

Papel de los integrones en la resistencia a los agentes antimicrobianos

María Teresa Coque-González

Investigador del Sistema Nacional de Salud (SNS). Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. IMSALUD. Madrid. España.

Los integrones son sistemas de recombinación específicos de sitio responsables del reconocimiento, captura y expresión de cassetes (elementos móviles constituidos por un gen carente de promotor y un lugar de recombinación específico conocido como elemento 59 bp)^{1,2}. De forma general, estos elementos se han dividido operativamente en integrones de resistencia (IR) y superintegrones (SI)^{1,2}. Los IR se encuentran habitualmente formando parte de transposones y/o plásmidos y contienen mayoritariamente genes de resistencia a antibióticos, mientras que los SI se localizan en el cromosoma de ciertas especies bacterianas y contienen genes asociados a múltiples funciones adaptativas^{1,2}. Otras diferencias son el número y orientación de los cassetes que contienen y la diversidad y tamaño de los elementos de 59 bp². Hasta el momento se han descrito cinco clases de IR². Los integrones de clase 1 son los más frecuentes, seguidos de los integrones de clase 2; respectivamente asociados a transposones de la familia de Tn3 y Tn7^{1,2}. Los integrones de clase 3 son similares a los de clase 1 y se han descrito de forma esporádica^{1,3}. Estos tres tipos de integrones se han detectado mayoritariamente en enterobacterias, *Pseudomonas* y *Acinetobacter*, aunque también se han encontrado elementos de clase 1 en algunos microorganismos grampositivos¹⁻³. Los integrones de clase 4 son parte del elemento SXT de *Vibrio cholerae* que codifica resistencia a sulfametoazol, trimetoprima y estreptomicina^{2,4}. Solamente se ha identificado un integrón de clase 5 en un plásmido de *Vibrio salmonicida* (Gene-Bank #AJ277063). Respecto a los SI, se han descrito más de 30 tipos en los cromosomas de *Shewanella*, *Xantomonas*, *Pseudomonas*, *Nitrosomonas*, *Geobacter* y *Vibrio* y parecen ser el origen de los IR². En la actualidad, los IR se consideran los principales responsables de la acumulación y diseminación recientes de cassetes de resistencia en el genoma bacteriano, habiendo despertado un gran interés por su implicación en la resistencia a nuevos antibióticos como cefalosporinas de amplio espectro, carbapenémicos y quinolonas. También se han relacionado con la selección y dispersión epidémica de clones de determinadas especies bacterianas (*Salmonella enterica*, *V. cholerae*). Es particularmente atractiva la capacidad de los IR para generar estructuras formadas por la asociación de diversos elementos genéticos de resistencia y/o virulencia.

En este número de la revista, Pérez-Moreno et al⁵ analizan la prevalencia y contenido genético de los integrones de clase 1 en aislados clínicos de *S. enterica* productores de betalactamasas. Los tipos de integrones encontrados en los distintos serotipos estudiados son compatibles con la presencia de elementos genéticos diseminados mundialmente^{6,7}, y se asocian a fenotipos particulares de resistencia a antibióticos. Esta observación pone una vez más de manifiesto la importancia de los integrones en la selección de clones y/o elementos genéticos que confieren fenotipos de multirresistencia a antibióticos en este género bacteriano.

En las últimas décadas se ha producido un espectacular aumento de la incidencia de *S. enterica* resistente a múltiples antibióticos debido a la diseminación de elementos genéticos, que incluyen la presencia de integrones y, en algunas ocasiones, elementos de virulencia⁶⁻⁹. El caso más emblemático es el de la isla genética de patogenicidad SGI1 (*Salmonella Genomic Island 1*), un elemento de 43 kb que incluye una región en la que se localizan dos integrones de clase 1 que contienen los cassetes *aadA2*, *pse1* y *sul1* que codifican respectivamente proteínas implicadas en la resistencia a estreptomicina, ampicilina y sulfisoxazol y que se hallan separados por una secuencia que incluye los genes *florR*, *tetR* y *tetA*, responsables de la resistencia a cloranfenicol/florfenicol y tetraciclina (fenotipo ASSuCT)⁶. La presencia de SGI1 se ha constatado en cinco serovares distintos de *Salmonella* y se ha asociado con la diseminación pandémica de *S. enterica* serovar *Typhimurium* DT104 y con la de un reducido número de clones de *S. ser Paratyphi B* dT+ en Canadá en los años 2000-2001^{6,10}. Otros fenotipos de resistencia se han asociado a integrones de clase 1 portadores de *blaOXA-30*, y parecen ser responsables del aumento de *S. enterica* multirresistente del serovar Muenchen en el sur de Estados Unidos⁸. Un caso análogo al de SGI1 de *Salmonella* es el del elemento SXT de *V. cholerae*, perteneciente a nuevo tipo de determinantes genéticos denominados ICE (acrónimo de *Integrative Conjugative Element*), anteriormente considerados transposones conjugativos. Este elemento de 100 kb incluye una región de genes de resistencia a sulfametoazol, trimetoprima, cloranfenicol y estreptomicina asociados a integrones, se encuentra presente en casi todos los aislados clínicos de *V. cholerae* del sudeste asiático posteriores a 1992⁴. Tanto SGI1 como SXT no son elementos de resistencia a antibióticos *sensu stricto*, y se han encontrado aislados que albergan elementos variantes sensibles o con polimorfismos en las regiones de resistencia. Aunque no se han descrito los factores que han motivado su amplia presencia en el medio ambiente, el éxito obtenido parece haber favorecido la diseminación de los integrones y/o cassetes que están contenidos en ellos. También se han descrito

Correspondencia: Dra. M.T. Coque-González.
Investigador del SNS. Servicio de Microbiología.
Hospital Universitario Ramón y Cajal. IMSALUD.
Ctra. de Colmenar, km 9. 28034 Madrid. España.
Correo electrónico: mcoque.hrc@salud.madrid.org

Manuscrito recibido el 14-2-2005; aceptado el 20-2-2005.

elementos conjugativos de *Salmonella* originados por la fusión de un plásmido de virulencia y otro de resistencia. Estos plásmidos contienen dos replicones diferentes que podrían ampliar su espectro de hospedador y con ello, las posibilidades de propagación⁹.

Además de su presencia en elementos conjugativos cromosómicos o plasmídicos relacionados con virulencia, la asociación de integrones de clase 1 con secuencias de inserción (IS) y/o recombinasas ha dado lugar a la formación de estructuras químicas con múltiples sitios de recombinación, que aumentan tanto las posibilidades de nuevas capturas génicas como su capacidad para la transferencia horizontal. Uno de los ejemplos de mayor actualidad es el de los integrones de tipo In6 e In7, caracterizados por la duplicación del extremo 3' del integrón y la presencia de una presunta recombinasa denominada ORF513. Este tipo de elementos son los responsables de la reciente diseminación pandémica de genes de resistencia a cefalosporinas de amplio espectro como algunas cefotaximadas (*bla_{CTXM-2}*, *bla_{CTXM-9}*) y cefamicinas (*bla_{DHA-1}*, *bla_{CMY-9}*, *bla_{CMY-10}*, *bla_{CMY-11}*) y la transferencia horizontal de la resistencia a quinolonas (*qnrA*)¹¹⁻¹³. Otros ejemplos de estructuras formadas por la asociación de integrones con IS y/o transposones se han relacionado con la diseminación epidémica de plásmidos conjugativos o elementos transponibles que contienen diversos genes de resistencia. Algunos ejemplos son las islas genéticas de resistencia formadas por integrones de clase 1, IS26 y betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en plásmidos IncL/M de *S. enterica* Typhimurium y *Klebsiella oxytoca* y que son responsables de la persistencia de BLEE en estas especies en algunas instituciones hospitalarias^{14,15}, la estructura química formada por Tn1935 (*aphIII*), el integrón de clase 1 *oxa1aadA1* y, eventualmente, un integrón de tipo In6, presente en plásmidos IncFI de aislados clínicos de *S. enterica* Typhimurium con fenotipo ACSSuTK (ampicilina-cloranfenicol-estreptomicina-sulfisoxazol-tetraciclina-kanamicina) detectados desde 1972 en áreas geográficas muy distantes^{16,17} o el transposón de tipo Tn5051, responsable de la diseminación reciente de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos en Europa¹⁸. En el ámbito comunitario, uno de los ejemplos más característicos es la estructura formada por integrones de clase 1 y Tn1721 (*tet*) presente en el plásmido pRAS1 detectado en aislados de *Aeromonas salmonicida* de piscifactorías de los cinco continentes desde la década de los setenta¹⁹.

La presencia de IR en plásmidos conjugativos y/o transposones diseminados mundialmente y descritos con anterioridad a la era antibiótica podría explicar su rápida dispersión en las últimas décadas. De hecho, la baja diversidad y gran estabilidad temporal de la estructura de los integrones de clase 1 y 2 en aislados clínicos resistentes a antibióticos de las últimas dos décadas apoyaría la hipótesis de episodios de selección de un pequeño número de unidades de captura génica ocurrida en el medio hospitalario como consecuencia del uso de antibióticos²⁰, aunque no se pueda excluir que la adquisición de ciertos integrones proporcione ventajas adaptativas no relacionadas con la resistencia. Debemos tener presente que también existe una gran heterogeneidad genética y genómica en los integrones, tanto en cassetes correspondientes a un mismo gen (como son los casos de *bla_{OXA-1-32}*, *bla_{IMP-1-13}*, *aadA₁₋₁₇* o *dfrA₁₋₁₇*) como en la organización de integrones que alber-

gan cassetes idénticos, habiéndose descrito incluso la presencia de un mismo cassette, *dfrA1*, en integrones de diferentes clases^{1,2,21}. Además, se han aislado recientemente nuevas clases de integrones y de cassetes no asociados a resistencia a antibióticos en zonas no sometidas a presión selectiva aparente^{22,23}. En general, estamos asistiendo a una espectacular diseminación tanto de genes de resistencia como de vehículos de transmisión horizontal en el ámbito extrahospitalario, probablemente como consecuencia de una selección intensa y múltiple. La funcionalidad de cassetes procedentes del medio ambiente o de superintegrones en integrones de clase 1^{24,25} indica el inmenso arsenal genético existente para cubrir las necesidades de adaptación bacteriana a múltiples situaciones y, en particular, la importancia de estos elementos para la comprensión del origen y la rápida diseminación de la resistencia a antibióticos.

La presencia de integrones presenta aspectos de interés desde el punto de vista del tratamiento antimicrobiano y la política de control de infección hospitalaria. En primer lugar, la flexibilidad del sistema cassette/integrón permite la adquisición y el intercambio de cassetes bajo diferentes presiones selectivas, lo que podría desaconsejar la aplicación de las políticas de uso cíclico de antibióticos que pueden seleccionar diversos elementos de resistencia y favorecer la persistencia de bacterias multirresistentes. En segundo lugar, la resistencia a múltiples antibióticos en aislados clínicos de enterobacterias está asociada a cepas que contienen integrones, existiendo una eficaz diseminación de los fenotipos de resistencia entre diferentes especies de esta familia²⁶. Por último, el aumento de infecciones causadas por enterobacterias y *Pseudomonas* de origen extrahospitalario portadoras de estructuras químicas (In60, In35 o Tn5051, respectivamente) y cassetes que confieren resistencia a antibióticos de uso animal, puede contribuir a amplificar el número de genes y unidades de diseminación en el metagenoma hospitalario^{11,18,27}.

En resumen, el artículo de Pérez-Moreno et al⁵ refleja los aspectos más relevantes asociados con la implicación de los integrones en la resistencia a los agentes antimicrobianos en la actualidad. Es predecible que en los próximos años asistamos a la descripción no sólo de nuevos integrones y cassetes de resistencia sino a la de nuevos vehículos que faciliten su diseminación (transposones, plásmidos, ICE e, incluso, hospedadores), vehículos ya presentes actualmente en el medio ambiente y no suficientemente amplificados y/o detectados. La caracterización molecular de todos los elementos de captura génica implicados en la diseminación de genes de resistencia y el estudio de los factores asociados con su diseminación en los diferentes ecosistemas resultará imprescindible para comprender y controlar el problema de la resistencia a los agentes antimicrobianos.

Bibliografía

- Fluit AC, Schmitz FJ. Resistance integrons and superintegrons. *Clin Microb Infect.* 2004;10:272-88.
- Rowe-Magnus DA, Mazel D. The role of integrons in antibiotic resistance gene capture. *Int J Med Microbiol.* 2002;292:115-25.
- Correia M, Boavida F, Grosso F, Salgado MJ, Lito LM, Melo Cristina J, et al. Molecular characterization of a new class 3 integron in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47:2838-43.
- Hochut B, Lofti Y, Mazel D, Faruque SM, Woodgate R, Waldor MK. Molecular analysis of antibiotic resistance gene cluster in *Vibrio cholerae*

0139 and O1 SXT constins. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45: 2991-3000.

5. Pérez-Moreno MO, Carulla-Pont M, Pérez-Moreno M, Jardí-Baiges AM, Llovet-Lombarte MI, Tejedor-Ganduxé X, et al. Integrones de clase 1 en aislamientos de *Salmonella enterica* productores de diferentes tipos de beta-lactamasas recogidos en la región sanitaria de Tortosa. *Enferm Infect Microbiol Clin*. 2005;23:259-65.
6. Fluit AC. Towards more virulent and antibiotic-resistant *Salmonella*? *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2005;43:1-11.
7. Gebreyes WA, Thakur S, Davies PR, Funk JE, Altier C. Trends in antimicrobial resistance, phage typing and integrons among *Salmonella* serotypes from pigs. *J Antimicrob Chemother*. 2004;53:997-1003.
8. Gebreyes WA, Thakur S. Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Muenchen from pigs and humans and potential interserovar transfer of antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:503-11.
9. Guerra B, Soto S, Helmuth R, Mendoza MC. Characterization of a self-transferable plasmid from *Salmonella enterica* serotype Typhimurium clinical isolates carrying two integron-borne gene cassettes together with virulence and drug resistance genes. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:2977-81.
10. Mulvey MR, Boyd D, Cloeckaert A, Ahmed R, Ng LK. Emergence of multidrug-resistant *Salmonella paratyphi* B dT+, Canada. *Emerg Infect Dis*. 2004;10:1307-10.
11. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:1-14.
12. Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-determined AmpC-type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:1-11.
13. Mammeri H, Van de Loo M, Poirel L, Martínez-Martínez L, Nordmann P. Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance associated in *Escherichia coli* in Europe. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:71-6.
14. Villa L, Pezzella C, Tosini F, Visca P, Petrucca A, Carattoli A. Multiple-antibiotic resistance mediated by structurally related IncL/M plasmids carrying an extended-spectrum beta-lactamase gene and a class 1 integron. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44:2911-4.
15. Preston KE, Radomski CC, Venezia RA. The cassettes and 3' conserved segment of an integron from *Klebsiella oxytoca* plasmid pACM1. *Plasmid*. 1999; 42:104-14.
16. Carattoli A, Villa L, Pezzella C, Bordi E, Visca P. Expanding drug resistance through integron acquisition by IncFI plasmids of *Salmonella enterica* Typhimurium. *Emerg Infect Dis*. 2001;7:444-7.
17. Villa L, Visca P, Tosini F, Pezzella C, Carattoli A. Composite integron array generated by insertion of an ORF541-type integron within a Tn21-like element. *Microb Drug Resistance*. 2002;8:1-8.
18. Toleman MA, Biedenbach D, Bennett D, Jones RN, Walsh TR. Genetic characterization of a novel metallo-beta-lactamase gene, blaIMP-13, harboured by a novel Tn5051-type transposon disseminating carbapenemase genes in Europe: report from the SENTRY worldwide antimicrobial surveillance programme. *J Antimicrob Chemother*. 2003;52:583-90.
19. Sorum H, Lábée-Lind TM, Solberg A, Wold A. Integron-containing IncU R plasmids pRAS1 and pAr-32 from the fish pathogen *Aeromonas salmonicida*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47:1285-90.
20. Machado E, Cantón R, Baquero F, Galán JC, Rollán A, Peixe L, et al. The integron content of *Escherichia coli* strains with extended-spectrum beta-lactamases along twelve years in a single hospital in Madrid, Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. En prensa 2005.
21. Toleman MA, Biedenbach D, Bennett D, Jones RN, Walsh TR. Italian metallo-beta-lactamases: a national problem? Report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J Antimicrob Chemother*. 2005;55:61-70.
22. Michael CA, Gillings MR, Holmes AJ, Hughes L, Andrew NR, Holley MP, et al. Mobile gene cassettes: a fundamental resource for bacterial evolution. *The American Naturalist*. 2004;1:1-12.
23. Nield BS, Holmes AJ, Gillings MR, Recchia GD, Mabbutt BC, Nevalainen KMH, et al. Recovery of new integron classes from environmental DNA. *FEMS Microbiol Lett*. 2001;195:59-65.
24. Rowe-Magnus DA, Guerout AM, Mazel D. Bacterial resistance evolution by recruitment of super-integron gene-cassettes. *Mol Microbiol*. 2002;43: 1657-69.
25. Petroni A, Melano RG, Saka HA, Garutti A, Mange L, Pasterán F, et al. CARB-9, a carbencinilase encoded in the VCR region of *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139 belongs to a family of cassette-encoded b-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:4042-6.
26. Leverstein-Van Hall MA, Blok HEM, Donders RT, Paauw A, Fluit AC, Verhoef J. Multidrug-resistant among *Enterobacteriaceae* is strongly associated with the presence of integrons and is independent of species or isolate origin. *J Infect Dis*. 2003;187:251-9.
27. Leverstein-Van Hall MA, Paauw A, Box ATA, Blok HEM, Verhoef J, Fluit AC. Presence of integron-associated resistance in the community is widespread and contributes to multidrug resistance in the hospital. *J Clin Microbiol*. 2002;40:3038-40.