

# Estructura y función de los integrones

Montserrat Sabaté y Guillem Prats

Servicio de Microbiología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Universitat Autònoma de Barcelona. España.

Los integrones son unas piezas genéticas que han despertado gran interés porque algunos de ellos vehiculan genes de resistencia a los antimicrobianos.

Desde el extremo 5' al 3' están formados por un fragmento que codifica una integrasa (*intI*) y a continuación una secuencia *attI* a la que se unen los genes de resistencia. Dentro de *intI*, en su extremo 3', hay una secuencia promotora  $P_{ant}$  a partir de la cual se transcriben los genes de resistencia integrados, ya que estos genes carecen de promotor.

En efecto, la integrasa reconoce en ciertos genes de resistencia (denominados genes casete) una secuencia específica denominada 59-be, que une, por recombinación, a la secuencia *attI* del integrón. El fragmento formado por *intI-attI* está altamente conservado en todos los integrones y se denomina 5'-CS.

Los integrones se han clasificado según la secuencia de su integrasa. Los detectados con más frecuencia en cepas aisladas en clínica pertenecen a la clase 1. Los integrones de la clase 1 están formados por el 5'-CS y a continuación se sitúan los diferentes genes casetes captados, por lo que constituye una zona variable y, finalmente, hay una zona conservada denominada 3'-CS formada por 2 genes uno de resistencia a compuestos de amonio cuaternario (*qacEΔ1*) y otro a sulfamidas (*sul1*); estos 2 genes, no son casetes y, por lo tanto, no son móviles sino fijos. La estructura de uno de estos integrones vendría representada por *IntI-attI* [ $R_{1+} R_{2+} \dots$ ]-*qacEΔ1-sul1*.

Probablemente, los integrones no son móviles por sí mismos, pero con frecuencia se hallan en transposones que a su vez se encuentran en plásmidos conjugativos, por lo que su movilidad horizontal está asegurada, como se constata por su amplia difusión entre las bacterias.

**Palabras clave:** Integrones. Resistencia. Antimicrobianos.

Structure and function of integrons

**Integrons are genetic elements known for their role in the acquisition and expression of genes conferring antibiotic resistance. Integrons have an integrase gene (*intI*), an**

attachment site (*attI*), into which individual resistance genes are inserted and a promoter sequence ( $P_{ant}$ ), allowing expression of resistance genes (cassette-associated genes), which do not have promoters. Integrase recognizes 59-be, a specific sequence in certain resistance genes, which is captured by recombination at the *attI* attachment site. The fragment *intI - attI* is highly conserved in all integrons and is called 5'-CS.

Integrons have been classified according to the sequence of their integrase and the ones most frequently detected in isolated clinical strains belong to Class I. Class I integrons contain the 5'-CS region followed by gene cassettes in a variable region and finally, a conserved region known as 3'-CS containing two genes, the quaternary ammonium resistance gene (*qacEΔ1*) and the sulphonamide resistance gene (*sul1*); both genes are fixed in this structure.

Accordingly, the structure of a Class 1 integron would be *IntI - attI* [ $R_{1+} R_{2+} \dots$ ] - *qacEΔ1 - sul1*.

Integrons are probably not mobile, but they are often found in transposons within conjunctive plasmids, which assures their mobility, as can be seen by their wide diffusion among bacteria.

**Key words:** Integrons. Resistance. Antimicrobials

Los integrones son unas piezas genéticas que se descubrieron a principios de la década de los años 1980, cuando el estudio molecular de algunos genes de resistencia reveló la existencia de una secuencia común en la región 5' que contenía un promotor y un gen codificante de una integrasa similar a las descritas en bacteriófagos, constatándose que estas secuencias formaban parte de una zona conservada (5') de una estructura genética que se denominó integrón (In).

Los integrones se caracterizan por ser capaces de captar genes que codifican determinantes de resistencia a antibióticos y determinantes con otras funciones. Los integrones se han diseminado ampliamente entre las especies de la familia *Enterobacteriaceae*<sup>1-3</sup> y otras bacterias gramnegativas (*Vibrio cholerae*<sup>4</sup> y *Pseudomonas aeruginosa*<sup>5</sup>). Recientemente se ha descrito la presencia de éstos en bacterias grampositivas como *Corynebacterium glutamicum*<sup>6,7</sup>.

Los genes (exógenos) que se incorporan a los integrones presentan una estructura particular y se han denominado genes casete. La integración se produce por un mecanismo de recombinación específico de sitio.

Los integrones, en su forma más sencilla, están formados por 3 elementos necesarios para la captura y

Correspondencia: Dr. G. Prats.

Dirección actual: Servicio de Microbiología. Hospital de la Vall d'Hebron. Pº Vall d'Hebron, s/n. 08035 Barcelona. España.

Correo electrónico: gprats@cs.vhebron.es

Manuscrito recibido el 12-02-2002; aceptado el 19-02-2002.

expresión de genes exógenos (casetes)<sup>8</sup>: uno que codifica una integrasa (*intI*), el otro es el lugar de recombinación sitio-específico (*attI*) y, por último, un promotor ( $P_{ant}$ ) para la expresión de los genes casetes integrados. A veces contienen un segundo promotor más fuerte,  $P_2$ , localizado adyacentemente a 3' del primero (fig. 1A).

El lugar de recombinación específico *attI* está formado por 65 pares de bases, incluyendo 2 regiones correspondientes a los lugares de unión fuerte y débil de la integrasa y un lugar de recombinación, en el cual los genes capturados son integrados gracias a la acción de la integrasa IntI. Esta integrasa, de aproximadamente 1 kb, pertenece a la familia de las recombinasas, pues presenta los 2 motivos de consenso encontrados en la integrasa (Int) del fago  $\lambda$  y en otras recombinasas<sup>2,9</sup>. En total, un integrón simple con estos únicos elementos y sin genes casete incorporados posee un tamaño aproximado de 1,1 kb.

Los genes casete pueden aparecer como moléculas de ADN no replicativas circulares, pero por lo habitual se encuentran en los integrones como secuencias lineales (fig. 1C). Los genes casete se detectan mayoritariamente en los integrones, aunque excepcionalmente se han encontrado fuera de ellos (*aadB* y *dfrA14*) incorporados a un plásmido o al cromosoma, en zonas no específicas, posiblemente debido a que la recombinación llevada a término por la IntI ha ocurrido en un lugar secundario<sup>10-12</sup>. Los casetes generalmente incluyen un único gen y en posición 3' presentan una secuencia de recombinación específica de sitio, conocida como *attC*, o también denominada elemento de 59 bases (59-be), a través de la que se efectúa su reconocimiento y movilización<sup>8,13-15</sup>.

Los genes casete normalmente no contienen promotores y son transcritos, utilizando el promotor del integrón en un ARN mensajero (ARNm) policistrónico que comporta una relativa disminución de la transcripción en los genes más distales<sup>16</sup> (fig. 1C).

Los casetes son movilizados por la integrasa que reconoce el lugar *attC* del gen casete y el lugar receptor *attI* del integrón, permitiendo tanto su integración como su escisión. La integrasa de la clase 1 (IntI1), además de catalizar la reacción de integración o escisión entre *attI1* y *attC*<sup>17-19</sup> puede catalizar ocasionalmente procesos de recombinación, tanto de integración como de escisión, entre dos *attC*<sup>13,18,20</sup>. También ha sido documentada la recombinación integrativa entre dos *attI*<sup>21,22</sup> e incluso entre lugares secundarios y *attC*<sup>10,11,19,20,23</sup> o *attI*<sup>21</sup>, aunque estos dos últimos casos se producen a más baja frecuencia. La inserción y/o escisión de los casetes dentro del integrón desempeña una función importante en la incorporación y formación de nuevas combinaciones de genes de resistencia a los antimicrobianos. El hecho de que muchos integrones posean más de un gen casete de resistencia, junto con el hecho de que muchos de ellos están localizados en elementos genéticos como transposones<sup>24</sup> o plásmidos<sup>25,26</sup>, que llevan otros determinantes de resistencia, hace que la selección a través de uno de estos determinantes de resistencia antimicrobiana seleccione a los demás (selección en autostop)<sup>6</sup>.

La clasificación de los integrones se basa en la secuencia de la integrasa<sup>25,27,28</sup>. Actualmente, se conocen nueve clases. Los miembros de la clase 1, 2 y 3, contienen genes casete de resistencia a los antibióticos<sup>8,25</sup>; los de las clases 4, 5, 6 y 7 contienen genes casete que no codifican la

resistencia a antibióticos<sup>29,30</sup> (número acceso AF179595), el de la clase 9 contiene un gen casete de resistencia a antibióticos<sup>31</sup> y otros genes casete de función desconocida y el integrón de la clase 8 no presenta ningún gen casete<sup>30</sup>.

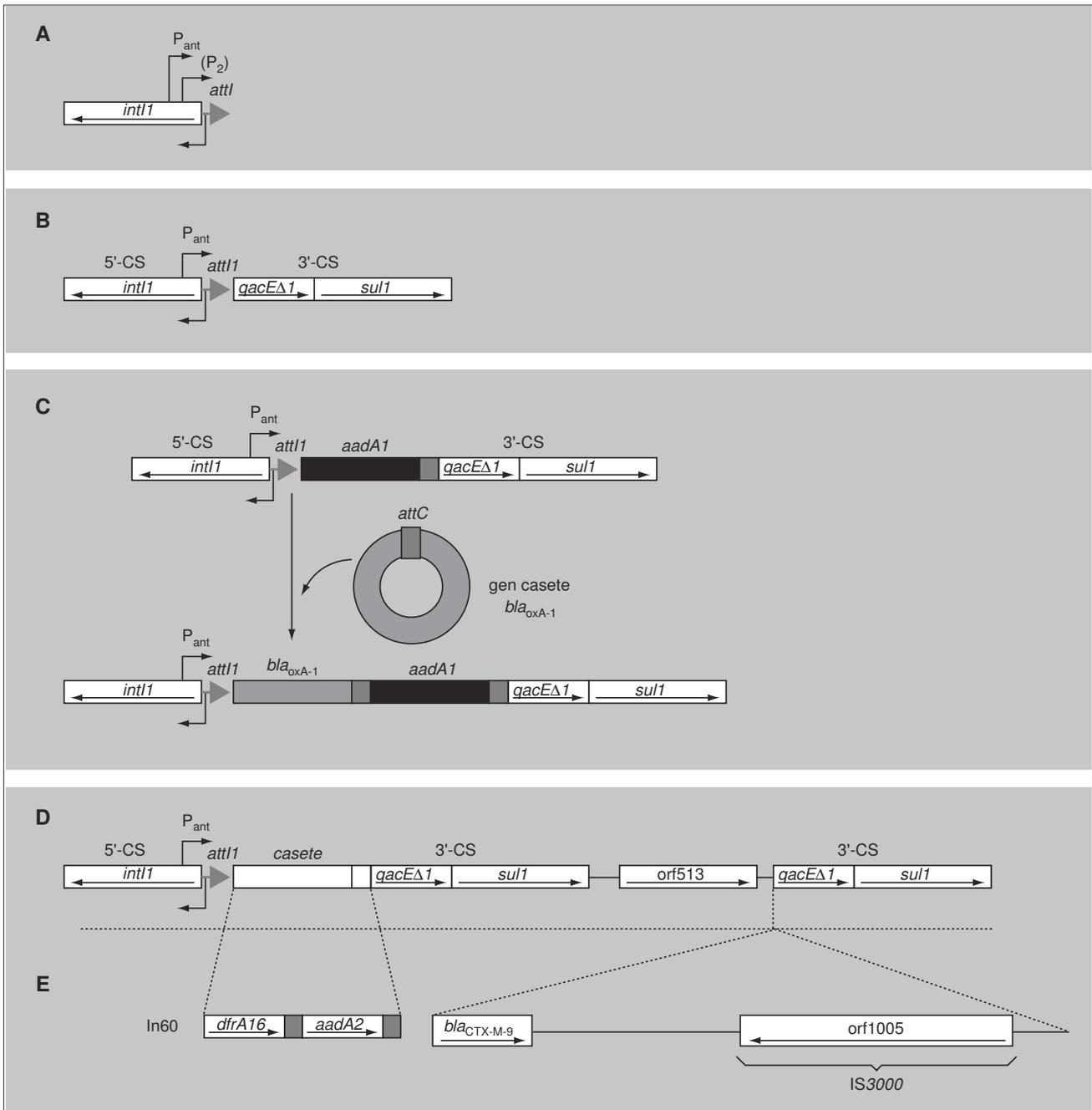
Los integrones de la clase 1 son los que se encuentran con mayor frecuencia en las cepas aisladas de casos clínicos. Se caracterizan por tener la secuencia 5' conservada (5'-CS) que contiene el gen codificante de la integrasa y la mayoría de ellos contienen también una secuencia 3' conservada (3'-CS) que contiene un gen que confiere resistencia a componentes de amonio cuaternario (*qacE $\Delta$ 1*) y un gen de resistencia a sulfonamidas (*sul1*); estos 2 genes de resistencia no son casetes, sino que se encuentran fijados en el integrón (fig. 1B). La longitud de esta región 3'-CS es variable, por su extremo 3', tal y como se ha descrito en In1, In2, In3, In4, In5 y In0<sup>32</sup>, pertenecientes a la clase 1. Muchos de los integrones pertenecientes a esta clase se han localizado en elementos transponibles como el *Tn21* (el integrón In2)<sup>36</sup>, el *Tn1696* (el integrón In4)<sup>24</sup>, (ambos clasificados como miembros de la familia del Tn3) o en transposones defectivos como es el caso de In0, In2 e In5<sup>8,34</sup> o el integrón localizado en el *Tn5086*<sup>40</sup>.

Aunque la mayoría de los integrones de la clase 1 tienen la estructura descrita anteriormente, últimamente se han descrito integrones inusuales pertenecientes a esta clase como son In6, In7<sup>36</sup> y un integrón descrito en el plásmido pSAL-1 de *Salmonella enterica* serovar Enteritidis<sup>26</sup>. A estos integrones se les ha denominado integrones compuestos, porque contienen una segunda copia del segmento 3'-CS (fig. 1D). Estos integrones tienen un segmento común de 2,1 kb, localizado entre las dos repeticiones 3'-CS, que incluye el *orf513*. Recientemente, se ha caracterizado en nuestro laboratorio un nuevo integrón compuesto, el In60, con las características señaladas y que además conlleva a la región comprendida entre las dos repeticiones 3'-CS, el gen de una betalactamasa de espectro ampliado (*bla*<sub>CTX-M-9</sub>) muy prevalente en nuestro país, descrita por primera vez en nuestro laboratorio en una cepa de *E. coli* y una secuencia de inserción IS3000<sup>1</sup> (número de acceso AF174129) (fig. 1E). Los otros 3 integrones compuestos, In6, In7 y el contenido en el plásmido pSAL-1, tienen en esta región únicamente los genes de resistencia *bla*<sub>DHA-1</sub>, *dhfrX* y *catA2*, respectivamente.

Los integrones de la clase 2 se encuentran en el Tn7 y en derivados de éste (Tn1825, Tn1826, Tn4132)<sup>37,38</sup>. Estos integrones tienen en el segmento conservado 5' una estructura similar a los integrones de la clase 1. La integrasa de esta clase (IntI2) muestra un 40% de homología con la integrasa de la clase 1<sup>8</sup>. Adyacente a esta región, hay otra que contiene un número limitado de casetes que codifican resistencia a trimetoprim (*dfrA1a* o *dfrA1b*), estreptotricina (*sat*) y estreptomina-espectinomina (*aadA1*)<sup>8,39</sup> y finalmente un segmento que contiene 5 genes implicados en la transposición (*tns*)<sup>36</sup>.

De los integrones pertenecientes a las clases 3 a 9 sólo se ha descrito un representante de cada clase.

El integrón de la clase 3, que contiene un gen casete que codifica una metalobetalactamasa (*bla*<sub>IMP-1</sub>, carbapenemasa) se detectó en una cepa de *Serratia marcescens*, aislada en Japón<sup>25</sup>. Este gen casete se



**Figura 1A-E.** A) se representa esquemáticamente la estructura común a todos los integrones, caracterizada por el gen codificante de la integrasa (*intI1*), el lugar de recombinación específico (*attI*) y un promotor ( $P_{ant}$ ) que permite la expresión de los genes casete insertados en el *attI* del integrón. A veces hay un segundo promotor más fuerte,  $P_2$ . B) Integrón de la clase 1 con la estructura común a todos los integrones en posición 5' (5'-CS) y la secuencia conservada 3'-CS característica de esta clase de integrones que incluye los genes de resistencia a compuestos de amonio cuaternario (*qacEΔ1*) y a sulfamidas (*sul1*). C) Integrón de la clase 1 con un gen casete que codifica una aminoglucósido-adenililtransferasa (*aadA1*). Se muestra la integración en él de un nuevo casete codificante de una betalactamasa (*bla<sub>OxA-1</sub>*), observándose como la integración de éste desplaza el anterior gen casete (*aadA1*) hacia 3'. D) Se representa esquemáticamente la estructura de un integrón compuesto caracterizada por la repetición de dos secuencias conservadas 3'-CS. E) Integrón compuesto In60. Posee la estructura representada en D indicándose únicamente las regiones variables. *qacEΔ1*: compuestos de amonio cuaternario; *sul1*: sulfonamidas.

describió posteriormente en integrones de la clase 1<sup>41</sup>. La integrasa de este integrón, la IntI3, presenta el 61% de identidad con la secuencia aminoacídica de IntI1<sup>15,33</sup>. En este integrón, el extremo 3' no se ha caracterizado<sup>25</sup>.

Últimamente, se ha descrito un grupo de integrones denominados super-integrones<sup>4,42</sup>. Éstos se caracterizan por presentar múltiples genes casete incorporados en tándem que contienen la región *attC* similar a la descrita en otros genes casete localizados en integrones de la clase

1, 2 y 3, pero en estos casos esta región pasa a ser característica de especie. Se han detectado superintegrones en varias especies del género *Vibrio*. En concreto, en el cromosoma pequeño de *Vibrio cholerae* se ha descrito un superintegrón que pertenece a la clase 4. Los genes casete encontrados no codifican resistencias a antibióticos, aunque Clark et al<sup>29</sup> han descrito 3 casetes que confieren funciones metabólicas<sup>27,29,43</sup>. También se ha descrito un integron en *V. mimicus*<sup>29,30</sup> perteneciente a la clase 5, así como también se han detectado un integrón de la clase 9 en *V. cholerae* serogrupos O1 y O139<sup>31</sup>.

De las clases 6, 7 y 8 de integrones, únicamente se ha descrito un representante de cada clase, detectados a partir de cepas aisladas en el ambiente (*Treponema denticola*, *Geobacter sulfurreducens*, *Shewanella putrefaciens*)<sup>22</sup>. La homología entre las diferentes integrasas (IntI6, IntI7 y IntI8) con la IntI1 es de entre 45 y 50%. En los integrones de la clase 6 y 7 se ha detectado un gen casete de función desconocida y ninguno en el integrón de la clase 8<sup>30</sup>.

El hecho de detectar con frecuencia integrones en diferentes poblaciones bacterianas, refuerza la hipótesis de que los integrones son piezas genéticas muy comunes que no están inexcusablemente asociadas a la patogenicidad ni a la resistencia antimicrobiana<sup>30</sup>.

Las diferentes clases de integrones son capaces de adquirir los mismos genes casete, indicando que el *pool* de genes casete es compartido<sup>44</sup>, como en el caso del casete *bla<sub>IMP-1</sub>* localizado inicialmente en la clase 3<sup>25</sup> y, últimamente, en la clase 1<sup>41</sup>; así como también se ha detectado el casete *dfrA1* en integrones de la clase 1, 2 y 9<sup>31</sup>.

Hasta la actualidad se han descrito más de 60 genes casete de resistencia en bacterias gramnegativas<sup>3,15</sup> estando entre los últimos el gen codificante de una betalactamasa (*oxa20*), genes que confieren resistencia al cloranfenicol (*catB6* y *cmlA2*), genes codificantes de proteínas de eflujo de amonio cuaternario (*qacF* i *qacG*) y el gen que confiere resistencia al trimetoprim (*dfrA15*). No obstante, también se han descrito casetes que incluyen genes con otras funciones como los que se han encontrado en el cromosoma de *V. cholerae*<sup>4,27,29</sup>.

Los integrones son estructuras sedentarias que funcionan como sistemas de captación de genes que confieren ventajas selectivas y raramente captan genes indispensables para la bacteria. Se caracterizan por poseer una gran versatilidad, es decir, por tener la habilidad de reconocer una amplia variedad de secuencias de recombinación, así como una capacidad prácticamente ilimitada de intercambio y reserva de casetes. Esta flexibilidad permite a la bacteria una rápida adaptación al flujo impredecible de los nichos ecológicos.

Rowe-Magnus et al<sup>4</sup> han demostrado la presencia de integrones en microorganismos ancestrales de diferentes géneros, corroborando así que los integrones son estructuras antiguas que han ido evolucionando conjuntamente con el genoma bacteriano.

## Agradecimientos

Desearnos agradecer al Dr. Juan María García Lobo las valiosas sugerencias que han permitido mejorar este trabajo. También deseamos expresar nuestro agradecimiento a los Dres. Ferrán Navarro, Elisenda Miró y Beatriz Mirelis por la lectura crítica del manuscrito y las valiosas sugerencias que han permitido mejorarlo.

El trabajo experimental sobre este tema en el laboratorio de Microbiología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau se ha realizado con ayudas del Fondo de Investigaciones Sanitarias (FISS 98/1293, FISS 98/1522).

## Bibliografía

- Sabaté M, Navarro F, Miró E, Campoy S, Mirelis B, Barbé J, et al. A novel complex *sulI*-type integron in *Escherichia coli* carrying the *bla<sub>CTX-M-9</sub>* gene. Antimicrob Agents Chemother. En prensa.
- Stokes HW, Hall RM. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. Mol Microbiol 1989;3:1669-83.
- White PA, McIver CJ, Rawlinson WD. Integrons and gene cassettes in the enterobacteriaceae. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:2658-61.
- Rowe-Magnus DA, Guerout AM, Ploncard P, Dychinco B, Davies J, Mazel D. The evolutionary history of chromosomal super-integrons provides an ancestry for multiresistant integrons. Microbiology 2001;98:652-7.
- Rosser SJ, Young HK. Identification and characterization of class 1 integrons in bacteria from an aquatic environment. J Antimicrob Chemother 1999;44:11-8.
- Fluit AC, Schmitz FJ. Class 1 integrons, gene cassettes, mobility, and epidemiology. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1999;18:761-70.
- Nesvera J, Hochmannova J, Patek M. An integron of class 1 is present on the plasmid pCG4 from gram-positive bacterium *Corynebacterium glutamicum*. FEMS Microbiol Lett 1998;169:391-5.
- Recchia GD, Hall RM. Gene cassettes: A new class of mobile element. Microbiology 1995;141:3015-27.
- Ouellette M, Roy PH. Homology of ORFs from Tn2603 and from R46 to site-specific recombinases. Nucleic Acids Res 1987;15:10055.
- Francia MV, De la Cruz F, García Lobo M. Secondary sites for integration mediated by Tn21 integrase. Mol Microbiol 1993;10:823-8.
- Recchia GD, Hall RM. Plasmid evolution by acquisition of mobile gene cassettes: Plasmid pIE723 contains the *aadB* gene cassette precisely inserted at a secondary site in the IncQ plasmid RSF1010. Mol Microbiol 1995;15: 179-87.
- Segal H, Francia V, Garcia Lobo JM, Elisha G. Reconstruction of an active integron recombination site after integration of a gene cassette at a secondary site. Antimicrob Agents Chemother 1999;43:2538-41.
- Hall RM, Brookes DE, Stokes HW. Site-specific insertion of genes into integrons: Role of the 59-base element and determination of the recombination cross-over point. Mol Microbiol 1991;5:1941-59.
- Hall RM, Collins CM. Mobile gene cassettes and integrons: Capture and spread of genes by site-specific recombination. Mol Microbiol 1995;15: 593-600.
- Hall RM, Collins CM. Antibiotic resistance in gram-negative bacteria: The role of gene cassettes and integrons. Drug Resist. Updates 1998;1:109-19.
- Collins CM, Hall RM. Expression of antibiotic resistance genes in the integrated cassettes of integrons. Antimicrob Agents Chemother 1995;9:165-72.
- Hall RM, Collins CM, Kim MJ, Partridge SR, Recchia GD, Stokes HW. Mobile gene cassettes in evolution. Ann N Y Acad Sci 1999;870:68-80.
- Martínez E, De la Cruz F. Genetic elements involved in Tn21 site-specific integration, a novel mechanism for the dissemination of antibiotic resistance genes. EMBO J 1990;9:1275-81.
- Recchia GD, Stokes HW, Hall RM. Characterization of specific and secondary recombination sites recognised by the integron DNA integrase. Nucleic Acids Res 1994;22:2071-8.
- Stokes HW, O'Gorman DB, Recchia GD, Parsekhian M, Hall M. Structure and function of 59-base element recombination sites associated with mobile gene cassettes. Mol Microbiol 1997;26:731-45.
- Hansson K, Sköld O, Sundström L. Non-palindromic *attI* sites of integrons are capable of site-specific recombination with one another and with secondary targets. Mol Microbiol 1997;26:441-53.
- Recchia GD. Mobile gene cassettes and integrons: Evolutionary and recombinational studies. 1996. PhD thesis, Macquarie University Sydney, Australia.
- Francia MV, Avila P, De la Cruz F, Garcia Lobo M. A hot spot in plasmid F for site-specific recombination mediated by Tn21 integron integrase. J Bacteriol 1997;179:4419-25.

24. Partridge SR, Brown HJ, Stokes HW, Hall RM. Transposons Tn1696 and Tn21 and their integrons In4 and In2 have independent origins. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1263-70.
25. Arakawa Y, Murakami M, Suzuki K, Ito H, Wacharotayankun R, Ohsuka S, et al. A novel integron-like element carrying the metallo-beta-lactamase gene *bla<sub>IMP</sub>*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1612-5.
26. Verdet C, Arlet G, Barnaud G, Lagrange PH, Philippon A. A novel integron in *Salmonella enterica* serovar Enteritidis, carrying the *bla<sub>DHA-1</sub>* gene and its regulator gene *ampR*, originated from *Morganella morganii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:222-5.
27. Mazel D, Dychinco B, Webb V, Davies J. A distinctive class of integron in the *Vibrio cholerae* genome. *Science* 1998;280:605-8.
28. Partridge SR, Recchia GD, Scaramuzzi C, Collis CM, Stokes HW, Hall RM. Definition of the attI1 site of class 1 integrons. *Microbiology* 2000;146:2855-64.
29. Clark CA, Purins L, Kaewrakon P, Focareta T, Manning PA. 2000. The *Vibrio cholerae* O1 chromosomal integron. *Microbiology* 1995;146:2605-12.
30. Nield BS, Holmes AJ, Gillings MR, Recchia GD, Mabbutt BC, Nevalainen KM, et al. Recovery of new integron classes from environmental DNA. *FEMS Microbiol Lett* 2001;195:59-65.
31. Hochhut B, Lotfi Y, Mazel D, Faruque SM, Woodgate R, Waldor MK. Molecular analysis of antibiotic resistance gene clusters in *Vibrio cholerae* O139 and O1 SXT constins. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:2991-3000.
32. Hall RM, Brown HJ, Brookes DE, Stokes HW. Integrons found in different locations have identical 5' ends but variable 3' ends. *J Bacteriol* 1994;176:6286-94.
33. Senda K, Arakawa Y, Ichiyama S, Nakashima K, Ito H, Ohsuka S, et al. PCR detection of metallo-beta-lactamase gene (*blaIMP*) in gram-negative rods resistant to broad-spectrum beta-lactams. *J Clin Microbiol* 1996;34:2909-13.
34. Brown HJ, Stokes HW, Hall RM. The integrons In0, In2, and In5 are defective transposon derivatives. *J Bacteriol* 1996;178:4429-37.
35. Sundström L, Swedberg G, Skold O. Characterization of transposon Tn5086, carrying the site-specifically inserted gene *dhfrVII* mediating trimethoprim resistance. *J Bacteriol* 1993;175:1796-805.
36. Hall RM, Stokes HW. Integrons: Novel DNA elements which capture genes by site-specific recombination. *Genetica* 1993;90:115-32.
37. Tietze E, Brevet J, Tschape H. Relationships among the streptothricin resistance transposons Tn1825 and Tn1826 and the trimethoprim resistance transposon Tn7. *Plasmid* 1987;18:246-9.
38. Young HK, Qumsieh MJ, McIntosh ML. Nucleotide sequence and genetic analysis of the type Ib trimethoprim-resistant, Tn4132-encoded dihydrofolate reductase. *J Antimicrob Chemother* 1994;34:715-25.
39. Sundström L, Roy PH, Sköld O. Site-specific insertion of three structural gene cassettes in transposon Tn7. *J Bacteriol* 1991;173:3025-8.
40. Ploy MC, Denis F, Courvalin P, Lambert T. Molecular characterization of integrons in *Acinetobacter baumannii*: description of a hybrid class 2 integron. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:2684-8.
41. Laraki N, Galleni M, Thamm I, Riccio ML, Amicosante G, Frere JM, et al. Structure of In31, a *bla(IMP)*-containing *Pseudomonas aeruginosa* integrons phylogenically related to In5, which carries an unusual array of genes cassettes. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:890-901.
42. Rowe-Magnus DA, Mazel D. Integrons: Natural tools for bacterial genome evolution. *Curr Opin Microbiol* 2001;4:565-9.
43. Heidelberg JF, Eisen JA, Nelson WC, Clayton RA, Gwinn ML, Dodson RJ, et al. DNA sequence of both chromosomes of the cholera pathogen *Vibrio cholerae*. *Nature* 2000;406:477-83.
44. Collins CM, Recchia GD, Kim MJ, Stokes HW, Hall RM. Efficiency of recombination reactions catalyzed by Class 1 integron integrase IntI1. *J Bacteriol* 2001;183:2535-42.