxolínico y la oxitetraciclina han sido empleados en múltiples países para el tratamiento de enfermedades como el fuego bacteriano (*E. amylovora*) o la mancha bacteriana del melocotón (*X. arboricola*). Estos son activos durante una semana y normalmente no generan residuos (Stockwell & Duffy, 2012).

Sin embargo, el aporte continuo de fertilizantes como el estiércol o la utilización de aguas residuales en riegos está aumentando la concentración de antibióticos en

suelos agrícolas, ya que contienen una cantidad considerable de agentes quimioterápicos (Qiao *et al.*, 2018), especialmente de tetraciclinas (Pan & Chu, 2017), de modo que estos suelos se están convirtiendo en un gran reservorio de antimicrobianos (Kuppusamy *et al.*, 2018).

Cabe destacar que los cultivos que crecen en este tipo de suelos pueden absorber y acumular antibióticos en sus tejidos gracias al sistema radicular (Miller *et al.*, 2016). En consecuencia, disminuye el crecimiento y la productividad de estos (Zhao *et al.*, 2019). Así mismo, los agentes quimioterápicos presentes en las plantas pueden transferirse a los humanos y animales vía alimentaria e incrementar el número de bacterias multirresistentes y, por tanto, generar un problema de salud pública (Bondarczuk *et al.*, 2016).

1.5. Estrategias de acción

A pesar de que el uso de antibióticos ha supuesto uno de los avances médicos más relevantes del siglo XX, la resistencia bacteriana se ha intensificado en los últimos años, suponiendo una de las mayores amenazas para la salud mundial (OMS, 2020).

En los últimos 70 años, se han descubierto un número limitado e insuficiente de antibióticos teniendo en cuenta el ritmo con el que las bacterias adquieren nuevos mecanismos de resistencia. Por tanto, el uso indebido e inadecuado de estos y la ausencia de nuevos descubrimientos nos conducen inevitablemente a una era en la que las infecciones consideradas comunes podrían volverse incurables (Wang *et al.*, 2020).

En consecuencia, la resistencia bacteriana a antibióticos está ocasionando un rápido incremento en el número de infecciones por tuberculosis, neumonía, gonorrea y enfermedades de transmisión alimentaria, entre otras. Es por esto que la OMS ha establecido una lista de bacterias resistentes prioritarias para la investigación y desarrollo de nuevos fármacos antimicrobianos (Tabla 1.2) (OMS, 2020).

Prioridad 1: CRÍTICA
• <i>Acinetobacter baumannii</i>, resistente a los carbapenemas • Familia <i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Escherichia coli</i>, <i>Enterobacter spp.</i>, <i>Serratia spp.</i>, <i>Proteus spp.</i>, <i>Providencia spp.</i>, <i>Morganella spp.</i>), resistente a los carbapenemas y a las cefalosporinas de 3ª generación. • <i>Mycobacterium tuberculosis</i>, multirresistente • <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, resistente a carbapenemas
Prioridad 2: ALTA
• <i>Campylobacter spp.</i>, resistente a las fluoroquinolonas • <i>Enterococcus faecium</i>, resistente a la vancomicina • <i>Helicobacter pylori</i>, resistente a la claritromicina • <i>Neisseria gonorrhoeae</i>, resistente a las cefalosporinas de 3ª generación y fluoroquinolonas • <i>Salmonella spp.</i>, resistente a fluoroquinolonas • <i>Staphylococcus aureus</i>, resistente a la meticilina y a la vancomicina
Prioridad 3: MEDIA
• <i>Haemophilus influenzae</i>, resistente a la ampicilina • <i>Shigella spp.</i>, resistente a fluoroquinolonas • <i>Streptococcus pneumoniae</i>, resistente a la penicilina

Tabla 1.2. Lista de bacterias resistentes establecidas como prioritarias por la OMS (adaptado de OMS, 2017)

Las infecciones causadas por estas provocan alrededor de 700.000 muertes al año en todo el mundo. Se estima que para el año 2050 el número de muertes aumente hasta 10 millones si no se establecen las medidas oportunas (Figura 1.5), además de un costo asociado de 2,9 billones de dólares anuales (O'Neill, 2014).

Sólo en la Unión Europea se produce la muerte de aproximadamente 25.000 pacientes al año a consecuencia de estas infecciones, lo que supone un coste añadido de 1500 millones de euros al año y unas pérdidas de 2,9 billones de dólares anuales para el año 2050 (OMS, 2016).



Figura 1.5. Estimación de muertes anuales para el año 2050 provocadas por infecciones de origen bacteriano (AMR, 2020).

Actualmente, se están llevando a cabo diversas estrategias a nivel nacional e internacional para reducir el uso de los antibióticos e intentar frenar el avance de las bacterias resistentes.

En 2015, la OMS aprobó el Plan de Acción Mundial sobre la Resistencia a los Antimicrobianos estableciendo 5 objetivos prioritarios (OMS, 2016):

- Ofrecer una formación adecuada sobre el uso responsable de antibióticos.
- Aumentar la vigilancia sobre el uso excesivo de determinados fármacos.
- Reducir el número de infecciones mediante la aplicación de medidas de saneamiento e higiene efectivas.
- Limitar el uso de antibióticos en la medicina clínica y veterinaria.
- Aumentar el gasto en el desarrollo e investigación de nuevos compuestos antimicrobianos.

En 2003, la Comisión Europea estableció que desde el año 2006 quedaría prohibido la utilización de antibióticos como promotores de crecimiento y engorde en la producción animal (EUR-Lex, 2003). Posteriormente, en 2017 se establecieron las directrices para hacer frente al impacto originado por la resistencia bacteriana en las diferentes áreas (clínica, veterinaria y agricultura), las cuales están basadas en el Plan de Acción de 2011. Este plan tiene un enfoque *One Health* (salud humana, animal y vegetal) y sus objetivos principales son (UE, 2017):

- Fomentar el buen uso de los antibióticos en la UE y convertirse en una región modelo.
- Impulsar el desarrollo, investigación e innovación de nuevos antimicrobianos.
- Conformar una agenda internacional.

La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) está llevando a cabo desde 2014 un Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos (PRAN) para reducir la selección y propagación de las bacterias resistentes a los diferentes antibióticos. Con un enfoque *One Health* y unos objetivos similares a los establecidos por el Plan de Acción Mundial sobre la Resistencia a los Antimicrobianos de la OMS (AEMPS, 2014).

Así pues, se han establecido dos estrategias enmarcadas dentro del PRAN para optimizar el uso de antibióticos, PROA orientado a la clínica humana y REDUCE en el ámbito veterinario (AEMPS, 2017).

El Centro para el Control y la Prevención de enfermedades de EE. UU (CDC) está llevando a cabo desde 2020 un Plan de Acción Nacional con un enfoque *One Health* para hacer frente al auge de las bacterias resistentes a los antibióticos (CARB), basado en la Estrategia Nacional para la CARB de 2014 y en el Plan de Acción Nacional para la CARB de 2015. Este tiene una duración de 5 años e incluye los siguientes objetivos (CDC, 2020):

- Optimizar el empleo de antibióticos en la clínica humana, veterinaria y agricultura.
- Avalar el desarrollo e investigación de nuevos métodos de diagnóstico y tratamiento.
- Recolectar datos y elaborar informes actualizados sobre el número de infecciones causadas por bacterias resistentes a los antibióticos.
- Fomentar la coordinación internacional en materia de salud.

Además, la CDC está desarrollando campañas de concienciación sobre el uso adecuado de antibióticos como *Be Antibiotics Aware* (CDC, 2022), del lavado adecuado de manos *Clean Hands Count* (CDC, 2020) y del tratamiento y prevención de infecciones *Get Ahead of Sepsis* (CDC, 2022b).

Por otro lado, se están llevando a cabo numerosos estudios e investigaciones para el desarrollo de nuevos compuestos antimicrobianos como alternativa a los antibióticos. Debido a su potencial y eficacia destacan los tratamientos con nanopartículas, aceites esenciales, bacteriófagos (fagoterapia), probióticos, vacunas, anticuerpos y péptidos antimicrobianos.

1.6. Compuestos alternativos a los antibióticos

En esta revisión bibliográfica nos centraremos en los distintos estudios e investigaciones relacionadas con las nanopartículas y aceites esenciales como compuestos alternativos a los antibióticos.

1.6.1. Nanopartículas

Desde 2005, se han llevado a cabo multitud de estudios relacionados con las nanopartículas, en los que se ha podido comprobar su eficacia y potencial como posibles compuestos alternativos a los antibióticos (Kreuter, 2007). Estas se caracterizan por ser partículas minúsculas, de no más de 100 nm, con propiedades antibacterianas e inmunomoduladoras y elaboradas a partir de nanomateriales poliméricos, metálicos, basados en carbono o semiconductores. Especialmente, los metálicos como el oro, la plata, el óxido de titanio y el óxido de zinc muestran propiedades fisicoquímicas potenciales y significativas frente a los distintos tipos bacterianos. Además, sus características y mecanismos de acción están exentos de generar resistencia bacteriana (Zhou *et al.*, 2012). Por otro lado, las nanopartículas podrían emplearse como vehículo para suministrar diferentes agentes terapéuticos de forma directa a las células como por ejemplo, anticuerpos y medicamentos (Kreuter, 2007).

Las interacciones biofísicas que se producen entre las bacterias y las nanopartículas, incluida la agregación de partículas y la absorción celular pueden provocar daños en la membrana, resultando en la liberación de sustancias tóxicas y, por ende, causar la muerte de la célula. De la misma forma, estas pueden introducirse en las células e interactuar con el ADN causando la muerte celular (Zhou *et al.*, 2012).

1.6.2. Aceites esenciales

Los aceites esenciales han sido utilizados desde hace siglos en la medicina tradicional para el tratamiento de múltiples enfermedades e infecciones (Brenes & Roura, 2010). Actualmente se están desarrollando numerosas investigaciones en este campo debido al potencial que muestran como alternativa a los antibióticos (Li *et al.*, 2012).

Estos compuestos son de naturaleza aromática, aceitosos y volátiles, constituidos principalmente por terpenos (como el timol y el carvacrol) y fenilpropanos (como el eugenol y el cinamaldehído) (Lee *et al.*, 2004). Se caracterizan por sus propiedades bactericidas, microbicidas, antioxidantes y antiinflamatorias. Se obtienen a partir de los diferentes órganos y tejidos de las plantas. Además, sus características y mecanismos de acción están exentos de generar resistencia bacteriana. Por otro lado, los aceites esenciales tienen la capacidad de fortalecer el sistema inmune

(Brenes & Roura, 2010), aumentar la digestibilidad e incluso fomentar la salud intestinal (Chitprasert & Sutaphanit, 2014).

Los constituyentes de los aceites esenciales tienen la capacidad de destruir proteínas de membrana y provocar la coagulación del citoplasma, lo que conlleva a la liberación de componentes vitales para la célula al espacio extracelular, causando la muerte de este (Ultee *et al.*, 2002). En particular, el timol y el carvacrol poseen una estructura lipofílica que les permite incorporarse a las cadenas de ácidos grasos de la membrana, aumentando la fluidez y, por ende, la expansión de las mismas (Delaquis *et al.*, 2002). Además, son capaces de interferir en la generación de energía afectando a la fuerza protón motriz de la cadena de transporte de electrones (Nazzaro *et al.*, 2013).

2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo ha sido:

- Realizar una revisión bibliográfica exhaustiva y actualizada sobre el potencial antimicrobiano que exhiben las nanopartículas y los aceites esenciales como compuestos alternativos a los antibióticos y determinar su futura aplicación en la medicina clínica, veterinaria y agricultura.

Para alcanzar dicho objetivo se desarrollarán los siguientes objetivos específicos:

- Examinar la actividad antibacteriana que exhiben las nanopartículas y los aceites esenciales solos o en combinación con otros agentes antimicrobianos.
- Analizar los mecanismos de acción que ejercen las nanopartículas y los aceites esenciales frente a las bacterias multirresistentes.

3. METODOLOGÍA

En este trabajo se ha realizado una búsqueda bibliográfica exhaustiva sobre la utilización de las nanopartículas y los aceites esenciales como compuestos alternativos a los antibióticos, así como de sus mecanismos de acción.

La búsqueda de artículos relacionados con los temas expuestos se realizó principalmente en las bases de datos de PubMed, Science Direct, Web of Science, Scopus, Dialnet y Google Académico. Además, para la realización de este trabajo se utilizó el organizador de bibliografía Zotero.

Los criterios de búsqueda empleados incluyeron los términos, “bacterial resistance”, “alternative compounds to antibiotics”, “antimicrobial essential oils” y “antimicrobial nanoparticles”. Estos se combinaron con los operadores booleanos AND, OR y NOT para delimitar la búsqueda.

Por otro lado, los resultados se filtraron en función del idioma (español e inglés), el tipo de artículo (ensayos clínicos, revisiones, metaanálisis, libros y documentos) y del año de publicación (2000 – 2023), además se incluyó información de estudios anteriores al año 2000, ya que contenían información de interés para establecer el contexto histórico.

Tras revisar el resumen y conclusión de 194 estudios, se seleccionaron 107 que contenían información relevante sobre el tema. Posteriormente se hizo una lectura analítica de estos artículos, de los cuales 74 fueron necesarios para la elaboración de un estudio previo sobre los compuestos antimicrobianos y 33 para el desarrollo de los resultados (20 de ellos sobre las nanopartículas y 13 sobre aceites esenciales).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Nanopartículas

Las nanopartículas inorgánicas elaboradas a partir de nanocompuestos como el oro, plata, óxido de titanio y óxido de zinc muestran una gran actividad antibacteriana gracias a su modo de acción (Figura 4.1) (Zhou *et al.*, 2012). Por este motivo nos hemos centrado en los siguientes estudios (Tabla 4.1):

Nanopartículas de oro (AuNPs)	
Estudios	Resultados
Actividad antibacteriana de las nanopartículas de oro de 35 nm combinadas con estreptomicina de quitosano (Mu <i>et al.</i> , 2016).	Evitaron la formación de biofilms y dañaron la pared celular en un 95% de los casos en infecciones originadas por <i>L. monocytogenes</i> (ATCC), <i>S. aureus</i> (ATCC), <i>E. coli</i> (ATCC), <i>P. aeruginosa</i> (ATCC), <i>S. typhimurium</i> (ATCC).
Actividad antibacteriana de las nanopartículas de oro combinadas con amoxicilina (Kalita <i>et al.</i> , 2016).	La combinación de las nanopartículas de oro y la amoxicilina provocó la inhibición de la síntesis de la pared celular en 4 cepas de <i>S. aureus</i> resistente a la meticilina (AC). Además, las nanopartículas facilitaron la introducción de la amoxicilina en las cepas bacterianas.
Actividad antibacteriana de las nanopartículas de oro de 2 nm combinadas con amonio cuaternario (Xie <i>et al.</i> , 2018).	Eliminaron la infección epidérmica causada por bacterias Gram-positivas, 2 cepas de <i>S. aureus</i> resistente a la meticilina (AC) y 3 cepas de <i>E. faecalis</i> resistente a la vancomicina (AC).
Actividad antibacteriana de las nanopartículas de oro de 10 nm combinadas con amikacina y gentamicina (Rad <i>et al.</i> , 2018).	La combinación AuNP-amikacina mostró un 94,5% de eficacia antimicrobiana y de un 50% AuNP-gentamicina con respecto al uso exclusivo de gentamicina en pacientes con una infección causada por una cepa de <i>A. baumannii</i> (AC) tras sufrir quemaduras graves.
Actividad antibacteriana de las nanopartículas de oro combinadas con oligosacáridos de quitosano (Khan <i>et al.</i> , 2019).	Evitaron la formación de biopelículas, redujeron la hemólisis bacteriana y los diferentes factores causados por <i>P. aeruginosa</i> (ATCC).
Actividad antibacteriana de las nanopartículas de oro de 23 nm combinadas con flavonoides (Riaz <i>et al.</i> , 2020).	Disminuyó la infección producida en los tejidos de riñón e hígado de ratón originada por una cepa de <i>E. faecalis</i> (AC).

Actividad antibacteriana de las nanopartículas de oro de 25 nm combinadas con ampicilina (Chavan et al., 2020).	Produjeron daños en la membrana bacteriana, reduciendo en un 95% la resistencia a la ampicilina en una cepa de <i>E. coli</i> (AC).
Actividad antibacteriana de las nanopartículas de oro combinadas con compuestos bioactivos o extractos procedentes de plantas (Timoszyk & Grochowalska, 2022).	Sus propiedades antibacterianas aumentan o disminuyen dependiendo de la forma, tamaño y de la biomolécula que contiene, además, al usar compuestos procedentes de plantas no producen toxicidad.
Nanopartículas de plata (AgNPs)	
Propiedades antimicrobianas de las nanopartículas de plata en función de la forma y el tamaño (Pal et al., 2007).	Respecto a la forma, las nanopartículas de aspecto triangular presentaron mayor actividad antimicrobiana que las de forma esférica o nano-bastones frente a una cepa de <i>E. coli</i> (ATCC). Respecto al tamaño, cuanto más pequeña es la nanopartícula, mayor área superficial ocupa. Por tanto, presentaron una mayor interacción con las biomoléculas bacterianas.
Propiedades antimicrobianas de las nanopartículas de plata en función de la concentración (Lara et al., 2010).	Tras la utilización de nanopartículas de plata de un tamaño de 100 nm y el aumento progresivo de la concentración (6.25, 12.5, 25 y 50 nM) llegaron a la conclusión de que a mayor concentración se producía mayor muerte celular. Por tanto, se produjo la inhibición de un 92,8% en las cepas de <i>P. aeruginosa</i> resistente a diversos agentes quimioterápicos (AC), de un 95,7% de <i>E. coli</i> resistente a la ampicilina (AC) y de un 99,7% de <i>S. pyogenes</i> resistente a la eritromicina (AC).
Determinación de la concentración mínima inhibitoria bacteriana de las nanopartículas de plata (Panáček et al., 2018).	Tras la exposición reiterada de AgNP frente a <i>E. coli</i> (ATCC) y <i>P. aeruginosa</i> (ATCC) se estableció la concentración mínima inhibitoria en 432 mg/L.
Actividad antibacteriana de las nanopartículas de plata combinadas con cloranfenicol y kanamicina (Vazquez-Muñoz et al., 2019).	La combinación AgNP - cloranfenicol logró inhibir hasta un 50% del crecimiento de <i>E. coli</i> (ATCC), <i>S. aureus</i> (AC) y <i>S. typhimurium</i> (ATCC). De la misma forma, AgNP - kanamicina inhibió el crecimiento de estas un 95%.
Actividad antibacteriana de las nanopartículas de plata de 45 nm combinadas con <i>C. fruticosus</i> (Shirzadi-Ahodashi et al., 2021).	AgNP funcionalizada con <i>C. fruticosus</i> mostró mayor actividad antibacteriana frente a dos cepas de <i>A. baumannii</i> (una de ellas AC y la otra ATCC), dos de <i>E. faecalis</i> (una de ellas AC y la otra ATCC), y dos de <i>S. aureus</i> (una de ellas AC y la otra ATCC), con respecto al uso exclusivo del antibiótico ciprofloxacino. En cambio, ofreció la misma actividad que el ciprofloxacino frente a dos cepas de <i>E. coli</i> (una de ellas AC y la otra ATCC).

	No obstante, no produjo la sensibilidad suficiente frente a dos cepas de <i>K. pneumoniae</i> (una de ellas AC y la otra ATCC) y dos de <i>P. mirabilis</i> (una de ellas AC y la otra ATCC).
Nanopartículas de óxido de titanio (TiO₂NPs)	
Actividad antibacteriana de las nanopartículas de TiO₂ combinadas con nitrito de sodio (Huang et al., 2019).	Provocaron la inhibición de una cepa de <i>S. aureus</i> resistente a la meticilina (AC) y la muerte de una cepa de <i>E. coli</i> (AC) gracias a los mecanismos que producen ROS (nitración de tirosina y peroxinitrito).
Actividad antibacteriana de las nanopartículas compuestas por TiO₂ y ZnO (Menazea & Awwad, 2020).	La combinación TiO ₂ -ZnO demostró poseer mayor actividad antibacteriana frente a las cepas resistentes de <i>E. coli</i> (AC), <i>B. subtilis</i> (AC), <i>P. aeruginosa</i> (AC) y <i>S. aureus</i> (AC) que la mostrada por las nanopartículas compuestas exclusivamente por TiO ₂ o ZnO.
Propiedades antibacterianas de las nanopartículas de TiO₂ (Arbade et al., 2020).	Tras la exposición de las TiO ₂ NPs integradas en discos frente a las cepas de <i>E. coli</i> (gram -) (AC) y <i>B. subtilis</i> (gram +) (AC) y la posterior medición del halo de inhibición, se determinó que este tipo de nanopartículas presentan mayor actividad inhibitoria frente a las bacterias gram negativas en comparación con las gram positivas.
Interacción entre las nanopartículas de TiO₂ y los fosfolípidos de la membrana bacteriana (Malekkhaiat Häffner et al., 2021).	Se produjo una interacción entre las nanopartículas de TiO ₂ y los fosfolípidos de la membrana bacteriana debido a que, con el pH ácido, las nanopartículas adquieren carga positiva.
Nanopartículas de óxido de zinc (ZnONPs)	
Actividad antibacteriana de las nanopartículas de ZnO de 10 y 45 nm combinadas con ciprofloxacino (Banoee et al., 2010).	Con una concentración de 500 µg se produjo un aumento en la inhibición del crecimiento, de un 27% en cuatro cepas de <i>S. aureus</i> (AC) y de un 22% en tres cepas de <i>E. coli</i> (AC).
Propiedades antimicrobianas de las nanopartículas de ZnO en función del tamaño y la concentración (Zhong et al., 2018).	Las ZnONPs, con un tamaño de 30 nm y con una concentración de 125 µg/mL, mostraron una inhibición del 87% en una cepa de <i>E. coli</i> (ATCC) mientras que con un tamaño de 10 nm y una concentración de 62,5 µg/mL lograron una inhibición mayor, de un 97%.
Efecto de las nanopartículas de ZnO en las biopelículas bacterianas (Bhattacharyya et al., 2018).	Las concentraciones 3, 6 y 12 µg/mL de ZnONPs mostraron la capacidad de inhibir la formación de biopelículas en una cepa de <i>S. pneumoniae</i> (ATCC).

Tabla 4.1. Tema de estudio y resultados de los principales tipos de nanopartículas frente a las bacterias, incluidas las resistentes a los antibióticos. Cepa perteneciente a la colección americana (ATCC), aislada clínicamente (AC) (elaboración propia).

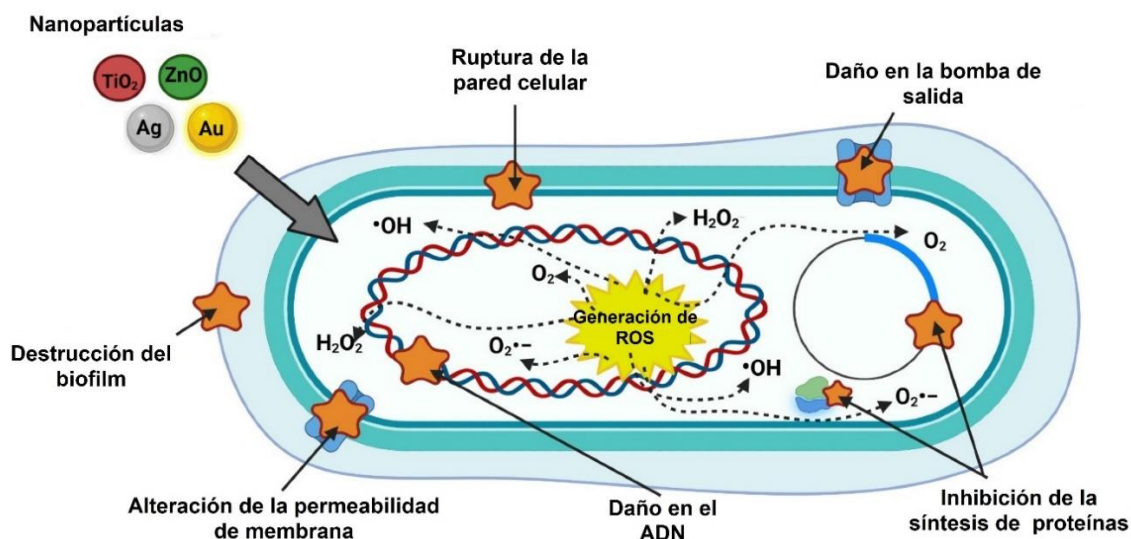


Figura 4.1. Mecanismos de acción antimicrobianos de las principales nanopartículas inorgánicas (Au, Ag, TiO_2 y ZnO) (Adaptado de Balderrama-González *et al.*, 2021).

Tras revisar y analizar los resultados sobre las nanopartículas como compuestos alternativos a los antibióticos (Tabla 4.1), podemos apreciar que las AuNPs, AgNPs, TiO_2 NPs y las ZnONPs muestran propiedades antimicrobianas significativas frente a las diferentes bacterias patógenas como *E. coli*, *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *B. subtilis* (Pal *et al.*, 2007; Panáček *et al.*, 2018; Arbade *et al.*, 2020), incluidas las cepas resistentes a los diferentes agentes quimioterápicos como *P. aeruginosa* multirresistente, *E. coli* resistente a la ampicilina, *S. pyogenes* resistente a la eritromicina, *B. subtilis* multirresistente y *S. aureus* resistente a la meticilina (Lara *et al.*, 2010; Menazea & Awwad, 2020).

Por otro lado, numerosos estudios afirman que las nanopartículas funcionalizadas con antibióticos como la estreptomicina, amoxicilina, amikacina, cloranfenicol, ciprofloxacino, kanamicina, gentamicina y otros compuestos antimicrobianos como los QACs (amonio cuaternario), oligosacáridos de quitosano, nitrito de sodio y flavonoides provocan un aumento de la actividad antibacteriana con respecto a su uso individual frente a *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *E. faecalis*, *S. pneumoniae*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae* y *P. mirabilis* (Banoee *et al.*, 2010; Mu *et al.*, 2016; Rad *et al.*, 2018; Khan *et al.*, 2019; Vazquez-Muñoz *et al.*, 2019; Riaz *et al.*, 2020; Shirzadi-Ahodashi *et al.*, 2021), incluidas las cepas resistentes de *S. aureus* resistente a la meticilina, *E. faecalis* resistente a la vancomicina y *E. coli*

resistente a la ampicilina (Kalita *et al.*, 2016; Xie *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2019; Chavan *et al.*, 2020).

Asimismo, estudios previos indican que las nanopartículas disponen de mecanismos de acción antibacterianos que provocan la ruptura de la pared celular, alteración de la permeabilidad de membrana, destrucción del biofilm, daños en el ADN, daño en la bomba de salida e inhibición de la síntesis de proteínas, además de la generación de ROS (Zhou *et al.*, 2012; Balderrama-González *et al.*, 2021).

Cabe destacar que, dependiendo del tipo, el tamaño, la concentración e incluso la forma de las nanopartículas, estas pueden influir de forma positiva o negativa en lo que respecta a la actividad antimicrobiana. Un buen ejemplo es el estudio llevado a cabo por Pal *et al.*, en 2007, el cual indica que cuanto más pequeñas son las AgNPs mayor es el área superficial que ocupa y, por tanto, se produce una interacción mayor con las biomoléculas bacterianas. Del mismo modo, afirmaron que las nanopartículas que poseen un aspecto triangular presentan mayor actividad antibacteriana que las de forma esférica y nano-bastones frente a una cepa de *E. coli* (ATCC).

Dependiendo de la nanopartícula en cuestión, puede necesitar mayor o menor concentración para producir efectos negativos sobre las diferentes cepas. Algunos ejemplos de estos estudios serían el de Lara *et al.*, en 2010, en el que mostraron que tras utilizar diferentes concentraciones (6.25, 12.5, 25 y 50 nM) de AgNPs frente a cepas aisladas clínicamente de *P. aeruginosa* y *E. coli*, se producía mayor inhibición en el crecimiento bacteriano y, por ende, mayor muerte celular cuando se exponían a una concentración de 50 nM. Otro estudio similar sería el de Zhong *et al.*, en 2018 en el cual emplearon concentraciones de 3, 6 y 12 µg/mL ZnONPs para inhibir la formación de biopelículas de una cepa de *S. pneumoniae* (ATCC), siendo la concentración de 12 µg/mL la más efectiva.

4.2. Aceites esenciales

Los aceites esenciales suelen estar constituidos por diversos tipos de terpenos (timol, carvacrol, 1,8-cineol, terpinen-4-ol, geraniol, alcanfor, α-pineno, camfeno, linalool, limoneno, mirceno, borneol) y fenilpropenos (eugenol, eugenilacetato y cinamaldehído) (Álvarez-Martínez *et al.*, 2021), los cuales aportan propiedades antimicrobianas significativas gracias a sus mecanismos de acción (Figura 4.2). A continuación, se muestran algunos de los estudios más relevantes sobre la actividad

antibacteriana que presentan los aceites esenciales frente a las bacterias resistentes a los antibióticos (Tabla 4.2):

Aceites esenciales	
Estudios	Resultados
Actividad antibacteriana del aceite esencial de artemisa (<i>A. cana</i>) (Lopes-Lutz et al., 2008).	Tiene la capacidad de inhibir las cepas resistentes de <i>E. coli</i> (AC), <i>S. aureus</i> (AC) y <i>S. epidermidis</i> (AC). Por otro lado, se determinó que los principales constituyentes químicos responsables de aportar dichas características antibacterianas a este aceite son, el 1,8-cineol, alcanfor, α -pineno y camfeno.
Actividad antibacteriana del aceite esencial del árbol de té (<i>M. alternifolia</i>) (Loughlin et al., 2008).	Con un MIC de 0,125 – 1% (v/v) y un MBC de 1 – 8% (v/v), el aceite esencial del árbol de té provocó daños en la estructura celular y alteraciones en la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos en treinta cepas de <i>S. aureus</i> resistente a la meticilina (AC). Además, concluyeron que este tipo de aceite sería útil para el tratamiento de infecciones provocadas en la piel. Por otro lado, se determinó que el principal constituyente químico responsable de aportar dichas características es el terpinen-4-ol.
Actividad antibacteriana del aceite esencial de tomillo (<i>T. vulgaris</i>) (Tohidpour et al., 2010).	Tras exponer el aceite esencial de tomillo frente a catorce cepas de <i>S. aureus</i> resistentes a la meticilina (AC) se demostró que, con un MIC de 18,5 μ g/mL de este aceite se producía la inhibición del crecimiento bacteriano. Por otro lado, se determinó que el principal constituyente químico responsable de aportar dichas características antibacterianas a este aceite es el timol.
Actividad antibacteriana del aceite esencial de helicriso (<i>H. italicum</i>) (Berti et al., 2014).	Tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de cepas bacterianas gram negativas resistentes como <i>A. baumannii</i> (AC), <i>E. aerogenes</i> (AC), <i>E. coli</i> (AC) y <i>P. aeruginosa</i> (AC). Por otro lado, se determinó que el principal constituyente químico responsable de aportar dichas características al aceite esencial de helicriso es el geraniol.
Actividad antibacteriana del aceite esencial de clavo (<i>S. aromaticum</i>) (Cui et al., 2018).	Con un MIC de 0,5 mg/mL y MBC de 1mg/mL, el aceite esencial de clavo mostró propiedades antibacterianas significativas frente a <i>L. monocytogenes</i> (ATCC). Por otro lado, se determinó que los principales constituyentes químicos responsables de aportar dichas características antibacterianas a este aceite son el eugenol y eugenilacetato.

Actividad antibacteriana del aceite esencial de tomillo (<i>T. vulgaris</i>) combinado con ciprofloxacina (Mohamed et al., 2018).	La combinación del aceite esencial de tomillo y la ciprofloxacina provocó la ruptura de la membrana celular y la pérdida de viabilidad de la biopelícula en un 80,1 – 98% de diez cepas de <i>K. pneumoniae</i> multirresistente (AC) con una concentración de 10 µl/mL, además de un aumento en la actividad antibiótica de la ciprofloxacina. Por otro lado, se determinó que el principal constituyente químico responsable de aportar dichas características antibacterianas a este aceite es el timol.
Actividad antibacteriana del aceite esencial de orégano (<i>O. vulgare</i>) (Owen et al., 2019).	Con un MIC de 290 µg/ml para la cepa de <i>E. coli</i> resistente al ciprofloxacino (AC), y un MIC de 580 µg/mL para las cepas de <i>S. aureus</i> resistente a la metilicina (AC) y <i>E. faecalis</i> resistente a la vancomicina (AC), el aceite esencial de orégano presentó propiedades antibacterianas significativas. Por otro lado, se determinó que el principal constituyente químico responsable de aportar dichas características es el carvacrol.
Actividad antibacteriana del aceite esencial de pimienta dioica (<i>P. dioica</i>) (Lorenzo-Leal et al., 2019).	Con un MIC de 500 µg/mL, el aceite esencial de pimienta dioica presentó propiedades antibacterianas frente a las cepas resistentes de <i>A. baumannii</i> (ATCC), <i>S. aureus</i> (ATCC) y <i>P. aeruginosa</i> (ATCC). Por otro lado, se determinó que el principal constituyente químico responsable de aportar dichas características antibacterianas a este aceite es el eugenol.
Actividad antibacteriana del aceite esencial de tomillo (<i>T. capitata</i>) (Qaralleh, 2019).	Con MIC de 0,041% (v/v) de aceite esencial de tomillo se produjo la reducción del 98,4 - 99,6% del biofilm bacteriano de dos cepas de <i>P. aeruginosa</i> (una de ellas AC y la otra ATCC). Por otro lado, se determinó que el principal constituyente químico responsable de aportar dichas características antibacterianas a este aceite es el timol.
Actividad antibacteriana del aceite esencial de romero (<i>R. officinalis</i>) (Esmael et al., 2020).	Con un MIC y MBC de 78 – 156 mg/L de aceite esencial de romero para las cepas de <i>S. aureus</i> (AC) y <i>S. epidermidis</i> (AC) y de 39 mg/L para <i>C. acnes</i> (AC). Se produjo la inhibición del crecimiento y la muerte de las cepas bacterianas resistentes de <i>S. aureus</i>, <i>S. epidermidis</i> y <i>C. acnes</i>. Por otro lado, se determinó que los principales constituyentes químicos responsables de aportar dichas características antibacterianas a este aceite son el acetato de bornilo, alcanfor, α-pineno, α-terpinoleno, benzoilacetato de linalool, borneol, canfeno, geraniol, linalool, limoneno y mirceno.

Actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (<i>C. zeylanicum</i>) (Foda et al., 2022).	Con un MIC de 4,88 – 312,5 µg/mL, el aceite esencial de canela mostró propiedades antibacterianas significativas frente a 5 cepas de <i>E. coli</i> (AC) y <i>P. mirabilis</i> (AC) resistentes a la colistina. Además, concluyeron que este aceite tiene la capacidad de reducir 20 – 35 veces el gen mcr-1 de las diferentes cepas resistentes a la colistina. Por otro lado, se determinó que el principal constituyente químico responsable de aportar dichas características a este aceite es el eugenol.
Actividad antibacteriana del aceite esencial de ravintsara (<i>C. camphora</i>) (Mujawah et al., 2022).	Con un MIC de 1,04 – 6,25% (v/v) y un MBC de 3,13 – 12,5% (v/v), el aceite esencial de ravintsara mostró propiedades antibacterianas significativas frente a dos cepas resistentes de <i>A. baumannii</i> (AC), una de <i>E. coli</i> (AC), dos de <i>K. pneumoniae</i> (AC), una de <i>P. aeruginosa</i> (AC) y dos de <i>S. aureus</i> (AC). Por otro lado, se determinó que el principal constituyente químico responsable de aportar dichas características a este aceite es el 1,8-cineol.
Actividad antibacteriana del aceite esencial de toronjil (<i>M. officinalis</i>) (Arbab et al., 2022).	Tras un aumento progresivo de la concentración, 10, 20 y 30 µl, el aceite esencial de toronjil mostró propiedades antibacterianas significativas frente a las cepas de <i>E. coli</i> (AC) y <i>S. aureus</i> (AC) resistentes. Por otro lado, se determinó que el principal constituyente químico responsable de aportar dichas características a este aceite es el eugenol.

Tabla 4.2. Tema de estudio y resultados de los diferentes tipos de aceites esenciales frente a las bacterias, incluidas las resistentes a los diferentes antibióticos. Concentración mínima inhibitoria (MIC), concentración mínima bactericida (MBC), cepa perteneciente a la colección americana (ATCC), aislada clínicamente (AC) (elaboración propia).

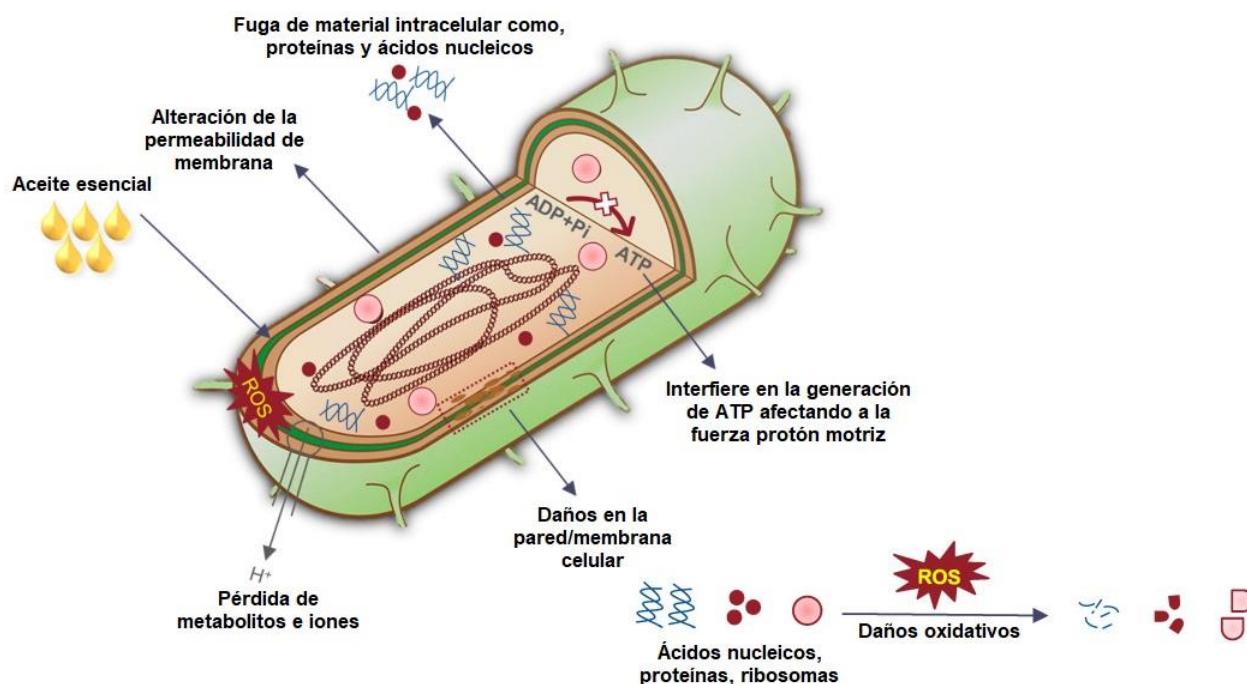


Figura 4.2. Mecanismos de acción antibacterianos de los aceites esenciales (Adaptado de Angane *et al.*, 2022).

Tras revisar y analizar los resultados sobre los aceites esenciales y de sus constituyentes químicos como compuestos alternativos a los antibióticos (Tabla 4.2), podemos apreciar que los aceites esenciales de artemisa, árbol de té, tomillo, helicriso, clavo, orégano, pimienta dioica, romero, canela, ravintsara y toronjil muestran propiedades antimicrobianas significativas frente a las diferentes bacterias patógenas como *L. monocytogenes* y *P. aeruginosa* (Cui *et al.*, 2018; Qaralleh, 2019), incluidas las cepas resistentes a los antibióticos como *E. coli* multirresistente, *S. aureus* resistente a la meticilina, *S. epidermidis*, *C. acnes*, *A. baumannii*, *E. aerogenes*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* resistente a la colistina y *E. faecalis* resistente a la vancomicina (Lopes-Lutz *et al.*, 2008; Loughlin *et al.*, 2008; Tohidpour *et al.*, 2010; Berti *et al.*, 2014; Owen *et al.*, 2019; Lorenzo-Leal *et al.*, 2019; Esmael *et al.*, 2020).

Por otro lado, estudios como el de Mohamed *et al.*, en 2018, afirman que el aceite esencial de tomillo combinado con el antibiótico ciprofloxacina provocó la ruptura de la membrana celular y la pérdida del biofilm en un 80,1 – 98% en diez cepas de *K. pneumoniae* multirresistente (AC). Además, aumentó la actividad antibiótica de la ciprofloxacina gracias al constituyente químico timol presente en este aceite, reduciendo así la resistencia a la ciprofloxacina de *K. pneumoniae*.

Asimismo, estudios previos indican que los aceites esenciales disponen de mecanismos antibacterianos que provocan la alteración de la permeabilidad de membrana, daños en la pared bacteriana y daños en la membrana celular, en consecuencia, pérdida de metabolitos e iones y fuga de material intracelular (proteínas y ácidos nucleicos). Además de producir ROS que afectan a los ácidos nucleicos, proteínas y ribosomas, interfiere en la generación de ATP afectando a la fuerza protón motriz (Angane *et al.*, 2022).

Cabe destacar que, dependiendo del aceite esencial en cuestión y del constituyente químico predominante, es necesario una concentración determinada para producir efectos negativos sobre las diferentes tipos bacterianos. Estudios como el de Arbab *et al.*, en 2022, demostraron que tras un aumento progresivo de la concentración (10, 20 y 30 μl) el aceite esencial de toronjil cuyo constituyente principal es el eugenol mostro propiedades antibacterianas significativas frente a las cepas resistentes de *E. coli* (AC) y *S. aureus* (AC). Otro estudio similar sería el de Owen *et al.*, en 2019, en el que se utilizaron diferentes concentraciones del aceite esencial de orégano cuyo componente principal es el carvacrol para establecer finalmente el MIC en 290 $\mu\text{g/mL}$ frente a *E. coli* resistente al ciprofloxacino (AC) y 580 $\mu\text{g/mL}$ para *S. aureus* resistente a la meticilina (AC) y *E. faecalis* resistente a la vancomicina (AC).

5. CONCLUSIÓN

Tras analizar y discutir los resultados de numerosos estudios podemos concluir que las nanopartículas y los aceites esenciales son una opción prometedora como alternativa a los antibióticos frente a las bacterias multirresistentes presentes en diferentes ambientes, entre los que destacan: medicina clínica, veterinaria y agricultura.

Se ha demostrado que las AuNPs, AgNPs, TiO₂NPs y ZnONPs tienen la capacidad de eliminar enfermedades infecciosas de difícil tratamiento causadas por bacterias patógenas, en muchos casos multirresistentes. Los mecanismos de acción antibacterianos que presentan las nanopartículas les permiten llegar a lugares de difícil acceso y destruir selectivamente a las bacterias. Además, pueden combinarse con otros agentes antimicrobianos como el cloranfenicol y la gentamicina, aumentando así su actividad antibacteriana. Asimismo, cabe destacar que estas nanoestructuras no generan resistencia bacteriana. Debido al tipo de estructura, tamaño, forma y a las múltiples propiedades físico-químicas que presentan.

Sin embargo, se deben de realizar más investigaciones en este ámbito para optimizar los distintos tratamientos y así determinar la concentración óptima y el tipo de nanomaterial adecuado para evitar problemas de inestabilidad, almacenamiento y toxicidad.

De igual forma existe un gran interés en la investigación de los aceites esenciales de artemisa, árbol de té, tomillo, helicriso, clavo, orégano, pimienta dioica, romero, canela, ravintsara y toronjil, ya que estos tienen la capacidad de eliminar infecciones producidas por bacterias patógenas, incluidas las cepas resistentes sin producir toxicidad ni generar resistencia. Los constituyentes químicos de estos aceites esenciales y sus mecanismos de acción son los responsables de aportar dichas características antibacterianas. Estos también pueden combinarse con otros compuestos antimicrobianos como la ciprofloxacina, incrementando así su actividad antibacteriana.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. *Acción de la UE en materia de resistencia a los antimicrobianos*. (2022, noviembre 17). https://health.ec.europa.eu/antimicrobial-resistance/eu-action-antimicrobial-resistance_es
2. Álvarez-Martínez, F. J., Barraji n-Catal n, E., Herranz-López, M., & Micol, V. (2021). Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. *Phytomedicine*, 90, 153626. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153626>
3. Angane, M., Swift, S., Huang, K., Butts, C. A., & Quek, S. Y. (2022). Essential Oils and Their Major Components: An Updated Review on Antimicrobial Activities, Mechanism of Action and Their Potential Application in the Food Industry. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(3), 464. <https://doi.org/10.3390/foods11030464>
4. Angen,  ., Feld, L., Larsen, J., Rostgaard, K., Skov, R., Madsen, A. M., & Larsen, A. R. (2017). Transmission of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* to Human Volunteers Visiting a Swine Farm. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(23), e01489-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.01489-17>
5. Arbab, S., Ullah, H., Bano, I., Li, K., Ul Hassan, I., Wang, W., Qadeer, A., & Zhang, J. (2022). Evaluation of in vitro antibacterial effect of essential oil and some herbal plant extract used against mastitis pathogens. *Veterinary Medicine and Science*, 8(6), 2655-2661. <https://doi.org/10.1002/vms3.959>
6. Arbade, G., Landage, K., Khanna, P., & Bhongale, C. (2020). *Biological approach to synthesize TiO2 nanoparticles using Staphylococcus aureus for antibacterial and antibiofilm applications*. <https://doi.org/10.15406/jmen.2020.08.00283>
7. Arthur, M., & Courvalin, P. (1993). Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 37(8), 1563-1571. Scopus. <https://doi.org/10.1128/AAC.37.8.1563>
8. Balderrama-González, A.-S., Pi  n-Castillo, H.-A., Ramírez-Valdespino, C.-A., Landeros-Martínez, L.-L., Orrant a-Borunda, E., & Esparza-Ponce, H.-E. (2021). Antimicrobial Resistance and Inorganic Nanoparticles. *International*

9. Banoe, M., Seif, S., Nazari, Z. E., Jafari-Fesharaki, P., Shahverdi, H. R., Moballegh, A., Moghaddam, K. M., & Shahverdi, A. R. (2010). ZnO nanoparticles enhanced antibacterial activity of ciprofloxacin against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 93B(2), 557-561. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31615>
10. Benítez, E. M. S., & Pérez, M. Q. L. (2019). Terapia antibacteriana: Origen y evolución en el tiempo. *Revista Médica Electrónica*, 41(5), 1300-1309.
11. Berti, L., Guinoiseau, E., Lorenzi, V., Luciani, A., Muselli, A., & Casanova, J. (2014). *Geraniol restores antibiotic activities against multidrug-resistant isolates from Enterobacter aerogenes*. 1, 34. <https://hal.science/hal-01148473>
12. Bhattacharyya, P., Agarwal, B., Goswami, M., Maiti, D., Baruah, S., & Tribedi, P. (2018). Zinc oxide nanoparticle inhibits the biofilm formation of *Streptococcus pneumoniae*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 111(1), 89-99. <https://doi.org/10.1007/s10482-017-0930-7>
13. Bondarczuk, K., Markowicz, A., & Piotrowska-Seget, Z. (2016). The urgent need for risk assessment on the antibiotic resistance spread via sewage sludge land application. *Environment International*, 87, 49-55. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.11.011>
14. Bonn, W. G., & Morand, J. B. (1980). Fire blight of pear: Control of shoot blight phase with streptomycin. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2(1), 39-41. <https://doi.org/10.1080/07060668009501461>
15. Brenes, A., & Roura, E. (2010). Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, 158(1-2), 1-14. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.03.007>
16. Broughton, G., Janis, J. E., & Attinger, C. E. (2006). A brief history of wound care. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 117(7 Suppl), 6S-11S. <https://doi.org/10.1097/01.prs.0000225429.76355.dd>

17. CDC. (2020, marzo 9). *Clean Hands Count*. Centers for Disease Control and Prevention. <https://go.usa.gov/xdyvK>
18. CDC. (2022a, julio 15). *The biggest antibiotic-resistant threats in the U.S.* Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html>
19. CDC. (2022b, agosto 25). *CDC's National Educational Effort is Raising Awareness About Sepsis*. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/sepsis/education/index.html>
20. Charpentier, X., Polard, P., & Claverys, J.-P. (2012). Induction of competence for genetic transformation by antibiotics: Convergent evolution of stress responses in distant bacterial species lacking SOS? *Current Opinion in Microbiology*, 15(5), 570-576. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2012.08.001>
21. Chavan, C., Kamble, S., Murthy, A. V. R., & Kale, S. N. (2020). Ampicillin-mediated functionalized gold nanoparticles against ampicillin-resistant bacteria: Strategy, preparation and interaction studies. *Nanotechnology*, 31(21), 215604. <https://doi.org/10.1088/1361-6528/ab72b4>
22. Chitprasert, P., & Sutaphanit, P. (2014). Holy basil (ocimum sanctum linn.) Essential oil delivery to swine gastrointestinal tract using gelatin microcapsules coated with aluminum carboxymethyl cellulose and beeswax. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(52), 12641-12648. Scopus. <https://doi.org/10.1021/jf5019438>
23. Cox, G., & Wright, G. D. (2013). Intrinsic antibiotic resistance: Mechanisms, origins, challenges and solutions. *International Journal of Medical Microbiology*, 303(6), 287-292. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.02.009>
24. Cui, H., Zhang, C., Li, C., & Lin, L. (2018). Antimicrobial mechanism of clove oil on *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 94, 140-146. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.07.007>
25. Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 74(3), 417-433. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>

26. de Mora, J. M. (1990). La Medicina en India Antigua. *Classica: Revista Brasileira de Estudos Clásicos*, 3(3), 91-105.
27. Delaquis, P. J., Stanich, K., Girard, B., & Mazza, G. (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 74(1), 101-109. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00734-6](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00734-6)
28. Esmael, A., Hassan, M. G., Amer, M. M., Abdelrahman, S., Hamed, A. M., Abd-raboh, H. A., & Foda, M. F. (2020). Antimicrobial activity of certain natural-based plant oils against the antibiotic-resistant acne bacteria. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(1), 448-455. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.11.006>
29. Foda, A. M., Kalaba, M. H., El-Sherbiny, G. M., Moghannem, S. A., & El-Fakharany, E. M. (2022). Antibacterial activity of essential oils for combating colistin-resistant bacteria. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 20(10), 1351-1364. <https://doi.org/10.1080/14787210.2022.2101997>
30. García, C. S., de la Gándara, M. P., & García, F. J. C. (2010). Betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias distintas de *Escherichia coli* y *Klebsiella*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28, 12-18. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(10\)70003-3](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(10)70003-3)
31. Gillespie, S. H. (2002). Evolution of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: Clinical and molecular perspective. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(2), 267-274. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.2.267-274.2002>
32. Gracia, P., & Teresa, M. (2021). *La pandemia silenciosa: Resistencia bacteriana a los antibióticos: [Inauguración Curso Académico 2021-2022]*. <https://repositorioinstitucional.ceu.es/handle/10637/13083>
33. Grande, B. C., Falcón, M. S. G., & Gándara, J. S. (2000). El Uso De Los Antibióticos En La Alimentación Animal: Perspectiva Actual the Use of Antibiotics in Animal Feeds: An Actual Perspective O Uso Dos Antibióticos Na Alimentación Animal: Perspectiva Actual. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 3(1), 39-47. <https://doi.org/10.1080/11358120009487647>

34. Gujarathi, R., Dwiwedi, L., & Gujarathi, J. (2013). A Critical Review of Gomutra Haritaki Preparation Methods. *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*, Vol 2, 30-31. <https://doi.org/10.7897/2277-4572.02210>
35. Hankey, A. (2001). Ayurvedic physiology and etiology: Ayurvedo Amritanaam. The doshas and their functioning in terms of contemporary biology and physical chemistry. *Journal of Alternative and Complementary Medicine (New York, N.Y.)*, 7(5), 567-574. <https://doi.org/10.1089/10755530152639792>
36. Huang, Y.-Y., Rajda, P. J., Szewczyk, G., Bhayana, B., Chiang, L. Y., Sarna, T., & Hamblin, M. R. (2019). Sodium nitrite potentiates antimicrobial photodynamic inactivation: Possible involvement of peroxynitrate. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 18(2), 505-515. <https://doi.org/10.1039/c8pp00452h>
37. Hugo, W. B. (1995). A brief history of heat, chemical and radiation preservation and disinfection. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 36(3), 197-217. [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(95\)00055-0](https://doi.org/10.1016/0964-8305(95)00055-0)
38. Hurd, H. S., Vaughn, M. B., Holtkamp, D., Dickson, J., & Warnick, L. (2010). Quantitative risk from fluoroquinolone-resistant Salmonella and Campylobacter due to treatment of dairy heifers with enrofloxacin for bovine respiratory disease. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(11), 1305-1322. <https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0550>
39. Kalita, S., Kandimalla, R., Sharma, K. K., Kataki, A. C., Deka, M., & Kotoky, J. (2016). Amoxicillin functionalized gold nanoparticles reverts MRSA resistance. *Materials Science and Engineering: C*, 61, 720-727. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.12.078>
40. Khan, F., Lee, J.-W., Manivasagan, P., Pham, D. T. N., Oh, J., & Kim, Y.-M. (2019). Synthesis and characterization of chitosan oligosaccharide-capped gold nanoparticles as an effective antibiofilm drug against the *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Microbial Pathogenesis*, 135, 103623. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103623>

41. Kreuter, J. (2007). Nanoparticles—A historical perspective. *International Journal of Pharmaceutics*, 331(1), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.10.021>
42. Kuppusamy, S., Kakarla, D., Venkateswarlu, K., Megharaj, M., Yoon, Y.-E., & Lee, Y. B. (2018). Veterinary antibiotics (VAs) contamination as a global agro-ecological issue: A critical view. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 257, 47-59. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.01.026>
43. Lara, H. H., Ayala-Núñez, N. V., Ixtepan Turrent, L. del C., & Rodríguez Padilla, C. (2010). Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(4), 615-621. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0211-3>
44. Lee, K.-W., Everts, H., & Beynen, A. C. (2004). Essential oils in broiler nutrition. *International Journal of Poultry Science*, 3(12), 738-752. Scopus. <https://doi.org/10.3923/ijps.2004.738.752>
45. Li, P., Piao, X., Ru, Y., Han, X., Xue, L., & Zhang, H. (2012). Effects of adding essential oil to the diet of weaned pigs on performance, nutrient utilization, immune response and intestinal health. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25(11), 1617-1626. Scopus. <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12292>
46. Lopes-Lutz, D., Alviano, D. S., Alviano, C. S., & Kolodziejczyk, P. P. (2008). Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*, 69(8), 1732-1738. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.02.014>
47. Lorenzo-Leal, A. C., Palou, E., López-Malo, A., & Bach, H. (2019). Antimicrobial, Cytotoxic, and Anti-Inflammatory Activities of *Pimenta dioica* and *Rosmarinus officinalis* Essential Oils. *BioMed Research International*, 2019. Scopus. <https://doi.org/10.1155/2019/1639726>
48. Loughlin, R., Gilmore, B. F., McCarron, P. A., & Tunney, M. M. (2008). Comparison of the cidal activity of tea tree oil and terpinen-4-ol against clinical bacterial skin isolates and human fibroblast cells. *Letters in Applied Microbiology*, 46(4), 428-433. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02334.x>

49. Madigan, M. T., Madigan, M., Martinko, J., Parker, J., & Martinko, J. M. (2005). *Brock Biology of Microorganisms (11th Edition) (Brock Biology of Microorganisms)* (11 edition). Prentice Hall.
50. Majno, G. (1976). The healing hand. Man and wound in the ancient world. *Medical History*, 20(4), 461.
51. Malekkhaiat Häffner, S., Parra-Ortiz, E., Skoda, M. W. A., Saerbeck, T., Browning, K. L., & Malmsten, M. (2021). Composition effects on photooxidative membrane destabilization by TiO₂ nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 584, 19-33. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.09.046>
52. Marcén Letosa, J. J. (2000). Antimicrobianos naturales. *Medicina naturista*, 2, 104-108.
53. McNulty, C. A. M., Boyle, P., Nichols, T., Clappison, D. P., & Davey, P. (2006). Antimicrobial Drugs in the Home, United Kingdom. *Emerging Infectious Diseases*, 12(10), 1523-1526. <https://doi.org/10.3201/eid1210.051471>
54. Menazea, A. A., & Awwad, N. S. (2020). Antibacterial activity of TiO₂ doped ZnO composite synthesized via laser ablation route for antimicrobial application. *Journal of Materials Research and Technology*, 9(4), 9434-9441. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.05.103>
55. Miller, E. L., Nason, S. L., Karthikeyan, K. G., & Pedersen, J. A. (2016). Root Uptake of Pharmaceuticals and Personal Care Product Ingredients. *Environmental Science and Technology*, 50(2), 525-541. Scopus. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01546>
56. Mohamed, S. H., Mohamed, M. S. M., Khalil, M. S., Azmy, M., & Mabrouk, M. I. (2018). Combination of essential oil and ciprofloxacin to inhibit/eradicate biofilms in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Applied Microbiology*, 125(1), 84-95. <https://doi.org/10.1111/jam.13755>
57. Moll, A. A. (1934). Los orígenes de la desinfección en particular en los buques. *Boletín de La Oficina Sanitaria Panamericana (OSP)*;13(12), Dic. 1934. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/18357>

58. Mu, H., Liu, Q., Niu, H., Sun, Y., & Duan, J. (2016). Gold nanoparticles make chitosan–streptomycin conjugates effective towards Gram-negative bacterial biofilm. *RSC Advances*, 6(11), 8714-8721. <https://doi.org/10.1039/C5RA22803D>
59. Mujawah, A. a. H., Abdallah, E. M., Alshoumar, S. A., Alfarraj, M. I., Alajel, S. M. I., Alharbi, A. L., Alsalman, S. A., & Alhumaydhi, F. A. (2022). GC-MS and in vitro antibacterial potential of Cinnamomum camphora essential oil against some clinical antibiotic-resistant bacterial isolates. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 26(15), 5372-5379. https://doi.org/10.26355/eurev_202208_29404
60. MUÑOZ, K., ARANGO, G. J., & JARAMILLO, M. C. (2004). Los antibióticos y su situación actual. *Vitae*, 11(1).
61. *National Action Plan for Combating Antibiotic-Resistant Bacteria, 2020-2025*. (s. f.). ASPE. Recuperado 11 de marzo de 2023, de <https://aspe.hhs.gov/reports/national-action-plan-combating-antibiotic-resistant-bacteria-2020-2025>
62. Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/ph6121451>
63. Nikaido, H., & Takatsuka, Y. (2009). Mechanisms of RND multidrug efflux pumps. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1794(5), 769-781. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2008.10.004>
64. North, S. E., Ellington, M. J., Johnson, A. P., Livermore, D. M., & Woodford, N. (2005). Chloramphenicol-selected mutants of *Staphylococcus aureus* may show cross-resistance to linezolid (abstract C1-1417). *Program and abstracts of the 45th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 81.
65. O'Neill, J. (2014). Review on antimicrobial resistance. *Antimicrobial resistance: tackling a crisis for the health and wealth of nations*, 2014(4).

66. Organización Mundial de la Salud. (2016). *Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos*. Organización Mundial de la Salud. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/255204>
67. Oromí Durich, J. (2000). Resistencia bacteriana a los antibióticos. *Medicina Integral*, 36(10), 367-370.
68. Owen, L., White, A. W., & Laird, K. (2019). Characterisation and screening of antimicrobial essential oil components against clinically important antibiotic-resistant bacteria using thin layer chromatography-direct bioautography hyphenated with GC-MS, LC-MS and NMR. *Phytochemical Analysis*, 30(2), 121-131. <https://doi.org/10.1002/pca.2797>
69. Paget, J., Lescure, D., Versporten, A., Goossens, H., Schellevis, F., & Dijk, L. van. (2017). *Antimicrobial resistance and causes of non-prudent use, of antibiotics in human medicine in the EU*. European Union. <https://www.nivel.nl/nl/publicaties/1003036>
70. Pal, S., Tak, Y. K., & Song, J. M. (2007). Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(6), 1712-1720. <https://doi.org/10.1128/AEM.02218-06>
71. Pan, M., & Chu, L. M. (2017). Fate of antibiotics in soil and their uptake by edible crops. *Science of the Total Environment*, 599-600, 500-512. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.214>
72. Panáček, A., Kvítek, L., Smékalová, M., Večeřová, R., Kolář, M., Röderová, M., Dyčka, F., Šebela, M., Prucek, R., Tomanec, O., & Zbořil, R. (2018). Bacterial resistance to silver nanoparticles and how to overcome it. *Nature Nanotechnology*, 13(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41565-017-0013-y>
73. *Patógenos multirresistentes que son prioritarios para la OMS - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud*. (s. f.). Recuperado 6 de marzo de 2023, de <https://www.paho.org/es/noticias/4-3-2021-patogenos-multirresistentes-que-son-prioritarios-para-oms>
74. Pérez-Rodríguez, M., Pellerano, R. G., Pezza, L., & Pezza, H. R. (2018). An overview of the main foodstuff sample preparation technologies for tetracycline

residue determination. *Talanta*, 182, 1-21.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.01.058>

75. Pignatari, A. C. C., & Myake, M. M. (2016). The inappropriate use of antibiotics in upper respiratory tract infections: It is time for action. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 82(2), 121-122.
<https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2015.12.003>
76. Pilla, G., McVicker, G., & Tang, C. M. (2017). Genetic plasticity of the Shigella virulence plasmid is mediated by intra- and inter-molecular events between insertion sequences. *PLoS Genetics*, 13(9), e1007014.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007014>
77. Progress Report. (s. f.). *AMR Industry Alliance*. Recuperado 7 de marzo de 2023, de <https://www.amrindustryalliance.org/progress-report/>
78. Qaralleh, H. (2019). Thymol Rich Thymbra capitata Essential Oil Inhibits Quorum Sensing, Virulence and Biofilm Formation of Beta Lactamase Producing Pseudomonas aeruginosa. *Natural Product Sciences*, 25(2), 172-180. <https://doi.org/10.20307/nps.2019.25.2.172>
79. Qiao, M., Ying, G.-G., Singer, A. C., & Zhu, Y.-G. (2018). Review of antibiotic resistance in China and its environment. *Environment International*, 110, 160-172. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.10.016>
80. Rad, M. R., Kazemian, H., Yazdani, F., Monfared, M. R. Z., Rahdar, H., Javadi, A., & Kodori, M. (2018). *Antibacterial Activity of Gold Nanoparticles Conjugated by Aminoglycosides Against A. baumannii Isolates from Burn Patients* [Text]. Bentham Science Publishers.
<https://doi.org/10.2174/1574891X13666180828115543>
81. Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition (Text with EEA relevance), 268 OJ L (2003). <http://data.europa.eu/eli/reg/2003/1831/oj/eng>
82. Riaz, S., Fatima Rana, N., Hussain, I., Tanweer, T., Nawaz, A., Menaa, F., Janjua, H. A., Alam, T., Batool, A., Naeem, A., Hameed, M., & Ali, S. M. (2020). Effect of Flavonoid-Coated Gold Nanoparticles on Bacterial Colonization in Mice

Organs. *Nanomaterials* (Basel, Switzerland), 10(9), 1769.
<https://doi.org/10.3390/nano10091769>

83. Rodríguez Alfageme, I. (2007). Inicios y finales de los tratados del «Corpus Hippocraticum». *Cuadernos de filología clásica: Estudios griegos e indoeuropeos*, 17, 183-202.
84. Sanz García, F. (2020). *Predicción de la resistencia a antibióticos, intrínseca y adquirida, en Pseudomonas aeruginosa* [Doctoral Thesis].
<https://repositorio.uam.es/handle/10486/693859>
85. Segre, J. A. (2013). What does it take to satisfy Koch's postulates two centuries later? Microbial genomics and *Propionibacteria* acnes. *The Journal of investigative dermatology*, 133(9), 2141-2142.
<https://doi.org/10.1038/jid.2013.260>
86. Shirzadi-Ahodashi, M., Mizwari, Z. M., Hashemi, Z., Rajabalipour, S., Ghoreishi, S. M., Mortazavi-Derazkola, S., & Ebrahimzadeh, M. A. (2021). Discovery of high antibacterial and catalytic activities of biosynthesized silver nanoparticles using *C. fruticosus* (CF-AgNPs) against multi-drug resistant clinical strains and hazardous pollutants. *Environmental Technology & Innovation*, 23, 101607. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101607>
87. Sola, A. (2020). Abuse of Antibiotics in Perinatology: Negative Impact for Health and the Economy. *NeoReviews*, 21(8), e559-e570.
<https://doi.org/10.1542/neo.21-8-e559>
88. Soriano, G. C. (2003). *La medicina en el antiguo Egipto*.
89. Spellberg, B., Bartlett, J. G., & Gilbert, D. N. (2013). The future of antibiotics and resistance. *The New England Journal of Medicine*, 368(4), 299-302.
<https://doi.org/10.1056/NEJMp1215093>
90. Spindler, K., Wilfing, H., Rastbichler Zissernig, E., ZurNedden, D., Nothdurfter, H., & International Mummy Symposium. (1996). *Human Mummies A Global Survey of their Status and the Techniques of Conservation* (1st ed. 1996.). Springer Vienna. <https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6565-2>

91. Stockwell, V. O., & Duffy, B. (2012). Use of antibiotics in plant agriculture. *Revue Scientifique Et Technique (International Office of Epizootics)*, 31(1), 199-210. <https://doi.org/10.20506/rst.31.1.2104>
92. Tapsoba, I., Arbault, S., Walter, P., & Amatore, C. (2010). Finding Out Egyptian Gods' Secret Using Analytical Chemistry: Biomedical Properties of Egyptian Black Makeup Revealed by Amperometry at Single Cells. *Analytical Chemistry*, 82(2), 457-460. <https://doi.org/10.1021/ac902348g>
93. Timoszyk, A., & Grochowalska, R. (2022). Mechanism and Antibacterial Activity of Gold Nanoparticles (AuNPs) Functionalized with Natural Compounds from Plants. *Pharmaceutics*, 14(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14122599>
94. Tohidpour, A., Sattari, M., Omidbaigi, R., Yadegar, A., & Nazemi, J. (2010). Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine*, 17(2), 142-145. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.05.007>
95. Tome Conciencia sobre los Antibióticos: Buen Uso, Mejor Tratamiento | Patient Safety | CDC. (2022, enero 10). <https://www.cdc.gov/patientsafety/spanish/features/antibioticos.html>
96. Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). *Introducción a la microbiología*. Ed. Médica Panamericana.
97. Ultee, A., Bennik, M., & Moezelaar, R. (2002). The Phenolic Hydroxyl Group of Carvacrol Is Essential for Action against the Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(4), 1561-1568. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.4.1561-1568.2002>
98. Uriarte, X. (2000). Una revisión crítica de la era de los antibióticos: Aspectos históricos y epidemiológicos de la antibioterapia. *Natura Medicatrix: Revista médica para el estudio y difusión de las medicinas alternativas*, 58 (Mayo), 12-16.
99. Van Boeckel, T. P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Robinson, T. P., Teillant, A., & Laxminarayan, R. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of*

Sciences of the United States of America, 112(18), 5649-5654.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>

100. Vazquez-Muñoz, R., Meza-Villezcás, A., Fournier, P. G. J., Soria-Castro, E., Juárez-Moreno, K., Gallego-Hernández, A. L., Bogdanchikova, N., Vazquez-Duhalt, R., & Huerta-Saquero, A. (2019). Enhancement of antibiotics antimicrobial activity due to the silver nanoparticles impact on the cell membrane. *PLOS ONE*, 14(11), e0224904.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224904>
101. Wang, C.-H., Hsieh, Y.-H., Powers, Z. M., & Kao, C.-Y. (2020). Defeating Antibiotic-Resistant Bacteria: Exploring Alternative Therapies for a Post-Antibiotic Era. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3), Article 3.
<https://doi.org/10.3390/ijms21031061>
102. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. (s. f.). Recuperado 7 de marzo de 2023, de <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
103. Woodford, N. (2005). Biological counterstrike: Antibiotic resistance mechanisms of Gram-positive cocci. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 11 Suppl 3, 2-21. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01140.x>
104. Xie, Y., Liu, Y., Yang, J., Liu, Y., Hu, F., Zhu, K., & Jiang, X. (2018). Gold Nanoclusters for Targeting Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* In Vivo. *Angewandte Chemie International Edition*, 57(15), 3958-3962.
<https://doi.org/10.1002/anie.201712878>
105. Zhao, F., Yang, L., Chen, L., Li, S., & Sun, L. (2019). Bioaccumulation of antibiotics in crops under long-term manure application: Occurrence, biomass response and human exposure. *Chemosphere*, 219, 882-895.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.076>
106. Zhong, Q., Tian, J., Liu, T., Guo, Z., Ding, S., & Li, H. (2018). Preparation and antibacterial properties of carboxymethyl chitosan/ZnO nanocomposite

microspheres with enhanced biocompatibility. *Materials Letters*, 212, 58-61.
<https://doi.org/10.1016/j.matlet.2017.10.062>

107. Zhou, Y., Kong, Y., Kundu, S., Cirillo, J. D., & Liang, H. (2012). Antibacterial activities of gold and silver nanoparticles against *Escherichia coli* and bacillus Calmette-Guérin. *Journal of Nanobiotechnology*, 10, 19.
<https://doi.org/10.1186/1477-3155-10-19>