

## Integrón bacteriano. Estructura, resistencia antibiótica y aplicaciones benéficas

### Bacterial integron. Structure, antibiotic resistance and beneficial applications

Margarita M. P. Arenas-Hernández\*✉, Aranzazú Del Pilar Romano-Valerio\*\*, Carolina Acevedo-Ocampo\*\*

Arenas-Hernández, M. M. P., Romano-Valerio, A. P., & Acevedo-Ocampo, C. (2022). Integrón bacteriano. Estructura, resistencia antibiótica y aplicaciones benéficas. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 30(87), e3631. <https://doi.org/10.33064/iycuaa2022873631>

#### RESUMEN

Los integrones son sistemas modulares genéticos que le permiten a las bacterias adaptarse a diferentes ambientes. El objetivo de esta revisión es conocer la estructura de los integrones, su participación en la evolución bacteriana y su papel en la diseminación de resistencia y de virulencia. Asimismo, abordamos cómo se está utilizando su naturaleza flexible y de recombinación, a nivel biotecnológico para aplicaciones prometedoras como el diseño de terapias novedosas para vencer la resistencia antibiótica en biorremediación, en la industria para la obtención de proteínas benéficas, en agricultura.

**Palabras clave:** integrón; casete; patógenos bacterianos; resistencia antibiótica; terapia; aplicación biotecnológica.

#### ABSTRACT

Integrans are modular genetic systems that allow bacteria to adapt to different environments. The objective of this review is to understand the structure of integrons, their participation in bacterial evolution and their role in the spread of resistance and virulence. Likewise, we address how it is being used their flexible and recombinant nature, at the biotechnological level for promising applications as the design of novel therapies to overcome antibiotic resistance in bioremediation, in the industry to obtain beneficial proteins, in agriculture.

**Recibido: 22 de marzo de 2022, Aceptado: 7 de octubre de 2022**

\*Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Edificio IC-11, Ciudad Universitaria, Colonia San Manuel, C. P. 72570, Puebla, Puebla, México. Correo electrónico: margarita.arenas@correo.buap.mx ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1483-0510>

\*\*Facultad de Medicina, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Edificio IC-11, Ciudad Universitaria, Colonia San Manuel, C. P. 72570, Puebla, Puebla, México. Correo electrónico: aranzazu.romano@alumno.buap.mx; carolina.acevedo@alumno.buap.mx ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4285-9070>; <https://orcid.org/0000-0002-1560-016X>

✉Autora para correspondencia

**Keywords:** integron; cassette; bacterial pathogens; antibiotic resistance; therapy; biotechnological application.

## INTRODUCCIÓN

El término integrón fue propuesto por Stokes y Hall (1989) y se define como “una familia de elementos genéticos móviles, capaces de integrarse al genoma<sup>1</sup> bacteriano a través de un sistema de recombinación<sup>2</sup> y de expresar genes exógenos<sup>3</sup> conocidos como casetes los cuales codifican factores de virulencia y/o de resistencia a antibióticos” (Gillings, 2014; Hall & Collis, 1995). Inicialmente se clasificaron en superintegrones e integrones móviles, con base en su tamaño y ubicación. Los *superintegrones* son estructuras ancestrales por su localización en los cromosomas bacterianos, su gran tamaño con  $\geq 179$  casetes (muchos codifican proteínas desconocidas) y por la homología que existe entre los sitios de recombinación del casete llamados *attC*. Por su parte los *integrones móviles* surgieron a partir de secuencias de superintegrones que atraparon un gen que codifican para una integrasa, con sus respectivos sitios de recombinación, permitiendo su conversión a estructuras movilizables. Los integrones recolectan docenas de “genes casete” diferentes, expresando cada uno un *attC* específico, cuya relación filogenética no fue tan distante a los *attC* presentes en el superintegrón primitivo (Di Conza & Gutkind, 2010; Mazel, 2006). Los integrones tienen una capacidad ilimitada para intercambiar casetes y eliminar genes extraños que no les sirven en su adaptación, evolucionaron y se asociaron con elementos genéticos móviles como plásmidos conjugativos<sup>4</sup>, secuencias de inserción (IS)<sup>5</sup> y transposones (Tn)<sup>6</sup> (Cambray, Guerout, & Mazel, 2010; Fonseca & Vicente, 2022; Mazel, 2006).

## DESARROLLO

Los integrones son principalmente estudiados por su papel en la resistencia a los antibióticos, ya que al capturar y expresar genes de resistencia permiten que las bacterias portadoras respondan a la presión de selección<sup>7</sup>. Así, los integrones les han permitido a las bacterias adaptarse a diferentes nichos, su estructura posee *sitios 5' y 3' conservados* y tienen tres características que les permiten integrarse al DNA bacteriano para su propia replicación. La primera es la expresión de una *integrasa* funcional codificada por el gen *intl*, perteneciente a la familia Tirosin-recombinasa y que participa en la inserción, escisión y reordenamiento de los casetes y se han reportado tres clases que permiten la clasificación

<sup>1</sup> Secuencia completa de los genes de un microorganismo, está constituido por cromosoma(s) y moléculas de DNA llamadas plásmidos.

<sup>2</sup> Mecanismo en el cual una cadena de material genético se corta y enseguida se une a otra hebra de material genético diferente.

<sup>3</sup> Externos, foráneos, que no pertenecen al mismo organismo.

<sup>4</sup> Moléculas de DNA circular covalentemente cerrado que se replican dentro de la bacteria independientemente del cromosoma y tienen la capacidad de transferirse de una bacteria a otra.

<sup>5</sup> Secuencias pequeñas de DNA que pueden moverse de una posición a otra dentro del mismo genoma o diferente.

<sup>6</sup> Elementos genéticos, más grandes que una SI, que pueden moverse de un lugar a otro dentro del genoma o a diferente.

<sup>7</sup> Factores que afectan negativamente a la supervivencia de un organismo.

de los integrones; la segunda es poseer *sitios de recombinación proximal primarios, attI*, con su respectivo sitio *attC* y, por último, la *capacidad de poseer múltiples genes casete*. Los casetes se expresan generalmente a partir del promotor del casete llamado Pc y estos casetes se van acumulando para formar una matriz de casetes (figuras 1A y 1B) (Di Conza & Gutkind, 2010; Domingues, da Silva, & Nielsen, 2015; Sabaté & Prats, 2002).

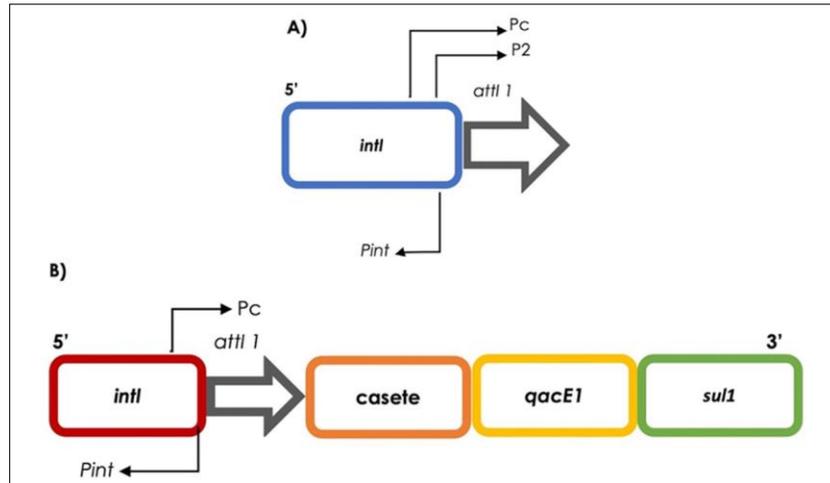


Figura 1. Estructura de un integrón. A) La Región 5' conservada está formada por el gen *intI* que a través de su promotor *Pint*, codifica para una integrasa y se transcribe en sentido contrario al promotor del casete o *Pc*. También se muestra el sitio específico de recombinación *attI*. La acción de *IntI* permite la integración de los casetes que son expresados a través del *Pc* (*P1*). Puede existir en algunos casos un segundo promotor del casete (*P2*) más fuerte que el primero. B) Estructura clásica de integrón clase I. Se muestran las regiones 5' y 3' conservadas con un casete integrado entre ellas. La región 5' es idéntica a la descrita en A y la región 3' está constituida por los genes *qacE1* y *sul1* que codifican para resistencia a sales de amonio cuaternario y para resistencia a sulfas.

Elaboración propia.

La función de la integrasa es inmovilizar a los genes casete al reconocer su *attC* y el sitio específico *attI* del integrón permitiendo la integración del casete. Las características y localización de los sitios *attC* y *attI* se muestran en la figura 2A (Gillings, 2014; Sabaté & Prats, 2002). Por su parte, los genes casete son ubicuos, se encuentran en bacterias patógenas y en bacterias ambientales aisladas de sedimentos acuáticos, microbiomas de animales y plantas, biopelículas, agua dulce y marina, suelo desértico, forestal y polar, sedimentos fluviales, fuentes termales y estuarios, entre otros más (Gillings, 2014).

La mayoría de los casetes presentes en integrones de bacterias de importancia clínica confieren resistencia a los aminoglucósidos,  $\beta$ -lactámicos, quinolonas, cloranfenicol, trimetoprima, estreptotricina, eritromicina, rifampicina, lincomicina, fosfomicina y antisépticos de la familia de amonio cuaternario. Las nuevas combinaciones de genes de resistencia a los antibióticos son provocadas a causa de la inserción de los casetes dentro del integrón (figura 2B). Aunque la mayoría de integrones poseen múltiples genes casete de resistencia, muchos están localizados en elementos genéticos móviles (MGE), como plásmidos o transposones que potencian su diseminación (González, Mella, Zemelman, Bello, & Domínguez, 2004; Partridge, Kwong, Firth, & Jensen, 2018).

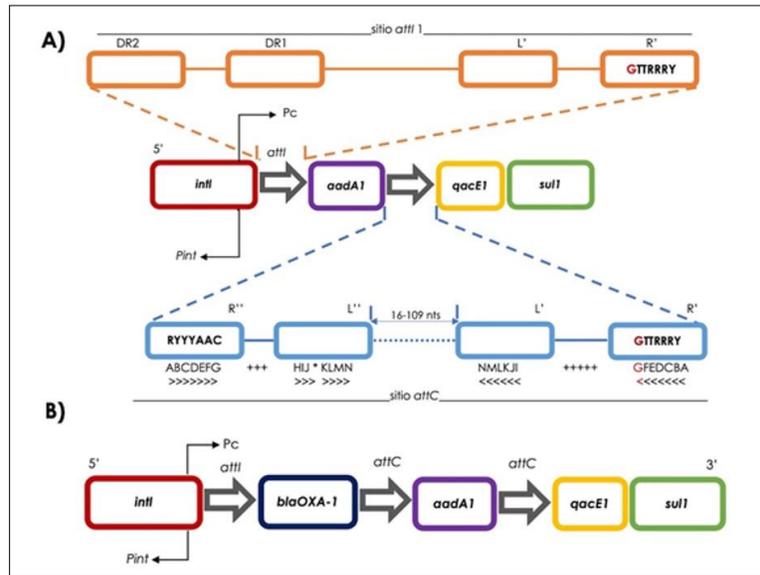


Figura 2. Integrón clase I. A) Se muestran los extremos 5', 3' conservados y en la región variable un casete *aadA1* que codifica una aminoglucósido adeniltransferasa. Se muestran de forma amplificada (líneas punteadas) las estructuras internas de los sitios *attI* (superior) y *attC* (inferior). *attI* tiene 65 pb, con dos regiones L' y R' de unión de integrasa y un sitio conservado (GTTRRY) donde se capturan los genes casete. Sólo los casetes clase I poseen dos secuencias repetidas directas (DR). *attC* posee una región de 59 pb con 6 nucleótidos conservados (GTTRRY) flanqueado por secuencias repetidas invertidas R'', L'', R' y L'. La integrasa se une cuando las secuencias se reconocen (L. left y R. right). B) El esquema muestra la integración de un nuevo casete *blaOXA-1* que codifica una betalactamasa, desplazándose entre *intI* y *addA1* con dirección 3', se muestran también las secuencias de *attC* intergénicas. Adaptado de Sabaté y Prats (2002) y Gillings (2014).

Los casetes también codifican para funciones de virulencia (toxinas, cápsulas y enzimas) y de relación con el huésped (Domingues, da Silva, & Nielsen, 2012; Gillings, 2014; Sabbagh Rajabnia, Maali, & Ferdosi-Shahandashti, 2021). Sin embargo, en los integrones de bacterias ambientales los casetes de resistencia constituyen solo una fracción del casete metagenómico y en su lugar se han identificado genes de metabolismo secundario, propiedades de superficie, mantenimiento de plásmidos, virulencia, sistemas toxina-antitoxina y/o resistencia a fagos. Estos casetes serán la fuente para el descubrimiento de nuevas funciones que puedan ser aplicadas con fines biotecnológicos revirtiendo el daño que producen los integrones al generar bacterias multirresistentes a los antibióticos (Cambray et al., 2010; Koenig et al., 2009, 2011).

### Clasificación de genes casete

Los integrones son elementos que poseen sistemas de recombinación con la capacidad de integrar, expresar, intercambiar o excluir casetes genéticos. Dependiendo del tipo de Integrasa se clasifican del I al VIII (Domingues et al., 2012).

### Integrones de importancia clínica: Clase I, Clase II y Clase III

**Clase I.** Descubiertos en un plásmido de 29-kb de *Corynebacterium glutamicum*, en 1998. Son responsables de la mayoría de reportes de resistencia a antibióticos y, por tanto, los de mayor relevancia clínica. Están asociados con la mayor diversidad de casetes de genes y

se encuentran en una gran variedad de especies. Estos integrones contienen un determinante de resistencia *aadA2*, que codifica para un aminoglucósido adeniltransferasa resistente a estreptomina-espectinomicina (Deng et al., 2015; Gillings, 2014; Sabbagh et al., 2021).

Un rango de beta-proteobacterias <sup>8</sup>no patógenas (ambientales) albergan estos integrones cromosomales, como los géneros *Acidovorax*, *Aquabacterium*, *Azoarcus*, *Hydrogenophaga*, *Imtechium* y *Thauera*, esta clase presenta una diversidad en la secuencia del gen *intl1*, y poseen casetes de función desconocida. Sin embargo, los genes de integrasa de aislamientos clínicos son idénticos, sugiriendo que estos integrones clase 1 clínicos descienden de una variante de una secuencia *intl1* proveniente de las ambientales (Gillings, 2014).

Se encuentran del 5 al 30% en bacterias, e intercambian genes casetes de manera dinámica, además la integrasa incorpora genes casetes de otros genes cromosomales. Son el principal factor de diseminación de resistencia antibiótica. Derivan del integrón-Tn402, el 50% poseen el gen *qacEdelta1*, cuya presencia es ancestral en los integrones de clase 1 (Gillings, 2014; Partridge et al., 2018).

Con el uso de la sulfamida, la evolución de los integrones de clase 1 clínicos involucra la adquisición del gen *sul1*, codifica para una variante de la dihidropteroato sintasa. Es así cómo se genera el segmento 3' conservado (3'CS) de los integrones clase 1 clínicos. Con el tiempo estos integrones han adquirido genes casete que confieren resistencia a la mayoría de las clases de antibióticos usados en el tratamiento de bacterias gramnegativas (Gillings, 2014).

Se conocen ~130 casetes genéticos de resistencia antibiótica. La transformación y conjugación han provocado que estos integrones se encuentren entre 40 y 70% de los patógenos gramnegativos de importancia clínica como *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Burkholderia*, *Campylobacter*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* y *Salmonella* (Akrami, Rajabnia, & Pournajaf, 2019; Gillings, 2014).

**Clase II.** Están asociados a Tn7 y poseen menos del 50% de similitud con los integrones de clase 1. El gen *intl2* de la clase II es menos activo, debido al desplazamiento de un codón de paro, por lo que se cree que esta clase está limitada en la adquisición de casetes genéticos. Están constituidos por *dfr1*, *sul1* y *aadA1* y se reportan en *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Salmonella enterica* y *Burkholderia*. Se han encontrado en *E. coli* patógena, ambiental y comensal, pero con una menor frecuencia, ya que la integrasa de clase 2 que albergan está inactiva (Akrami et al., 2019; Kaushik Kumar, Kapoor, Virdi, & Gulati, 2018; Partridge et al., 2018).

**Clase III.** Se identificó en *Serratia marcescens* en 1993, en Japón. Están asociados a Tn402 y codifican las betalactamasas *bla-IMP-1* (enzimas metalo-β-lactamasas) y *aacA4* de resistencia a tobramicina. Recientemente se encontró que posee *blaGES-1* (una beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE) dentro de *plncQ* de *E. coli* (Akrami et al., 2019; Partridge et al., 2018).

---

<sup>8</sup> Clase de bacterias pertenecientes al filo Proteobacteria que comprende más de 75 géneros y 400 especies.

### Otras Clases: Clase IV, clase V, clase VI y clase VII

**Clase IV.** Clasificación que solía ser usada para referirse a un superintegrón localizado en el cromosoma de *Vibrio cholerae*, y en los géneros *Vibrionaceae*, *Shewanella*, *Xanthomonas*, *Pseudomonas* y otras proteobacterias. Portan casetes de genes de resistencia al cloranfenicol y a la fosfomicina (Partridge et al., 2018; Sabbagh et al., 2021).

**Clase V.** Junto a los integrones de clase IV, se han denominado como integrones "móviles", estos parecen ser bastante raros. Se han encontrado en transposones compuestos, transportados en pRSV1 de *Aliivibrio salmonicida* (Cambray et al., 2010; Partridge et al., 2018).

**Clases VI, VII y VIII.** Se ha descrito un representante por cada clase en *Treponema denticola*, *Geobacter sulfurreducens* y *Shewanella putrefaciens*, respectivamente. Sus integrasas poseen una homología de 45-50% con Int11. Solo los integrones clase 6 y 7 poseen un gen casete de función desconocida y ninguno en el de la clase 8 (Sabaté & Prats, 2002).

**Transferencia Genética Horizontal (HGT) de la resistencia mediada por integrones.** Este fenómeno que ocurre en múltiples comunidades bacterianas (intra e interespecie) promueve la rápida adaptación al estrés ambiental y la generación de perfiles variables de resistencia antibiótica. Para que pueda llevarse a cabo se requiere una movilización eficiente del material genético codificante. En el caso de los casetes de resistencia y se requiere que los integrones donde están contenidos se encuentren unidos a MGE como plásmidos conjugativos, IS o Tn, los cuales fungen como reservorios de información y sitios de recombinación (Domingues et al., 2012). La tabla 1 muestra las IS específicas asociadas a casetes de resistencia, el modelo bacteriano que posee los sitios diana de unión y los genes relacionados a la multidrogorresistencia (Partridge et al., 2018). Existen varios tipos de Tn que transportan genes casete (tabla 2); los genes de resistencia se asocian a Tn de la familia Tn3 y la superfamilia de transposones Tn7-like. La primera consta de tres Tn denominados Tn1, Tn2 y Tn3, transportan los genes *bla<sub>TEM</sub>* y poseen una secuencia repetida invertida (IR) terminal de ~35pb, la cual flanquea al gen de la transposasa *tnpA* (~3 kb). Además, poseen un gen de resolvasa (*tnpR*) y un sitio de resolución, *res*. La familia relacionada con Tn7 contiene los elementos Tn7 y Tn402-like presentes en gramnegativas y Tn 552 en *Staphylococcus* (Kumar, 2020; Partridge et al., 2018).

Tabla 1

Familias de secuencias de inserción (IS) ligadas a casetes de resistencia antibiótica de integrones y modelos bacterianos en los que se presentan

Familia	IS	Modelo bacteriano	Gen(es) de resistencia
Familia IS6	IS26 (IS6)	Gramnegativo	Resistencia Kanamicina -Gen <i>aphA1</i>
		Grampositivo Enterococos	Resistencia Estreptomicina -Gen <i>str</i> y <i>aadE</i> Resistencia Vancomicina -Gen <i>vanA</i> Resistencia Penicilinas -Gen <i>blaZ</i>
	IS1216	Grampositivo Estafilococos	Resistencia Tetraciclina/Minociclina -Gen <i>tet(M)</i>
			Resistencia Bacitracina -Gen <i>bcrAB</i> Resistencia Trimetoprim -Gen <i>dfkK</i> Resistencia Fosfomicina -Gen <i>fosB5</i> Resistencia Estreptomicina -Gen <i>sat4</i> Resistencia Tetraciclina -Gen <i>tet(K)</i> y <i>tet(L)</i> Resistencia Estreptogramina A -Gen <i>vat(A)</i>
Familia IS1380	ISEcp1	Gramnegativo <i>Escherichia coli</i>	Resistencia Cefalosporinas de 3 <sup>o</sup> generación -Gen <i>bla<sub>CTX-M-1</sub></i> , <i>bla<sub>CTX-M-2</sub></i> , <i>bla<sub>CTX-M9</sub></i> y <i>bla<sub>CTX-M-25</sub></i>
	IS1247		Resistencia Aminoglucósidos y Rifampicina -Gen <i>aac(3)-IIf-arr</i>
	ISKnp23		Resistencia Carbapenems -Gen <i>bla<sub>BKC</sub></i> Resistencia Gentamicina y Tobramicina -Gen <i>aac(3)-IIfb</i>

Nota: Modificado de Partridge et al. (2018).

Tabla 2  
Transposones de importancia clínica, modelo bacteriano que posee los sitios blancos de transposición y genes relacionados a la multidrogorresistencia

CLASE	Tn	MODELO BACTERIANO	GEN(S) DE RESISTENCIA
Familia Tn 3	Tn1 Tn2 Tn3	Gramnegativos	Resistencia a $\beta$ -lactamasas incluido BLEE -Gen <i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>KPC</sub>
	Tn5393		Resistencia a estreptomicina -Gen <i>strAB</i>
	Tn1546	Grampositivos (plásmido conjugativo en <i>Enterococcus</i> sp. y <i>S.</i> <i>aureus</i> (MRSA))	Resistencia a vancomicina y ocasionalmente fosfomicina -Gen <i>vanA</i> ( <i>vanRS</i> ) o <i>fosB3</i>
	Subfamilia Tn21	Gramnegativos	Operón de resistencia al mercurio ( <i>mer</i> )
	Subfamilia Tn 21 (6452)	Enterobacterias Gramnegativas  <i>Salmonella</i> spp. <i>Escherichia coli</i> <i>Cupriavidus gilardii</i>	Resistencia indeterminada -Gen tipo <i>mcr</i> y <i>mcr-5</i>
	Subfamilia Tn 1721	Gramnegativos	Resistencia a tetraciclina -Gen <i>tet</i> (A)
Tn 7-like	Tn 4401 (Tn3-like)	Enterobacterias Gramnegativas	Resistencia a carbapenems -Gen <i>bla</i> <sub>KPC</sub>
	Tn7	Gramnegativas	Resistencia a estreptomicina y espectinomicina, <i>aadA1</i> Resistencia estreptomicina, <i>sat2</i> Resistencia trimetoprima, <i>dfrA1</i>
	Tn402 (Tn5090)		Resistencia trimetoprima, <i>dfrB3</i>
	Tn552	<i>S. aureus</i>	Resistencia a penicilina, <i>blaZ</i>

Nota: Modificado de Partridge et al. (2018).

### Padrón de resistencia. Algunos ejemplos

**Casetes de resistencia a antibióticos en gramnegativas.** La resistencia antibiótica en bacterias gramnegativas implicadas en infecciones comunitarias y nosocomiales es una preocupación de salud pública mundial. Algunas de estas bacterias forman parte de la microbiota<sup>9</sup> intestinal y ambiental. La capacidad de las bacterias para diseminar genes a

<sup>9</sup> Población de bacterias que habitan en simbiosis en un sitio específico del huésped.

través de la HGT ha provocado la rápida adquisición de resistencia antimicrobiana no solo en bacterias patógenas sino también en bacterias comensales (Rubin et al., 2020).

Más de 70 diferentes genes casete que pertenecen a integrones clase I confieren a las enterobacterias, resistencia a la mayoría de los fármacos betalactámicos pero también a aminoglucósidos, trimetoprima, rifampicina, cloranfenicol y eritromicina sin embargo existe un crecimiento en la prevalencia de BLEE (Rubin et al., 2020). Los genes de resistencia a betalactámicos asociados a casetes principalmente codifican serin-betalactamasas clase A (hidrolizan carbenicilina) y clase D (hidrolizan oxacilina y son resistentes a ácido clavulánico) así como metalo-betalactamasa clase B (confieren resistencia imipenem) Vg. *blaTEM*, *blaCTX-M*, *blaSHV* y *blaOXA*.

En especies como *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter* se ha encontrado una prevalencia considerable de *blaGES*, *blaOXA* y *blaIMP* (Barraud, Casellas, Dagot, & Ploy, 2013; Cao et al., 2014; Simo Tchuinte et al., 2016; Yamaji et al., 2018). Otros genes de resistencia antimicrobiana de importancia son los de resistencia a trimetoprima o *dhfr* (dihidrofolato reductasas resistentes), renombrados como *dfrA*. Los más frecuentes en estudios de epidemiología en aislados clínicos y no clínicos son *dfrA1*, *dfrA5*, *dfrA7*, *dfrA12* y *dfrA14*, y la nueva familia *dfrB* (Hall & Collis, 1998). Los genes *catB* relacionados con la resistencia a cloranfenicol pertenecen a la familia de cloranfenicol acetiltransferasas. Otro grupo de genes *cmlA*, codifican una proteína de membrana interna que confiere resistencia mediante un eflujo activo. Los genes de resistencia a estreptomina y espectinomina son *aadA1* y *aadA2*, respectivamente, y codifican adenililtransferasas. Vg. AAD(3'') que provoca resistencia a ambos antibióticos y se encuentra codificada en el transposón Tn21 y Tn7 (Hall & Collis, 1998).

**Casetes de resistencia a antibióticos en grampositivas.** Hasta el 2015, se reportaron integrones de clase I en *Corynebacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Aerococcus* spp. y *Brevibacterium* spp., siendo *aadA* el casete más encontrado. El primer reporte de integrón de clase I fue en 1998 en un plásmido asociado a resistencia a estreptomina-espectinomina de *Corynebacterium glutamicum* (Deng et al., 2015).

Muy poco se ha documentado sobre resistencia en integrones clase I de bacterias grampositivas. Guney, Yildirim y Durupinar (2014) fueron los primeros en reportar integrones en aislados clínicos de estafilococos, donde se resalta la resistencia a meticilina, quinolonas, aminoglucósidos y macrólidos (Guney et al., 2014). En otro estudio realizado en China en 2006 se analizaron 46 cepas clínicas de grampositivas (*E. faecalis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. warneri*, *Streptococcus* spp.) recolectadas en un hospital, todos los aislamientos fueron resistentes a al menos uno de los antibióticos usados. Los investigadores consideran que la resistencia en grampositivos empezó a incrementarse desde 1986 y desde entonces se ha convertido en un gran problema (Shi et al., 2006).

### **Integrones como futura herramienta biotecnológica**

**Relevancia clínica.** Una importante aplicación es la detección de casetes basada en la homología de la secuencia más prevalente en el metagenoma<sup>10</sup>. Se reportó que ≈ 600 casetes son ubicuos desde Antártida, Australia, Canadá, Francia, entre otros, y han estado presentes de forma global a pesar de que provienen de diferentes ambientes. Estos

---

<sup>10</sup> Conjunto de genes microbianos de un ecosistema determinado.

codifican para proteínas de virulencia como permeasas, peptidasa, glicosil transferasa, N-acetiltransferasa y nucleotidil transferasa, proteínas hierro-azufre, un regulador transcripcional de la familia XRE, enzimas de resistencia a fagos como son endonucleasas, metilasas y CRISPR-Cas3. Esto último plantea un problema para el uso futuro de la terapia con fagos como alternativa a la antibioterapia. Se han descrito integrones con casetes de virulencia Vg: lipocalinas, polisacáridos de superficie, enterotoxinas, etc (Ghaly, Geoghegan, Tetu, & Gillings, 2020).

Aunque 80% de los casetes secuenciados de integrones codifican para proteínas de función desconocida, es útil la estrategia de usar PCR para detectar los integrones de fuentes que pueden ser reservorio de resistencia y/o virulencia, sobre todo en ambientes clínicos como los efluentes hospitalarios y desechos farmacéuticos. Las investigaciones futuras deberán enfocarse en estrategias de prevención de propiedades de los integrones que promueven la colonización e invasión al huésped, tales como la formación de biopelículas, señalización, adhesión a la superficie celular, secreción, respuestas al estrés, desintoxicación o adquisición de nutrientes. A medida que los patógenos se vuelven cada vez más resistentes a los antibióticos, la captura de genes casetes aumentan la virulencia proporcionando ventajas selectivas adicionales. Los patógenos no sólo desarrollarán resistencia a antibióticos, sino adquirirán una mayor capacidad de evasión del sistema inmune, teniendo un papel significativo en los años por venir (Ghaly et al., 2020; Koenig et al., 2008).

**Manipulación de integrones.** El metagenoma de los casetes genéticos es un recurso con el potencial de ser utilizado por diversas bacterias con fines biotecnológicos. Los integrones pueden muestrear cualquier casete genético manteniendo su fenotipo original. Sin embargo, los casetes pueden sufrir duplicación y una de las copias sufrir mutaciones que pueden conducir a su diversificación y a la generación de funciones nuevas o alteradas. Los procesos de escisión e inserción también son responsables del arreglo de casetes en los integrones (Ghaly et al., 2020). El control para la adquisición, el reordenamiento y la expresión de genes dentro de un sistema vivo permite manipular la actividad de los integrones. Esto se ha realizado a través de clonación de casetes de genes cromosómicos en integrones dentro de plásmidos para futuras aplicaciones. Uno de los métodos más modernos ha sido la adquisición de casetes de genes sintéticos y naturales de integrones preexistentes, este es un método alternativo para la clonación molecular que no depende de la selección de un vector.

Por ingeniería genética se han logrado "transformar"<sup>11</sup> naturalmente a *E. coli* y a *Ps. stutzeri* con casetes genéticos reporteros como el que codifica la proteína verde fluorescente (*gfp*) y el gen de la lactosa (*lacZY*), logrando la recombinación y expresión genética de estos casetes catabólicos en integrones (Gestal, Liew, & Coleman, 2011; Ghaly et al., 2020). La manipulación de los integrones ha resultado de interés en la biología sintética porque la mayoría de las enzimas utilizadas en la industria son producidas por microorganismos. Por ende, las industrias buscan producir enzimas de mejor calidad y mayor rendimiento, usando manipulación de la dupla integrón-integrasa. Es así que la captación y reordenamiento de genes casete sintéticos o naturales dentro de los integrones busca optimizar o generar nuevas vías bioquímicas de interés y mejorar el genoma de microorganismos. Un ejemplo exitoso fue la optimización de la expresión del operón

---

<sup>11</sup> Transformación genética. Proceso por el cual el ADN exógeno que se encuentra en el ambiente se introduce a través de la membrana bacteriana, se incorpora al genoma y se expresa. La célula resultante recibe el nombre de transformante.

triptófano en *E.coli*, que generó un incremento en la producción de triptófano, once veces respecto a la cepa silvestre (Ghaly et al., 2020).

**La promesa de los integrones.** Los integrones generan grandes expectativas gracias a su potencial uso industrial, en la medicina, biotecnología y biología sintética. Existen dos vías de investigación, el análisis del casete metagenómico en busca de enzimas relevantes para la industria y el control de la actividad de los integrones y la formación de casetes de genes para manipular el genoma. Las enzimas de origen microbiano han permitido el desarrollo de procesos industriales más eficaces debido a su amplio repertorio de funciones, además de que los procesos de su obtención son ambientalmente sostenibles; por ende, la investigación para la producción de enzimas con potencial de nuevos usos biotecnológicos para la industria está siendo altamente financiada (figura 3) (Uchiyama & Miyazaki, 2009). Los genes casete pueden ser clonados en todo tipo de bacterias por medio de la recombinación, lo que permite una selección de alto rendimiento para examinar el vasto contenido de funciones codificadas dentro de los casetes. Muchos de los casetes codifican diversas enzimas relacionadas con la biodegradación de compuestos xenobióticos, aislados de sedimentos contaminados. Como un ejemplo, usando secuenciación de RNAr16S y métodos moleculares que identifican sitios *attC* conservados, se reportó dentro del metagenoma de casetes, extraído de lodos de un estuario contaminado con desechos industriales en Sydney, Australia, una proteína reguladora. Esta proteína es responsable de la expresión de genes que biodegradan el clorocatecol y diclorofenol (figura 4) (Elsaied et al., 2011; Gillings, 2014; Koenig et al., 2009).

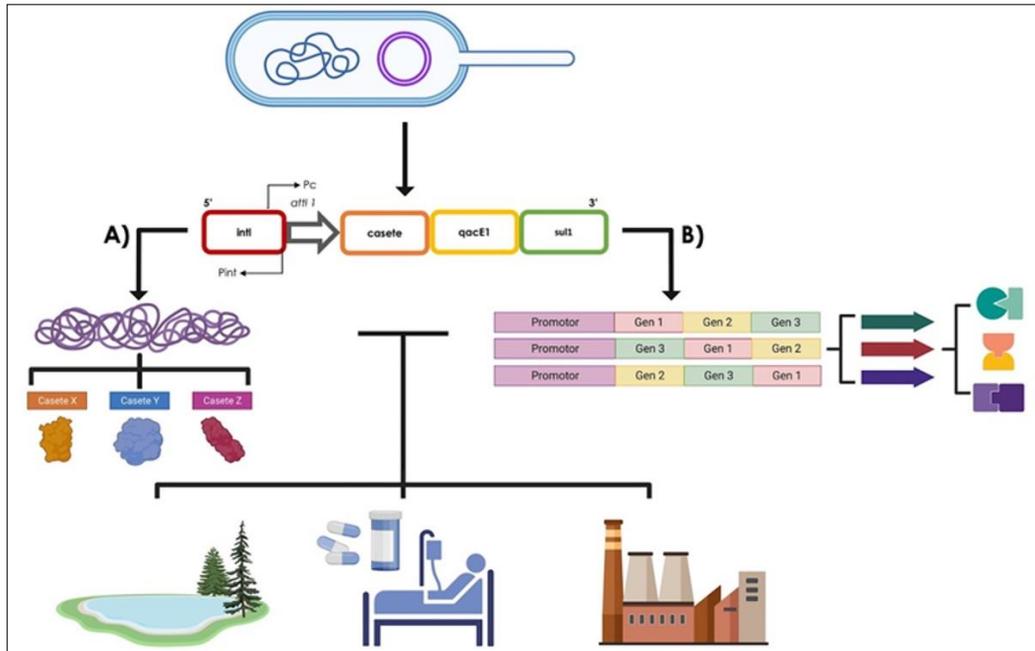


Figura 3. Métodos biotecnológicos y áreas de aplicación del conocimiento de los integrones. A) Análisis del casete metagenómico y control de la actividad de los integrones. Manejo del pool genético para la búsqueda de enzimas conocidas y el descubrimiento de nuevas, ingeniería metabólica, diseño aleatorio de redes reguladoras biosintéticas y/o reorganización de dominios proteicos. B) Ingeniería de casetes de genes. Selección, adquisición, reorganización y expresión de una plataforma de integrones sintéticos dentro de un entorno de interés por métodos de selección artificial. Ambas vías orientadas hacia la biosíntesis de moléculas con potencial en biorremediación, terapéutico e industrial. Creado con BioRender.com.

La selección funcional de casetes aislados de bacterias extremófilas que proliferan en condiciones ambientales extremas o aquellas no cultivables ha dado pauta al descubrimiento de nuevas enzimas con muchas utilidades en la industria. Se ha descrito un método de captura de integrones por PCR, independiente de cultivo, usando una región de recombinación de 59pb conservada del extremo de los casetes de integrones y muestras de DNA ambiental (agua dulce y marina y suelo), se descubrieron enzimas reportadas como fosfotransferasas, DNA glicosilasas, metil- y tiotransferasas y proteínas aún no conocidas (Koenig et al., 2011; Stokes et al., 2001). El estudio del metagenoma de bacterias sometidas a presiones ambientales generadas artificialmente trata de incentivar la investigación con el fin de identificar genes que codifiquen para funciones de interés. La selección por métodos artificiales potencialmente expondrá un gran número de genes funcionalmente deseables que naturalmente serían difíciles de expresar e identificar, por lo que se esperan incalculables descubrimientos gracias a la increíble diversidad del metagenoma bacteriano (Kan & Joshi, 2019; Koenig et al., 2009). El control de la actividad de la integrasa y manejo en la creación de genes casetes es otra promesa de los integrones. El primer proceso está bajo el control de la respuesta del SOS bacteriana; mientras que en el segundo caso es lo que está por describirse, esto nos proporcionará un dominio total dentro de la biología sintética (Kan & Joshi, 2019).



Figura 4. Área de aplicación del conocimiento de los integrones. Se han reportado vías orientadas a la biosíntesis de moléculas con potencial en biorremediación. Fotografía del equipo de investigación.

## CONCLUSIONES

Los integrones son estructuras genéticas que le permiten a las bacterias de importancia clínica y ambientales adaptarse a diferentes nichos. Los integrones más estudiados son los que confieren resistencia antibiótica y han generado superbacterias multidrogoresistentes que complican el tratamiento de las enfermedades. La manipulación in vitro de los integrones como estructuras modulares tiene el potencial biotecnológico para ser usada en terapia alternativa, biorremediación e industrial. En un futuro se espera que estas aplicaciones generen nuevas moléculas para tratar las enfermedades por bacterias multiresistentes a los antibióticos para degradar compuestos contaminantes y generar otras proteínas de uso industrial.

## REFERENCIAS

- Akrami, F., Rajabnia, M., & Pournajaf, A. (2019). Resistance integrons. Mini review. *Caspian Journal of Internal Medicine*, 10(4), 370–376. doi: 10.22088/cjim.10.4.370
- Barraud, O., Casellas, M., Dagot, C., & Ploy, M.-C. (2013). An antibiotic-resistant class 3 integron in an *Enterobacter cloacae* isolate from hospital effluent. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(7), E306-E308. doi: 10.1111/1469-0691.12186
- Cambray, G., Guerout, A.-M., & Mazel, D. (2010). Integrons. *Annual Review of Genetics*, 44, 141-166. doi: 10.1146/annurev-genet-102209-163504
- Cao, X., Xu, X., Zhang, Z., Shen, H., Chen, J., & Zhang, K. (2014). Molecular characterization of clinical multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 13, 16. doi: 10.1186/1476-0711-13-16
- Deng, Y., Bao, X., Ji, L., Chen, L., Liu, J., Miao, J., ... Yu, G. (2015). Resistance integrons: Class 1, 2 and 3 integrons. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 14, 45. doi: 10.1186/s12941-015-0100-6
- Di Conza, J. A., & Gutkind, G. O. (2010). Integrones: Los coleccionistas de genes. *Revista Argentina de Microbiología*, 42, 63-78. Recuperado de <http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v42n1/v42n1a14.pdf>
- Domingues, S., da Silva, G. J., & Nielsen, K. M. (2012). Integrons. Vehicles and pathways for horizontal dissemination in bacteria. *Mobile Genetic Elements*, 2(5), 211-223. doi: 10.4161/mge.22967
- \_\_\_\_\_ (2015). Global dissemination patterns of common gene cassette arrays in class 1 integrons. *Microbiology*, 161(7), 1313-1337. doi: 10.1099/mic.0.000099
- Elsaied, H., Stokes, H. W., Kitamura, K., Kurusu, Y., Kamagata, Y., & Maruyama, A. (2011). Marine integrons containing novel integrase genes, attachment sites, *attI*, and associated gene cassettes in polluted sediments from Suez and Tokyo Bays. *The ISME Journal*, 5(7), 1162-1177. doi: 10.1038/ismej.2010.208
- Fonseca, E. L., & Vicente, A. C. (2022). Integron functionality and genome innovation: An update on the subtle and smart strategy of integrase and gene cassette expression regulation. *Microorganisms*, 10(2), 224. doi: 10.3390/microorganisms10020224
- Gestal, A. M., Liew, E. F., & Coleman, N. V. (2011). Natural transformation with synthetic gene cassettes: New tools for integron research and biotechnology. *Microbiology*, 157(12), 3349-3360. doi: 10.1099/mic.0.051623-0
- Ghaly, T. M., Geoghegan, J. L., Tetu, S. G., & Gillings, M. R. (2020). The peril and promise of integrons: Beyond antibiotic resistance. *Trends in Microbiology*, 28(6), 455-464. doi: 10.1016/j.tim.2019.12.002
- Gillings, M. R. (2014). Integrons: Past, present, and future. *Microbiology and Molecular*

*Biology Reviews*, 78(2), 257-277. doi: 10.1128/mmbr.00056-13

- González, G., Mella, S., Zemelman, R., Bello, H., & Domínguez, M. (2004). Integrones y cassettes genéticos de resistencia: Estructura y rol frente a los antibacterianos. *Revista Médica de Chile*, 132(5), 619-626. doi: 10.4067/s0034-98872004000500013
- Guney, A. K., Yildirim, T., & Durupinar, B. (2014). A study on class I integrons and antimicrobial resistance among clinical staphylococci isolates from a Turkish hospital. *Clinical Microbiology: Open Access*, 3(6), 1000173. doi: 10.4172/2327-5073.1000173
- Hall, R. M., & Collis, C. M. (1995). Mobile gene cassettes and integrons: Capture and spread of genes by site-specific recombination. *Molecular Microbiology*, 15(4), 593-600. doi: 10.1111/j.1365-2958.1995.tb02368.x
- \_\_\_\_\_ (1998). Antibiotic resistance in gram-negative bacteria: The role of gene cassettes and integrons. *Drug Resistance Updates*, 1(2), 109-119. doi: 10.1016/S1368-7646(98)80026-5
- Kan, A., & Joshi, N. S. (2019). Towards the directed evolution of protein materials. *MRS Communications*, 9(2), 441-455. doi: 10.1557/mrc.2019.28
- Kaushik, M., Kumar, S., Kapoor, R. K., Viridi, J. S., & Gulati, P. (2018). Integrons in *Enterobacteriaceae*: Diversity, distribution and epidemiology. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 51(2), 167-176. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.10.004
- Koenig, J. E., Boucher, Y., Charlebois, R. L., Nesbø, C., Zhaxybayeva, O., Bapteste, E., ... Doolittle, W. F. (2008). Integron-associated gene cassettes in Halifax Harbour: Assessment of a mobile gene pool in marine sediments. *Environmental Microbiology*, 10(4), 1024-1038. doi: 10.1111/j.1462-2920.2007.01524.x
- Koenig, J. E., Bourne, D. G., Curtis, B., Dlutek, M., Stokes, H. W., Doolittle, W. F., & Boucher, Y. (2011). Coral-mucus-associated *Vibrio* integrons in the Great Barrier Reef: Genomic hotspots for environmental adaptation. *The ISME Journal*, 5(6), 962-972. doi: 10.1038/ismej.2010.193
- Koenig, J. E., Sharp, C., Dlutek, M., Curtis, B., Joss, M., Boucher, Y., & Doolittle, W. F. (2009). Integron gene cassettes and degradation of compounds associated with industrial waste: The case of the Sydney Tar Ponds. *PLoS ONE*, 4(4), e5276. doi: 10.1371/journal.pone.0005276
- Kumar, A. (2020). Jump around: Transposons in and out of the laboratory. *F1000Research*, 9(F1000 Faculty Rev), 135. doi: 10.12688/f1000research.21018.1
- Mazel, D. (2006). Integrons: Agents of bacterial evolution. *Nature Reviews Microbiology*, 4(8), 608-620. doi: 10.1038/nrmicro1462
- Partridge, S. R., Kwong, S. M., Firth, N., & Jensen, S. O. (2018). Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(4), e00088-17. doi: 10.1128/CMR.00088-17
- Rubin, J., Mussio, K., Xu, Y., Suh, J., & Riley, L. W. (2020). Prevalence of antimicrobial resistance genes and integrons in commensal gram-negative bacteria in a college community. *Microbial Drug Resistance*, 26(10), 1227-1235. doi: 10.1089/mdr.2019.0279
- Sabaté, M., & Prats, G. (2002). Estructura y función de los integrones. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 20(7), 341-345. doi: 10.1016/s0213-005x(02)72813-9
- Sabbagh, P., Rajabnia, M., Maali, A., & Ferdosi-Shahandashti, E. (2021). Integron and its role in antimicrobial resistance: A literature review on some bacterial pathogens. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 24(2), 136-142. doi: 10.22038/ijbms.2020.48905.11208
- Shi, L., Zheng, M., Xiao, Z., Asakura, M., Su, J., Li, L., & Yamasaki, S. (2006). Unnoticed spread of class I integrons in gram-positive clinical strains isolated in Guangzhou, China. *Microbiology and Immunology*, 50(6), 463-467. doi: 10.1111/j.1348-0421.2006.tb03815.x
- Simo Tchuinte, P. L., Stalder, T., Venditti, S., Ngandjio, A., Dagot, C., Ploy, M.-C., & Barraud, O. (2016). Characterisation of class 3 integrons with oxacillinase gene cassettes in hospital sewage and sludge samples from France and Luxembourg. *International*

- Journal of Antimicrobial Agents*, 48(4), 431-434. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.06.018
- Stokes, H. W., & Hall, R. M. (1989). A novel family of potentially mobile elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. *Molecular Microbiology*. doi: 10.1111/j.1365-2958.1989.tb00153.x
  - Stokes, H. W., Holmes, A. J., Nield, B. S., Holley, M. P., Nevalainen, K. M. H., Mabbutt, B. C., & Gillings, M. R. (2001). Gene cassette PCR: Sequence-independent recovery of entire genes from environmental DNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(11), 5240-5246. doi: 10.1128/aem.67.11.5240-5246.2001
  - Uchiyama, T., & Miyazaki, K. (2009). Functional metagenomics for enzyme discovery: Challenges to efficient screening. *Current Opinion in Biotechnology*, 20(6), 616-622. doi: 10.1016/j.copbio.2009.09.010
  - Yamaji, R., Friedman, C. R., Rubin, J., Suh, J., Thys, E., McDermott, P., ... Riley, L. W. (2018). A Population-based surveillance study of shared genotypes of *Escherichia coli* isolates from retail meat and suspected cases of urinary tract infections. *mSphere*, 3(4), e00179-18. doi: 10.1128/mSphere.00179-18



Esta obra está bajo una licencia internacional [Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

Usted es libre de Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

Adaptar — remezclar, transformar y construir a partir del material

La licenciente no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Atribución — Usted debe dar crédito de manera adecuada, brindar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios. Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciente.

NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con propósitos comerciales.

CompartirIgual — Si remezcla, transforma o crea a partir del material, debe distribuir su contribución bajo la misma licencia del original.