

Resistencia a desinfectantes y su relación con la resistencia a los antibióticos

(Resistance to disinfectants and their relationship with antibiotic resistance)

Luz Chacón-Jiménez,¹ Keilor Rojas-Jiménez²

Resumen

Objetivo: sistematizar los principales mecanismos de acción de los desinfectantes y describir mecanismos de resistencia comunes entre biocidas y antibióticos.

Métodos: se realizó una revisión bibliográfica de artículos científicos entre 2000 y julio de 2019, sobre la relación entre la resistencia a biocidas y a los antibióticos, utilizando como palabras clave “antibiotic”, “biocide”, “resistance” y “bacteria”, en las bases de datos PubMed y Google Scholar.

Conclusiones: existe numerosa evidencia científica que indica la relación entre bacterias resistentes a los desinfectantes y la adquisición de resistencia a los antibióticos, lo que implica un replanteamiento del uso de esas sustancias en diferentes contextos clínicos, con el fin de minimizar el impacto que puedan tener en la selección de microorganismos multirresistentes a los antibióticos.

Descriptor: bacterias, desinfectantes, resistencia, antibióticos.

Abstract

Aim: to summarize the main mechanisms of action of disinfectants and to describe some common resistance mechanisms shared between biocides and antibiotics.

Methods: a bibliographic review of scientific articles was carried out between 2000 and July 2019 on the relationship between resistance to biocides and antibiotics, using as keywords “antibiotic”, “biocide”, “resistance” and “bacteria” in the data bases of PubMed and Google Scholar.

Conclusions: numerous scientific studies indicate a relationship between disinfectant-resistant bacteria and the acquisition of antibiotic resistance. It is necessary to analyze the use of these substances in the clinical context in order to minimize the impact that they may have on the selection of antibiotic-resistant microorganisms.

Keywords: bacteria, disinfectants, antibiotic resistance.

Fecha recibido: 08 de agosto 2019

Fecha aprobado: 31 de octubre 2019

Afiliación de los autores:

¹Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), Universidad de Costa Rica. ²Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

Fuentes de apoyo: Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflicto de intereses.

✉ luz.chacon@ucr.ac.cr

Uno de los mayores problemas globales en salud pública es la resistencia a los antibióticos. La Organización Mundial de la Salud (OMS), en su portal web, indica que la resistencia a los antimicrobianos ocurre cuando un microorganismo: bacteria, virus, hongo o parásito, cambia su forma de responder a un medicamento, y este se vuelve un tratamiento ineficaz; si un microorganismo se hace resistente a la mayoría de los antimicrobianos, se conoce como “superbug”.¹

De acuerdo con la información proporcionada por la OMS, los niveles de resistencia a los antibióticos están aumentando en todo el mundo, lo que provoca que el tratamiento de neumonía, tuberculosis, septicemia, gonorrea y enfermedades de transmisión alimentaria, sea cada vez más difícil. La presión selectiva generada, entre otras causas, por el uso / abuso de antimicrobianos, tanto en la práctica clínica como en la industria, es la principal responsable de este aumento.¹

En los últimos años se ha observado que la aparición de la resistencia no obedece solo al uso de fármacos, sino que la exposición de las bacterias a biocidas, particularmente los desinfectantes, puede favorecer la selección y supervivencia de microorganismos resistentes.^{2,3}

Generalidades de los biocidas

Son biocidas aquellas sustancias químicas como: antisépticos, desinfectantes y preservantes, que no tienen actividad específica para un grupo microbiano particular y con cuya aplicación se espera reducir el número de microorganismos en el ambiente, a niveles inofensivos.⁴ Una misma sustancia es capaz de afectar diferentes grupos de microorganismos y distintos blancos celulares de forma simultánea, por lo que se considera inespecífica, a diferencia de un antibiótico, que se dirige a un grupo bacteriano particular y a un blanco celular específico, por citar un ejemplo.⁵

El objetivo de todos los biocidas es destruir o inhibir el crecimiento de los microorganismos; sin embargo, el término desinfectante se utiliza cuando el biocida es usado sobre objetos

o superficies, mientras que los antisépticos se aplican sobre tejidos vivos.⁶

Los biocidas más comunes son los derivados del amonio cuaternario (cloruro de benzalconio), las biguanidas (clorhexidina), los fenoles (triclosán), los alcoholes, los aldehídos (glutaraldehído), los compuestos halogenados (yodo y cloro) y el peróxido de hidrógeno.⁷

A grandes rasgos, los derivados del amonio cuaternario (DAC) funcionan como tensioactivos (una parte de la molécula es polar y otra no polar), lo que les permite unirse de forma irreversible a fosfolípidos y proteínas de membrana, e incluso, la porción hidrofóbica puede insertarse dentro de la membrana, lo cual provoca una alteración de la permeabilidad de esta y una disfunción de la cadena respiratoria.⁸

Las biguanidinas se asocian fuertemente con sitios aniónicos (fosfolípidos ácidos y proteínas) expuestos sobre la membrana y pared celular, lo que produce un desplazamiento de los cationes divalentes Mg^{2+} y Ca^{2+} de estas estructuras, que implica una disminución en la fluidez de la membrana y alteraciones osmóticas en la célula bacteriana.⁹

En el caso de los fenoles, como el triclosán, el mecanismo de acción no solo se limita a la generación de alteraciones en la membrana bacteriana, sino que el químico puede ser absorbido por difusión hacia el citoplasma bacteriano y afectar directamente las vías metabólicas de síntesis de ácidos grasos, inhibiendo enzimas como la NADH-reductasa dependiente de ácidos grasos.¹⁰

El mecanismo de acción de los alcoholes se potencia en presencia de agua y se asocia a la generación de daños en la membrana y en las proteínas bacterianas, lo cual genera su desnaturalización y efectos metabólicos que propician la lisis de la bacteria en un corto plazo.⁴

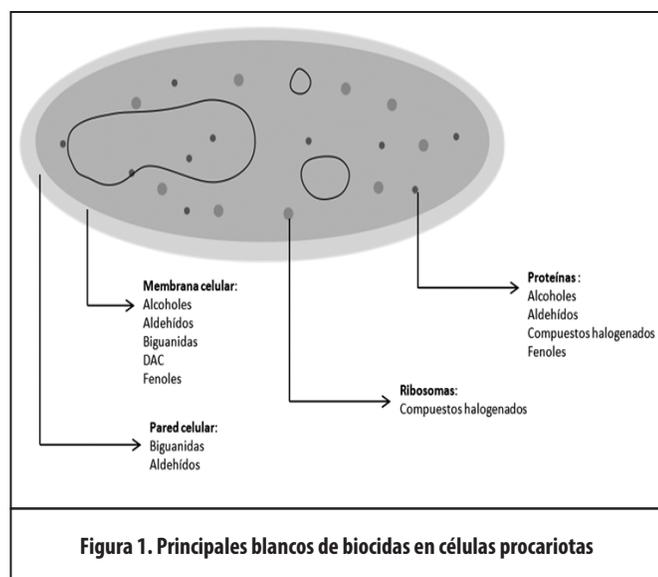
Los aldehídos, como el glutaraldehído, afectan proteínas, principalmente de pared y membrana bacteriana, actuando sobre grupos tioles, aminos y sulfidrilos. Al unirse a estos grupos “fijan” estructuras y enzimas e inhiben funciones básicas de supervivencia bacteriana.⁹

Por último, los compuestos halogenados y el peróxido de hidrógeno son sumamente reactivos y actúan como oxidantes y radicales libres capaces de interactuar con componentes celulares como ribosomas y diversas proteínas.¹¹

En la Figura 1 se muestra un esquema donde se resumen los principales blancos celulares de los biocidas mencionados.

Resistencia a biocidas

Desde la década de los 50 del siglo pasado, se informó de las primeras cepas bacterianas capaces de adquirir resistencia a biocidas, como por ejemplo, hacia los derivados del amonio cuaternario, y se demostró la capacidad de estos microorganismos de modificar la composición lipídica de las células para sobrevivir a la exposición a estos compuestos.¹² Sin embargo, esa situación



ha ido en aumento, en el Cuadro 1 se detallan algunos informes de aislamientos bacterianos resistentes a desinfectantes a nivel clínico alrededor del mundo, siendo de particular interés el incremento en la frecuencia de estos en los últimos 5 años.¹³⁻²⁹ Es necesario destacar que un aislamiento bacteriano se considera resistente cuando la concentración mínima inhibitoria que presenta es superior a la concentración de trabajo del biocida respectivo, de acuerdo con las recomendaciones del fabricante, o en su defecto, del protocolo de aplicación de estas sustancias en el centro médico donde se realizó el aislamiento.

Las alteraciones de composición de la membrana no son el único mecanismo de resistencia; en los últimos años se han identificado diferentes estrategias bacterianas para sobrevivir en altas concentraciones de biocidas, siendo la utilización de bombas de eflujo, una de las estrategias más extendida y exitosa. Estas fueron descubiertas mientras se estudiaban los mecanismos de resistencia a la tetraciclina y, posteriormente, a cloranfenicol y norfloxacina. Pero, normalmente son utilizadas por las bacterias para expulsar diversas sustancias tóxicas del interior de la célula.^{30,31}

Cuadro 1. Especies de aislamientos clínicos reportadas con resistencia a biocidas

Bacteria	Lugar de aislamiento	Resistencia descrita	País	Referencia bibliográfica
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Úlcera de piel, esputo, exudado de heridas,	Biguanidas, derivados del amonio cuaternario, biguanidas, compuestos halogenados, derivados del amonio cuaternario	España	13
	frotis de garganta, lavado bronquial, orina, lavado alveolar, punta de catéter, bilis, líquido cefalorraquídeo		China	14
<i>Bordetella pertusis</i>	Colección de aislamientos clínicos	Alcoholes	República Checa	15
<i>Burkholderia cepacia</i>	Sangre	Biguanida	República de Korea	16
<i>Enterococcus faecium</i>	Colección de aislamientos clínicos	Biguanidas, peróxidos, derivados del amonio cuaternario	Dinamarca	17
<i>Escherichia coli</i>	Orina	Derivados del amonio cuaternario	Irán	18
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Colección de aislamientos clínicos	Biguanidas	Reino Unido	19
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Piel	Biguanida	Kuwait	20
<i>Mycobacterium sp.</i>	Colección de aislamientos clínicos	Derivados del amonio cuaternario	Venezuela	21
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Colección de aislamientos clínicos	Alcoholes, biguanidas, compuestos halogenados derivados del amonio cuaternario	Japón	22
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Esputo	Compuestos halogenados	Reino Unido	23
	Muestras de endoscopios	Aldehídos	Suiza	24
	Colección de aislamientos clínicos	Derivados del amonio cuaternario	Brasil	25
<i>Staphylococcus sp.</i>	Sangre, secreciones, puntas de catéter, fluidos biológicos	Biguanidas	Brasil	26
<i>Staphylococcus aureus</i>	Colección de aislamientos clínicos	Biguanidas	Reino Unido	27
	Muestras de la Unidad de Cuidados Intensivos	Biguanidas Fenoles	Australia	28
		Alcohol Aldehídos	Brasil	29

En general, estas bombas son transportadores dependientes de energía y se clasifican en cinco principales familias: 1. superfamilia unidora de adenosíntrifosfato (ABC, por sus siglas en inglés),³² 2. familia resistencia-nodulación-división (RND, por sus siglas en inglés),³³ 3. familia de resistencia a multidrogas pequeñas (SMR, por sus siglas en inglés),³⁴ 4. superfamilia de facilitadores mayores (MFS, por sus siglas en inglés),³⁵ y 5. familia de expulsión de multidrogas y compuestos tóxicos (MATE, por sus siglas en inglés).³⁶

Únicamente los transportadores ABC usan energía a partir del adenosíntrifosfato (ATP) para el bombeo de sustancias, mientras que las otras 4 familias emplean como fuente de energía, el flujo de protones. Las RND se encuentran sobre todo en bacterias Gram negativas, mientras que las otras familias, tanto en Gram positivos como en Gram negativos.³⁷

Para mostrar un ejemplo del tipo de proteínas que son estas transportadoras, nos enfocaremos en la familia SMR. A la fecha se han identificado más 250 genes relacionados con esta familia, la cual se divide en tres subfamilias: bombas pequeñas multidrogas (SMP, por sus siglas en inglés), bombas pequeñas de resistencia a multidrogas (PSMR, por sus siglas en inglés) y supresores de mutaciones de *groEL* (SUG, por sus siglas en inglés). Suelen ser altamente hidrofóbicas (poseen cuatro dominios transmembrana), se componen de 100 a 150 aminoácidos y se acoplan a transportadores de protones que les permiten transportar una amplia gama de biocidas y cationes lipofílicos (se intercalan dentro de la doble cadena del ADN).^{38,39}

En 2009 se estimó que cerca de un 34 % de los miembros de los fila *Bacteria* y *Archaea*, poseen en promedio 2 genes de SMR por especie, siendo relevantes en *Proteobacteria* y *Clostridia*, ambos de significancia médica, ya que la mayoría de las bacterias patógenas pertenecen a estos.⁴⁰

Relación entre resistencia a biocidas y resistencia a los antibióticos

A nivel bacteriano, un sistema muy exitoso en la obtención de genes de resistencia son los integrones. Los integrones son regiones del ADN compuestas de tres elementos: un gen que codifica por una tiosinrecombinasa (conocida como integrasa y codificada en el gen *intI-1*), un sitio específico para recombinación (*attI*) y reconocido por la integrasa, y un promotor (P₁) localizado corriente arriba del sitio de integración e indispensable para que se produzca la transcripción de los genes localizados en el sitio de recombinación.⁴¹

Por su secuencia genética, los integrones se pueden clasificar en tres grupos, siendo los de tipo 1 los más importantes a nivel clínico. Por ejemplo, un integrón de una cepa bacteriana de origen clínico puede transportar hasta nueve genes de resistencia a los antibióticos.⁴² El origen de estas estructuras se ha asociado a la fusión del gen *qacE* (relacionado con resistencia a aminas cuaternarias) y el gen *sull* (asociado a resistencia a sulfonamidas).⁴³

En 2005, Gaze y colaboradores analizaron muestras de agua y suelo provenientes de una pesquería en la que se usaban altas

cantidades de compuestos derivados del amonio cuaternario, y la compararon con muestras de suelos agrícolas. Encontraron que las muestras provenientes de la pesquería portaban bacterias muy resistentes a derivados del amonio cuaternario, y que la presencia de integrones clase 1 era significativamente más alta en estas; demostraron que en ese ambiente se estaba coseleccionando microorganismos resistentes a biocidas y a antibióticos.⁴⁴

Para 2015 un metanálisis, basado en secuenciación de 2522 genomas y 4582 plásmidos de bacterias, encontró que el 86 % de los genomas estudiados posee genes relacionados con resistencia a biocidas y metales pesados y solo un 17 % de los genomas posee tanto genes de resistencia a los biocidas como a los antibióticos, sin embargo, ese 17 % representa en principio, aislamientos de origen clínico, siendo las bacterias con más frecuencia identificadas en esa categoría: *Providencia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Staphylococcus* y *Salmonella*. Además, identificaron que los plásmidos que poseen genes de resistencia a biocidas y a los antibióticos son conjugativos, lo que favorece la movilización horizontal entre diferentes especies bacterianas, cuando están en estrecho contacto físico unas con otras.⁴⁵

Es preciso mencionar que la coselección de estos microorganismos no solo se produce en ambientes clínicos, sino que el uso / abuso de desinfectantes y antibióticos a nivel domiciliario, hace que las aguas residuales y las plantas de tratamiento de éstas sean ambientes que actúan como reservorios y suplidores de resistencia a los antibióticos.⁴⁶

En Costa Rica, en el INISA, se han identificado aislamientos clínicos de *Shigella sp.* multirresistentes con presencia de *intI-1* y genes de resistencia a β -lactamasas (*bla_{OXA}ybla_{TEM}*), también se han encontrado aislamientos de *Escherichia coli* multirresistente, proveniente de aguas residuales domésticas, con presencia de *intI-1*, *intI-2*, *sul-1*, *sul-2* y *bla_{TEM}*.^{47,48} A su vez, estudios preliminares realizados en el INISA han identificado concentraciones subinhibitorias de cloruro de benzalconio en muestras de lodos activados de plantas de tratamiento de aguas residuales domiciliarias, y también se han encontrado aislamientos de *Escherichia coli* multirresistentes a los antibióticos, con presencia de genes de resistencia a biocidas y metales pesados.⁴⁹⁻⁵²

La existencia de microorganismos con estos perfiles representa una confirmación de la presencia de coselección de microorganismos resistentes a antibióticos y a biocidas en el país. La utilización de biocidas a nivel doméstico, clínico e industrial, había sido una práctica recomendada en aras de minimizar la cantidad de microorganismos potencialmente nocivos. Sin embargo, en vista de la escalada en los niveles de resistencia a los antibióticos conviene replantearse los protocolos de utilización de los biocidas, con el fin de evaluar su efectividad y en particular su forma de aplicación para minimizar la selección de bacterias cada vez más resistentes a los antibióticos.

Por último, este trabajo representa un llamado de atención sobre efectos históricamente no considerados sobre el uso de desinfectantes. Se insta a la población a hacer un uso moderado

de estas sustancias, evitando desperdicios y limitando su desecho en los sistemas de alcantarillado público. Se hace un llamado a la comunidad científica para desarrollar más investigación vinculada con estos temas, por su alta relevancia para la salud pública.

Referencias

- World Health Organization (WHO). Antimicrobial resistance: Global Report on Surveillance. *Bull World Health Organ* 2014; 61: 383–94.
- Bore E, Hébraud M, Chafsey I, Chambon C, Skjæret C, Moen B, *et al*. Adapted tolerance to benzalkonium chloride in *Escherichia coli* K-12 studied by transcriptome and proteome analyses. *Microbiology* 2007; 153: 935–46.
- Webber MA, Whitehead RN, Mount M, Loman NJ, Pallen MJ, Piddock LJV. Parallel evolutionary pathways to antibiotic resistance selected by biocide exposure. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70: 2241–8.
- Gilbert P, McBain AJ. Potential impact of increased use of biocides in consumer products on prevalence of antibiotic resistance. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 189–208.
- Cerf O, Carpentier B, Sanders P. Tests for determining in-use concentrations of antibiotics and disinfectants are based on entirely different concepts: “Resistance” has different meanings. *Int J Food Microbiol* 2010; 136: 247–54.
- McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 147.
- Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR). Assessment of the Antibiotic Resistance Effects of Biocides. Eur. Comm. Consum. Prot. DG. 2009; : 1–118.
- Wessels S, Ingmer H. Modes of action of three disinfectant active substances: A review. *Regul Toxicol Pharmacol* 2013; 67: 456–67.
- Gilbert P, Moore LE. Cationic antiseptics: Diversity of action under a common epithet. *J Appl Microbiol* 2005; 99: 703–15.
- Schweizer HP. Triclosan: a widely used biocide and its link. *FEMS Microbiol Lett* 2001; 202: 1–7.
- Maillard JY. Bacterial target sites for biocide action. *Symp Ser Soc Appl Microbiol* 2002; : 16S-27S.
- Chaplin CE. Bacterial Resistance To Quaternary Ammonium. *J Bacteriol* 1952; 63: 453–8.
- Bravo Z, Orruño M, Navascues T, Ogayar E, Ramos-Vivas J, Kabardin VR, *et al*. Analysis of *Acinetobacter baumannii* survival in liquid media and on solid matrices as well as effect of disinfectants. *J Hosp Infect* 2019. DOI:10.1016/j.jhin.2019.04.009.
- Guo J, Li C. Molecular epidemiology and decreased susceptibility to disinfectants in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care unit patients in central China. *J Infect Public Health* 2019; : 1–7.
- Uttlová P, Urban J, Melicherčíková V, Zavadilová J, Fabiánová K. Susceptibility of clinical isolates of *Bordetella pertussis* to chemicals. *Epidemiol Mikrobiol Immunol* 2018; 67: 122–8.
- Song JE, Kwak YG, Um TH, Cho CR, Kim S, Park IS, *et al*. Outbreak of *Burkholderia cepacia* pseudobacteraemia caused by intrinsically contaminated commercial 0.5% chlorhexidine solution in neonatal intensive care units. *J Hosp Infect* 2018; 98: 295–9.
- Alotaibi SMI, Ayibiekea A, Pedersen AF, Jakobsen L, Pinholt M, Gumpert H, *et al*. Susceptibility of vancomycin-resistant and -sensitive *Enterococcus faecium* obtained from Danish hospitals to benzalkonium chloride, chlorhexidine and hydrogen peroxide biocides. *J Med Microbiol* 2017; 66: 1744–51.
- Shafaati M, Boroumand M, Nowroozi J, Amiri P, Kazemian H. Correlation Between qacE and qacEA1 Efflux Pump Genes, Antibiotic and Disinfectant Resistant Among Clinical Isolates of E.coli. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov* 2017; 11: 189.
- Bock LJ, Wand ME, Sutton JM. Varying activity of chlorhexidine-based disinfectants against *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates and adapted strains. *J Hosp Infect* 2016; 93: 42–8.
- Vali L, Dashti AA, El-Shazly S, Jadaon MM. *Klebsiella oxytoca* with reduced sensitivity to chlorhexidine isolated from a diabetic foot ulcer. *Int J Infect Dis* 2015; 34: 112–6.
- Cortesia C, Lopez GJ, de Waard JH, Takiff HE. The use of quaternary ammonium disinfectants selects for persisters at high frequency from some species of non-tuberculous mycobacteria and may be associated with outbreaks of soft tissue infections. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65: 2574–81.
- Shinoda N, Mitarai S, Suzuki E, Watanabe M. Disinfectant-susceptibility of multi-drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolated in Japan. *Antimicrob Resist Infect Control* 2016; 5: 5–8.
- Moore JE, Rendall JC. Comparison of susceptibility of cystic-fibrosis-related and non-cystic-fibrosis-related *Pseudomonas aeruginosa* to chlorine-based disinfecting solutions: Implications for infection prevention and ward disinfection. *J Med Microbiol* 2014; 63: 1214–9.
- Tschudin-Sutter S, Frei R, Kampf G, Tamm M, Pflimlin E, Battegay M, *et al*. Emergence of Glutaraldehyde-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011; 32: 1173–8.
- Romão C, Miranda CA, Silva J, Mandetta Clementino M, De Filippis I, Asensi M. Presence of qacEA1 gene and susceptibility to a hospital biocide in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* resistant to antibiotics. *Curr Microbiol* 2011; 63: 16–21.
- Do Vale BCM, Nogueira AG, Cidral TA, Lopes MCS, De Melo MCN. Decreased susceptibility to chlorhexidine and distribution of qacA/B genes among coagulase-negative *Staphylococcus* clinical samples. *BMC Infect Dis* 2019; 19: 1–5.
- Hardy K, Sunnucks K, Gil H, Shabir S, Trampari E, Hawkey P, *et al*. Increased Usage of Antiseptics Is Associated with Reduced Susceptibility in Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus*. *MBio* 2018; 9: e00894-18.
- Hughes C, Ferguson J. Phenotypic chlorhexidine and triclosan susceptibility in clinical *Staphylococcus aureus* isolates in Australia. *Pathology* 2017; 49: 633–7.
- Campos GB, Souza SG, Lobão TN, Da Silva DCC, Sousa DS, Oliveira PS, *et al*. Isolation, molecular characteristics and disinfection of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from ICU units in Brazil. *New Microbiol* 2012; 35: 183–90.
- McMurry LM, Aronson DA, Levy SB. Susceptible *Escherichia coli* cells can actively excrete tetracyclines. *Antimicrob Agents Chemother* 1983; 24: 544–51.
- Li XZ, Livermore DM, Nikaido H. Role of efflux pump(s) in intrinsic resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: Resistance to tetracycline, chloramphenicol, and norfloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 1732–41.
- Lubelski J, Konings WN, Driessen AJM. Distribution and Physiology of ABC-Type Transporters Contributing to Multidrug Resistance in Bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 2007; 71: 463–76.
- Tseng TT, Gratwick KS, Kollman J, Park D, Nies DH, Goffeau A, *et al*. The RND permease superfamily: an ancient, ubiquitous and diverse family that includes human disease and development proteins. *J Mol Microbiol Biotechnol* 1999; 1: 107–25.
- Bay DC, Rommens KL, Turner RJ. Small multidrug resistance proteins: A multidrug transporter family that continues to grow. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1778: 1814–38.
- Law CJ, Maloney PC, Wang D. Ins and Outs of major facilitator Superfamily Antiporters. *Annu Rev Microbiol* 2009; 62: 289–305.
- Kuroda T, Tsuchiya T. Multidrug efflux transporters in the MATE family. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1794: 763–8.
- Blanco P, Hernando-Amado S, Reales-Calderon J, Corona F, Lira F, Alcalde-Rico M, *et al*. Bacterial Multidrug Efflux Pumps: Much More Than Antibiotic Resistance Determinants. *Microorganisms* 2016; 4: 14.
- Chitsaz M, Brown MH. The role played by drug efflux pumps in bacterial multidrug resistance. *Essays Biochem* 2017; 61: 127–39.
- Li X-Z, Nikaido H. Efflux-Mediated Drug Resistance in Bacteria: an Update. *Drugs* 2009; 69:1555-1623.
- Bay DC, Turner RJ. Diversity and evolution of the small multidrug resistance protein family. *BMC Evol Biol* 2009; 9. DOI:10.1186/1471-2148-9-140.

41. Domingues S, da Silva GJ, Nielsen KM. Integrons: Vehicles and pathways for horizontal dissemination in bacteria. *Mob Genet Elem* 2012; 2: 211–23.
42. Naas T, Mikami Y, Imai T, Poirel L, Nordmann P. Characterization of In53, a Class 1 Plasmid- and Composite Transposon-Located Integron of *Escherichia coli* Which Carries an Unusual Array of Gene Cassettes. *J Bacteriol* 2001; 183: 235–49.
43. Brown HJ, Stokes HW, Hall RM. The integrons In0, In2, and In5 are defective transposon derivatives. *J Bacteriol* 1996; 178: 4429–37.
44. Gaze WH, Abdoulsam N, Hawkey PM, Wellington EMH. Incidence of Class 1 Integrons in a Quaternary Ammonium Compound-Polluted Environment. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 1802–7.
45. Pal C, Bengtsson-Palme J, Kristiansson E, Larsson DGJ. Co-occurrence of resistance genes to antibiotics, biocides and metals reveals novel insights into their co-selection potential. *BMC Genomics* 2015; 16: 1–14.
46. Karkman A, Do TT, Walsh F, Virta MPJ. Antibiotic-Resistance Genes in Waste Water. *Trends Microbiol* 2018; 26: 220–8.
47. Barrantes K, Chacón L, Solano M, Achí R. Class 1 integrase and genetic cassettes *bla_{oxa}* and *bla_{tem}* among multi-drug resistant *Shigella* isolates in Costa Rica. *Int J Biol Sci Appl* 2014; 1: 24–7.
48. Soto-Rodríguez S. Caracterización de aislamientos de *Escherichia coli* de dos plantas de tratamiento de aguas residuales del Gran Área Metropolitana, Costa Rica. 2017.
49. Universidad de Costa Rica. Benzalkonium chloride effect over activated sludge – BioProject. [Internet]. [subido 28 Jun 2019; citado 7 Oct 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/PRJNA551675/>
50. Universidad de Costa Rica. *Escherichia coli* strain PTA_A655-5. [subido 2 Oct 2019; citado 7 Oct 2019]. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/?term=SUB6336663+PRJNA573715+SAMN12822722+WAAH00000000+Escherichia+coli+PTA_A655-5
51. Universidad de Costa Rica. *Escherichia coli* strain PTA_A1156-1. [subido 2 Oct 2019; citado 7 Oct 2019]. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/?term=SUB6336832+PRJNA573731+SAMN12822948+WAAI00000000+Escherichia+coli+PTA_A1156-1
52. Universidad de Costa Rica. *Escherichia coli* strain PTA_A1167-1. [subido 2 Oct 2019; citado 7 Oct 2019]. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/?term=SUB6336837+PRJNA573733+SAMN12823250+WAAJ00000000+Escherichia+coli+PTA_A1167-1