"Del reservorio ambiental a las plataformas genéticas de los integrones de clase 1 asociados a multirresistencia antibiótica".

“Environmental reservoir of genetic platforms class 1 integrons associated with antibiotic multiresistance”.

Daniela Centrón, Maximiliano Nardelli, Marcelo Cassini, María Paula Quiroga

Laboratorio de Investigaciones en Mecanismos de Resistencia a Antibióticos, IMPAM (UBA/CONICET) Buenos Aires, Argentina.

**Palabras Clave:**integrones, resistencia a antibióticos, reservorio ambiental

Los integrones son estructuras genéticas presentes en el 17% de los genomas bacterianos capaces de mediar la recombinación sitio-específica de *cassettes* móviles, dando lugar así a una región variable muy dinámica que puede captar y a la vez donar genes con funciones muy variadas. Están compuestos de una integrasa, su sitio de reconocimiento y un promotor para la expresión de los *cassettes* que integran. Se han reportado innumerables casos de integrones asociados a la multirresistencia antibiótica, confiriendo resistencia a casi todos los antibióticos de uso médico. Los integrones de clase 1 son los más frecuentes en aislamientos clínicos, pero poco se sabe respecto de su dispersión en el ámbito no clínico. De hecho, la funcionalidad de las integrasas de clase 1 ambientales no ha sido aún analizada. Analizamos la funcionalidad de integrasas de clase 1 presentes en bacterias ambientales provenientes de diferentes habitats mediante ensayos *in vivo*. La funcionalidad de la integrasa se determinó por la capacidad de integración de los *cassettes aadB* y *bla*VIM-2 de resistencia a gentamicina y carbapenemes, respectivamente. Cada *cassette* fue incorporado en la bacteria ligado a un plásmido ColE1 comercial dentro de la estructura *attI1-aadB-attC* o *attI1- bla*VIM-2 *-attC*. De los 11 aislamientos, 5 resultaron ser competentes naturales (*Escherichia coli* 4IgSN1, *Pantoea dispersa* 10FZSS14, *Pseudomonas* sp. 1SL5, *Acinetobacter* sp. 1IgSLAM1 y *Acinetobacter* sp. 1IgSN3. Los 6 restantes (*Aeromonas media* 1AC2, *Vibrio* sp. 1AC4, *Aranicola* sp. 9AL34, *Pseudomonas* sp. 7AN1, *Enterobacter* sp. 10AL1 y *Enterobacter* sp. 1IgSLAM2) fueron hechos químicamente competentes con CaCl2 y transformados por *shock* térmico. La inserción del *cassette* en el sitio *attI1* nativo se evidenció por PCR con cebadores específicos y secuenciación en todos los aislamientos salvo en *Pseudomonas* sp. 7AN1. El *cassette* inserto fue mantenido en ausencia de presión de selección antibiótica al menos 30 días post-transformación en medio líquido subcultivando periódicamente en las cepas de *E. coli* y *Pseudomonas* sp. competentes naturales. Además, en estos aislamientos la presencia del *cassette* inserto, ya sea *aadB* o *bla*VIM-2 no demostraron tener un costo sobre el *fitness* de la bacteria en un experimento de competencia entre la cepa con y sin el *cassette*. Estos resultados plantean un escenario en el cual las bacterias provenientes tanto de la clínica como del ambiente intercambian material genético a través de un flujo bidireccional, siendo las bacterias ambientales reservorio de *cassettes* de resistencia antibiótica, y, al mismo tiempo, pueden brindar a las bacterias patógenas de humanos de nuevos *cassettes* con las funciones requeridas para la supervivencia en ambientes de *stress*, tal como es el nicho intrahospitalario.