

1. Wprowadzenie. 2. Charakterystyka integronów. 3. Integrony bakterii Gram-dodatnich. 3.1. Integrony *Corynebacterium* spp. 3.2. Integrony *Enterococcus* spp. 3.3. Integrony *Staphylococcus* spp. 3.4. Integrony *Streptococcus* spp. 3.5. Integrony innych gatunków bakterii Gram-dodatnich. 4. Podsumowanie

### Integrans in Gram-positive bacteria

**Abstract:** Integrans are genetic platforms responsible for integration, rearrangement and expression of resistance determinants called gene cassettes. Most of the reports on the occurrence, characteristics and evolution of integrans concern Gram-negative bacteria, whereas relatively little is known on the distribution and role of integrans in Gram-positive microorganisms. The aim of this review is to summarize the information about the occurrence of integrans in Gram-positive bacteria and their role in the spread of antimicrobial resistance.

1. Introduction. 2. Integron characteristics. 3. Integrans in Gram-positive bacteria. 3.1. Integrans in *Corynebacterium* spp. 3.2. Integrans in *Enterococcus* spp. 3.3. Integrans in *Staphylococcus* spp. 3.4. Integrans in *Streptococcus* spp. 3.5. Integrans in other Gram-positive species. 4. Summary

**Słowa kluczowe:** horyzontalny transfer genów, kasety genowe, lekooporność, plazmid

**Key words:** antimicrobial resistance, gene cassettes, plasmid, horizontal gene transfer

## 1. Wprowadzenie

Antybiotyki to drobnocząsteczkowe substancje pochodzenia naturalnego lub syntetycznego, które zabijają wrażliwe drobnoustroje, bądź hamują ich wzrost. Ich odkrycie stanowiło wielki przełom w historii medycyny, dostarczając niezwykle skutecznego środka do walki z infekcjami wywoływanymi przez mikroorganizmy. Jednak choroby zakaźne o etiologii bakteryjnej nadal pozostają jednym z ważniejszych wyzwań w obszarze zdrowia publicznego [38, 40, 41, 45]. Nadmierne, a często również niewłaściwe stosowanie antybiotyków w praktyce medycznej, weterynaryjnej oraz w rolnictwie, przyczyniło się do znacznego wzrostu lekooporności drobnoustrojów, ewolucji szczepów wcześniej niewrażliwych na szerokie spektrum antybiotyków i wreszcie nabycia znacznej oporności przez mikroorganizmy oportunistyczne [11, 12].

Ze względu na rosnące zagrożenie związane z coraz częstszym występowaniem szczepów wielolekoopornych, utrudniającym lub wręcz uniemożliwiającym skuteczne leczenie, antybiotykooporność uznana została za poważny problem medyczny w skali globalnej [5, 42–44], a uwaga naukowców skupiona została na wyjaśnieniu przyczyn tego zjawiska. Za szerzenie lekooporności odpowiada wiele mechanizmów, a za najważniejszy z nich uważa się horyzontalny transfer genów (HGT, Horizontal Gene Transfer). Oprócz dobrze poznanych elementów genetycznych odpowiedzialnych za HGT, takich jak plazmidy koniugacyjne

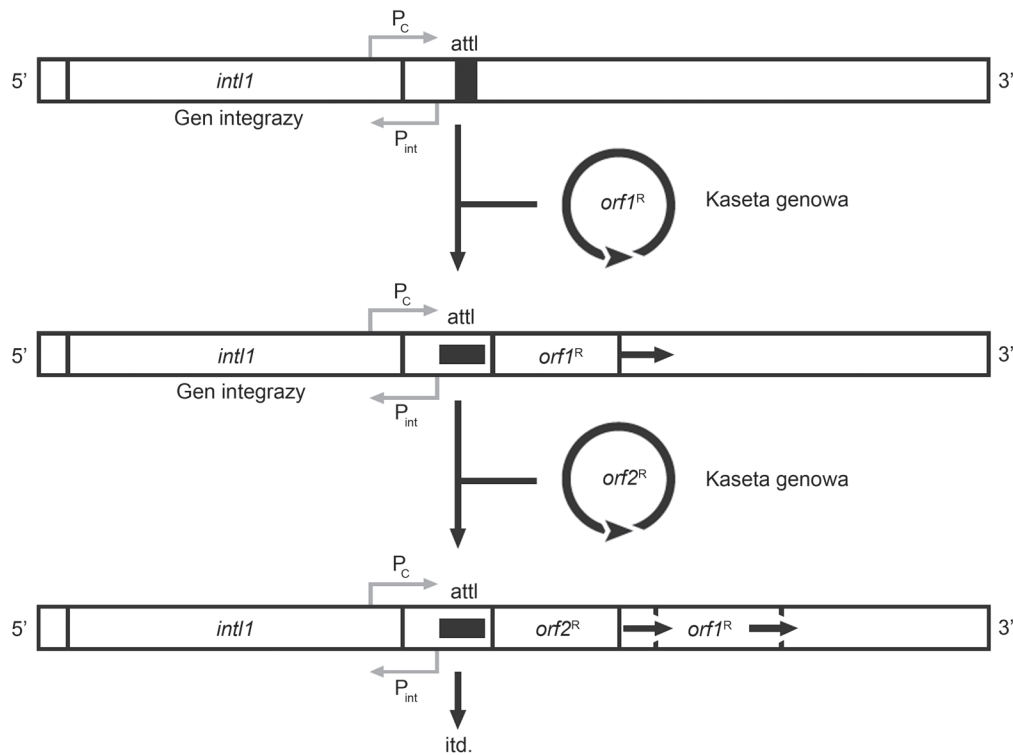
i transpozony, zidentyfikowano integrony, uznawane obecnie za jeden z najważniejszych czynników szerzenia lekooporności [8, 9, 19, 36].

## 2. Charakterystyka integronów

Integrony opisano po raz pierwszy w 1989 roku [36], początkowo uważając je za elementy charakterystyczne wyłącznie dla genomu bakterii Gram-ujemnych [18, 26]. Mają one zwartą strukturę. Często określane są mianem platform naturalnej inżynierii genetycznej, gdyż umożliwiają wbudowanie egzogennych otwartych ramek odczytu (zwanymi kasetami genowymi) i ich konwersję do funkcjonalnych genów, poprzez zapewnienie ich ekspresji [33, 36]. Włączenie kaset genowych w obręb liniowej struktury integronu odbywa się na zasadzie rekombinacji umiejscowionej (site-specific recombination), niezależnej od białka RecA. Podstawowymi elementami budowy integronu są: gen *intI*, kodujący integrację, sekwencja *attI*, będąca miejscem włączania kaset genowych, oraz promotor  $P_C$  [10, 14, 25] (Rys. 1).

Zmiennymi elementami integronu są kasety genowe, których wielkość mieści się w przedziale od 400 pz do 1 kpz. Poza integronem kasetę występuje w cytoplazmie jako kolistą, kowalencyjnie zamkniętą cząsteczką dwuniciowego DNA, którą od plazmidu odróżnia brak zdolności do autonomicznej replikacji [24]. Do tej pory odkryto ponad 130 kaset genowych związanych z antybiotykoopornością [30]. Każda kasetę zawiera miejsce *attC*, zwane dawniej miejscem 59-be. Jest to zmienny,

\* Autor korespondencyjny: Zakład Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, ul. Umultowska 89; 61-614 Poznań; tel. 61 8295939; e-mail: koczma@amu.edu.pl



Rys. 1. Struktura integronu klasy 1 i wbudowywanie kaset genowych

niezbyt silnie konserwatywny region o długości od 57 do 141 par zasad, warunkujący zajście rekombinacji umiejscowionej i wbudowanie kasety w miejsce *attI* integronu [8, 18]. Kluczowe dla *attC* są miejsca proste na dwóch końcach, określane jako sekwencje konsensusowe LH i RH (Left Hand, Right Hand). Każde z nich składa się z pary silnie konserwatywnych miejsc rdzennych (core sites), określanych odpowiednio jako 1L i 2L oraz 1R i 2R [14, 15]. Długość sekwencji łącznikowej między skrajnymi miejscami prostymi waha się od 17 do 117 pz, co wpływa na zmienną długość elementu *attC* [30].

W odróżnieniu od pozostałych enzymów z rodziny rekombinaz tyrozynowych, integraza IntI ma zdolność nie tylko włączania, ale i wycinania kaset genowych [26]. Umożliwia to rearanzację kaset w integronie, co ma duże znaczenie, gdyż ekspresja genów zawartych w kasetach zależy od promotora  $P_c$ , a fizyczne oddalenie genów od promotora znacznie osłabia ich transkrypcję [9].

Choć sam integron nie ma zdolności do przemieszczania się w obrębie genomu, znaczną mobilność uzyskuje poprzez sprzężenie z ruchomymi elementami genetycznymi: transpozonomi lub plazmidami koniugacyjnymi, co umożliwia rozpowszechnianie oraz wymianę genów oporności wśród wielu grup bakterii [3, 25].

Ze względu na różnice w sekwencji genu integrazy, integrony pogrupowano, wyróżniając pięć głównych klas, przy czym te należące do klas 1, 2 i 3 określa się jako integrony mobilne lub integrony oporności, zaś klasa 4 i 5 obejmuje integrony odrębnego typu, zwane superintegronami [6]. Do 1 klasy zaliczono większość

opisanych integronów. Ponieważ częstość ich występowania w izolatach klinicznych jest wysoka, zostały one najlepiej zbadane [44]. Wykrywane są one również u bakterii środowiskowych [27, 35], a ich obecność może być skorelowana ze zwiększonym potencjałem chorobotwórczym szczepu gospodarza [23]. Integrony klasy 2 wykazują strukturalne podobieństwo do integronów klasy pierwszej; składają się z genu integrazy, *intI2*, promotora *PinA1* oraz miejsca *attI2*. Podobieństwo między sekwencjami aminokwasowymi genów *intI1* i *intI2* jest mniejsze niż 50%, lecz integraza klasy drugiej nie jest funkcjonalna, bowiem zawiera w połowie ramki odczytu kodon stop. Jedną z hipotez zakłada, że *intI2* jest pseudogenem, według innej może to być gen regulatorowy, sprzężony z funkcjonalnym *intI1* [20]. Integrony klasy 2 są znacznie rzadziej spotykane, a ich występowanie stwierdzano m.in. w szczepach *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Acinetobacter baumannii* i *Burkholderia cepacia* [1, 2, 8, 17, 21]. Występowanie integronów klasy 3 ogranicza się do kilku gatunków mikroorganizmów, m.in. *Acinetobacter* spp., *Alcaligenes* spp., *Citrobacter freundii*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Salmonella* spp. i *Serratia marcescens* [40].

Superintegrony to duże struktury zawierające ponad 20 kaset genowych, po raz pierwszy zidentyfikowane u *Vibrio cholerae*, w drugim, mniejszym chromosomie [4]. Największe superintegrony wykryto u *Vibrio vulnificus* (217 kaset genowych, kodujących różnorodnie białka, głównie o nieznanym funkcjach) i *V. cholerae*

(179 kaset), [6]. W przeciwieństwie do klasycznych integronów, superintegrony nie są związane z mobilnymi elementami genetycznymi. Elementy takie opisano dotychczas u: *Vibrionaceae*, *Shewanella* sp., *Xanthomonas* sp., *Pseudomonas* sp. oraz innych *Proteobacteria* [40, 41].

### 3. Integrony bakterii Gram-dodatnich

Większość opublikowanych danych na temat integronów dotyczy bakterii Gram-ujemnych [3, 8, 9, 18, 19, 24–26]. Początkowo, brak doniesień o obecności integronów u bakterii Gram-dodatnich skłonił badaczy do uznania ich za struktury charakterystyczne tylko dla bakterii Gram-ujemnych [18]. Sytuacja zmieniła się w 1998 r., kiedy opisano pierwszy integron szczepu bakterii Gram-dodatniej – *Corynebacterium glutamicum* [29]. Był to integron klasy 1, zlokalizowany w obrębie plazmidu. Wkrótce obecność integronów stwierdzono w innych gatunkach Gram-dodatnich, zarówno w izolatach klinicznych, jak i środowiskowych [28].

#### 3.1. Integrony *Corynebacterium* spp.

Opisano dotychczas integrony szczepów trzech gatunków bakterii z rodzaju *Corynebacterium*: *C. casei*, *C. ammoniagenes*, *C. glutamicum*, przy czym najlepiej poznano te elementy w *C. glutamicum*. W tym gatunku integrony klasy 1 zidentyfikowano w obrębie dwóch plazmidów typu R (Resistance): pCG4, o wielkości 29 kbp, determinującym oporność na streptomycynę i spektomycynę oraz pTET3, o wielkości 27,8 kbp, warunkującym oporność na streptomycynę, spektynomycynę i tetracyklinę [29, 37].

Plazmid pCG4, zawierający pierwszy integron odkryty u bakterii Gram-dodatnich, został opisany w szczepie *C. glutamicum* T250 (ATCC 31830). Wykazano, że plazmid ten jest zdolny do replikacji także w innych gatunkach bakterii, w *Corynebacterium herculis*, *Brevibacterium flavum* i *Microbacterium ammoniaphilum* [22]. Integron plazmidu pCG4 zawiera pojedynczą kasetę genową, *aadA2a*, warunkującą oporność na streptomycynę i spektynomycynę. Jego sekwencja jest niemal identyczna z sekwencją integronu plazmidu pSA1700, występującego w szczepie *Pseudomonas aeruginosa*. Różnice dotyczą jedynie dwóch substytucji nukleotydowych, z których jedna (G→C) występuje w genie *aadA2a*, a druga (C→G) w obrębie regionu –10 promotora P<sub>C</sub>. Obecność guaniny w tym regionie skutkuje zwiększoną aktywnością promotora integronu *C. glutamicum* w porównaniu ze typowym, „słabym” promotorem P<sub>C</sub> obecnym w integronach klasy 1 [29].

Plazmid pTET3, zidentyfikowany w szczepie *C. glutamicum* LP-6, zawiera unikalny integron klasy 1 z genem integrazy, zinaktywowanym w wyniku wbudo-

wania sekwencji insercyjnej IS6100. Region zmienny zawiera pojedynczą kasetę genową *aadA9*, której sekwencja wykazuje maksymalnie 61% podobieństwa do innych kaset typu *aadA*, obecnych w integronach wielu gatunków bakterii [37].

Poza *C. glutamicum*, integrony klasy 1 wykryto również w 10 izolatach *C. ammoniagenes* i trzech *C. casei*, wyosobnionych z obornika pochodzącego z ferm drożdżu w USA. W przypadku integronu *C. ammoniagenes*, region zmienny zawierał kasety genowe *aadA1*, *aadA2*, *aadA9* oraz *dfrA1-aadA1*, natomiast w elemencie *C. casei* stwierdzono obecność kaset *aadA1*, *dfrA1* (warunkuje oporność na trimetoprim) oraz genu kodującego syntazę lipidu A [28].

Sprzężenie integronów *Corynebacterium* spp. z mobilnymi wektorami HGT, jakimi są plazmidy, pozwala na propagację tych elementów w obrębie całego rodzaju taksonomicznego. Dane, uzyskane przez Nandi'ego [28] sugerują, że integrony klasy pierwszej, różniące się rodzajem kaset genowych, są powszechne u *C. glutamicum*, *C. ammoniagenes* i *C. casei*. O transferze integronów między znacznie oddalonymi filogenetycznie grupami bakterii świadczyć może niemal całkowite podobieństwo integronu *C. glutamicum* z plazmidu pCG4 oraz integronu InC z *Pseudomonas aeruginosa* [29].

#### 3.2. Integrony *Enterococcus* spp.

Integrony wykryto w dwóch najczęściej izolowanych gatunkach bakterii z rodzaju *Enterococcus* – *E. faecalis* i *E. faecium*. Pierwsze doniesienie dotyczyło występowania genu *aadA1* w bezpośrednim sąsiedztwie genu integrazy *intI1*, w szczepie *E. faecalis* W4770, wyhodowanym z próbki materiału pobranego od pacjenta szpitala University of Wisconsin (USA) [7]. Geny te wykryto w plazmidzie pNCC801 o wielkości ok. 80 kbp, który był zdolny do transferu do komórek innego szczepu *E. faecalis*, JH2-2, z częstością rzędu  $3 \times 10^{-10}$ . Opisany przez Clarka i wsp. [7] fragment integronu o wielkości 1009 bp jest identyczny ze zdeponowanymi w bazie danych GenBank sekwencjami plazmidów *E. coli*, *Salmonella enterica*, *Shigella dysenteriae* czy *Enterobacter cloacae*.

Częste występowanie integronów stwierdzono również u enterokoków wyosobnionych od pacjentów szpitala Jinan University (Chiny). Integrony klasy 1 z izolatów *E. faecalis* najczęściej zawierały zestaw kaset genowych *dfrA12-orfF-aadA2*. Jeden z izolatów miał dwa integrony klasy 1, każdy z ciągiem kaset *dfrA12-orfF-aadA2* i *aadA2*. Dwa izolaty niosły jednocześnie integrony klasy 1 i 2, zawierające, odpowiednio, kasety *dfrA17-aadA5* i *dfrA1-sat1-aadA1*. Integrony te wykazywały bardzo duże podobieństwo sekwencji, wynoszące powyżej 99%, do integronów wykrytych u innych gatunków bakterii na terenie tego samego szpitala.

Ponadto, te same zespoły kaset genowych dominowały u różnych gatunków bakterii, zarówno Gram-dodatnich jak i Gram-ujemnych, co sugeruje ich rozprzestrzenianie wśród bakterii w środowisku szpitalnym [42].

### 3.3. Integrony *Staphylococcus* spp.

Pierwsze dane o obecności integronów w bakteriach z rodzaju *Staphylococcus* pochodzą z 2004 roku. Nandi i wsp. [28] wykryli integrony klasy 1 w szczepach 3 gatunków (*S. lentus*, *S. nepalensis* i *S. xylosus*), wyizolowanych z obornika z fermi drobiu. W szczepie ostatniego wymienionego gatunku, w regionie zmiennym zidentyfikowano gen transketolazy, natomiast pozostałe izolaty miały integrony „puste”, bez wbudowanych kaset genowych.

Integrony klasy 1 pochodzące z gronkowców wyhodowanych z materiałów pobranych od pacjentów szpitali poznano kilka lat później. W 2007 r. Xu i wsp. [39] wykryli je w izolatach klinicznych *S. aureus*. Wszystkie te integrony zawierały pojedynczą kasetę genową *aadA1*. Badania przeprowadzone przez ten sam zespół doprowadziły również do odkrycia integronów klasy 1 w 30 z 54 (55,6%) opornych na metycylinę szczepów gronkowców koagulazo-ujemnych: *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. haemolyticus* i *S. warneri*. Zidentyfikowano cztery zastawy kaset genowych: *dfrA1-orfF-aadA2*, *aacA4-cmlA1*, *dfrA17-aadA5* i *aadA2*. Co ciekawe, analiza metodą hybrydyzacji Southern blot wykazała, że we wszystkich szczepach integrony były zlokalizowane w chromosomie, a nie w plazmidach, co ma miejsce w przypadku większości integronów bakteryjnych.

Xu i wsp. [42] podali także dane o częstym występowaniu integronów klasy 1 w klinicznych szczepach *S. aureus* opornych na metycylinę (MRSA). Autorzy wykryli je w 76 ze 179 (42,5%) izolatów. Integrony te zawierały cztery zestawy kaset genowych: *dfrA1-orfF-aadA2*, *aacA4-cmlA1*, *dfrA17-aadA5* i *aadA2*, a więc takie same jak u opornych na metycylinę gronkowców koagulazo-ujemnych. Analizowane szczepy były izolowane w latach 2001–2006 od pacjentów z zakażeniami szpitalnymi. W poszczególnych latach odnotowywano najczęściej występowanie jednego zestawu kaset, co może świadczyć o możliwości przekazywania integronów wśród gronkowców na drodze HGT. Jednak z drugiej strony, chromosomowa lokalizacja integronów u gronkowców zdaje się przeczyć tej hipotezie [44]. Podsumowując, budowa integronów *Staphylococcus* spp. nie odbiega od ogólnego schematu. Uwagę zwraca ich konserwatyzm pod względem zawartości kaset genowych. Najbardziej rozpowszechnione są kasety genowe typu *aadA* (95,9%) i *drfA* (52,5%) a najczęściej występującym zestawem kaset jest *drfA12-orfF-aadA2* [39, 40, 44].

Obecność kaset genowych zawierających geny z rodziny *aadA* związana jest z opornością na strep-

tomycynę i spektynomycynę, *aacA4* determinuje oporność na aminoglikozydy, kasety z rodziny *drfA* zapewniają oporność na trimetoprim, a kasety *cmlA1* warunkuje oporność na chloramfenikol. Co więcej, obecność integronów u *Staphylococcus* spp. skorelowana jest z wielolekoopornością tych bakterii. Ren i wsp. ustalili [32], że integrony występują u 80% badanych szczepów MRSA opornych na 12 antybiotyków, podczas gdy w szczepach opornych na jeden antybiotyk, integrony obecne były tylko w 43,8% izolatów. W ostatnich latach zauważalna jest także tendencja wzrostowa w wykrywalności integronów klasy 1. W 2009 roku integron tej klasy zidentyfikowano u *Staphylococcus epidermidis*, a zawarte w nim kasety genowe związane były z opornością na aminoglikozydy – *aac6* oraz  $\beta$ -laktamy – *aac6'-aph2* [31]. Integrony klasy pierwszej były powszechnie wykrywane również w izolatach *Staphylococcus* spp. pochodzących z wymazów gardła i nosa – 40,5% z 200 szczepów zawierało integrony. Co więcej, po raz pierwszy zanotowano integron u *Staphylococcus saprophyticus*. Daje to w sumie dziewięć gatunków z tego rodzaju ze zidentyfikowanymi integronami (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. warneri*, *S. hominis*, *S. lentus*, *S. nepalensis*, *S. xylosus* i *S. saprophyticus*) [28, 44].

### 3.4. Integrony *Streptococcus* spp.

Oprócz *Corynebacterium* spp., *Enterococcus* spp. i *Staphylococcus* spp., obecność integronów stwierdzono również u bakterii z rodzaju *Streptococcus* (Tabela I). W badaniach przeprowadzonych w latach 2001–2002 w Chinach, wykryto cztery szczepy *Streptococcus* spp., wyhodowane z materiałów pobranych od pacjentów szpitala, zawierające integrony klasy 1 z zestawem kaset *drfA12-orfF-aadA2* [34].

### 3.5. Integrony innych gatunków bakterii Gram-dodatnich

Obecność integronów klasy 1 wykazano metodą PCR także w bakteriach *Aerococcus* sp. oraz *Brevibacterium thiogenitalis*, wyizolowanych z obornika pochodzącego z ferm drobiu. Nie uzyskano jednak produktu amplifikacji regionów zmiennych integronów, co świadczyć może o braku wbudowanych kaset genowych, bądź mutacji w obrębie sekwencji komplementarnej do zastosowanych starterów [28].

## 4. Podsumowanie

Integrony to struktury genetyczne powszechne w genomach wielu gatunków bakterii, warunkujące adaptację mikroorganizmów oraz wpływające na tempo

Tabela I  
Charakterystyka integronów bakterii Gram-dodatnich

| Gatunek                              | Integron | Szeregi kaset genowych   | Piśmiennictwo |
|--------------------------------------|----------|--|---------------|
| <i>Aerococcus</i> sp.                | Klasa 1  | gen kodujący metylazę tRNA   | [28]          |
| <i>Brevibacterium thioogenitalis</i> | Klasa 1  | nie wykryto  | [28]          |
| <i>Corynebacterium ammoniagenes</i>  | Klasa 1  | <i>aadA2</i> , <i>aadA9</i> , <i>dfrA1-aadA1</i>                                   | [28]          |
| <i>C. casei</i>                      | Klasa 1  | <i>dfrA1-aadA1</i>   | [28]          |
| <i>C. glutamicum</i>                 | Klasa 1  | <i>aadA2</i> , <i>aadA9</i>  | [29, 37]      |
| <i>Enterococcus faecalis</i>         | Klasa 1  | <i>dfrA12-orfF-aadA2</i> , <i>dfrA17-aadA5</i> , <i>aadA2</i>                      | [7, 42]       |
| <i>E. faecalis</i>                   | Klasa 2  | <i>dfrA1-sat1-aadA1</i>  | [42]          |
| <i>E. faecium</i>                    | Klasa 1  | <i>dfrA12-orfF-aadA2</i> , <i>dfrA17-aadA5</i> , <i>aadA2</i>                      | [42]          |
| <i>Staphylococcus aureus</i>         | Klasa 1  | <i>dfrA12-orfF-aadA2</i> , <i>dfrA17-aadA5</i> , <i>aadA2</i> , <i>aacA4-cmlA1</i> | [42]          |
| <i>S. epidermidis</i>                | Klasa 1  | <i>dfrA12-orfF-aadA2</i> , <i>dfrA17-aadA5</i> , <i>aadA2</i> , <i>aacA4-cmlA1</i> | [39]          |
| <i>S. hominis</i>                    | Klasa 1  | <i>dfrA12-orfF-aadA2</i> , <i>dfrA17-aadA5</i> , <i>aacA4-cmlA1</i>                | [39]          |
| <i>S. haemolyticus</i>               | Klasa 1  | <i>dfrA12-orfF-aadA2</i>   | [39]          |
| <i>S. lentus</i>                     | Klasa 1  | nie wykryto  | [28]          |
| <i>S. nepalensis</i>                 | Klasa 1  | nie wykryto  | [28]          |
| <i>S. xylosus</i>                    | Klasa 1  | nie wykryto  | [28]          |
| <i>S. warneri</i>                    | Klasa 1  | <i>dfrA12-orfF-aadA2</i>   | [39]          |
| <i>Streptococcus</i> sp.             | Klasa 1  | <i>dfrA12-orfF-aadA2</i>   | [34]          |

ich ewolucji. Obecność integronów jest często skorelowana ze wieloopornością szczepów ich gospodarzy. Stanowi to poważny problem, ze względu na szybko szerzącą się lekooporność wśród bakterii. Przeprowadzone analizy porównawcze wskazują, że integrony bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych są blisko spokrewnione – mają podobną strukturę i kodują identyczne integrazy. Świadczy to o częstych zdarzeniach horyzontalnego transferu genów między obydwoma grupami bakterii, być może z udziałem mobilnych elementów genetycznych o szerokim zakresie gospodarzy. Większość opisanych integronów bakterii Gram-dodatnich należy do klasy 1 i zaobserwowano je w gatunkach należących do rodzajów *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus* i *Brevibacterium*. Integrony klasy 2 stwierdzono jedynie u enterokoków, natomiast integronów klasy 3 nie zaobserwowano dotąd w bakteriach Gram-dodatnich. Należy jednak zauważyć, że dystrybucja i zmienność integronów w tej grupie bakterii są wciąż słabo poznane.

### Piśmiennictwo

- Ahmed A.M., Nakano H., Shimamoto T.: Molecular characterization of integrons in non-typhoid *Salmonella* serovars isolated in Japan: description of an unusual class 2 integron. *J. Antimicrob. Chemother.* **55**, 371–374 (2005)
- Barlow R.S., Desmarchelier P.M., Gobius K.S.: Isolation and characterization of integron-containing bacteria without antibiotic selection. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**, 838–842 (2004)
- Boucher Y., Labbate M., Koenig J.E., Stokes H.W.: Integrons: mobilizable platforms that promote genetic diversity in bacteria. *Trends Microbiol.* **15**, 301–309 (2007)
- Boucher Y., Nesbø C.L., Joss M.J., Robinson A., Mabbutt B.C., Gillings M.R., Doolittle W.F., Stokes H.W.: Recovery and evolutionary analysis of complete integron gene cassette arrays from *Vibrio*. *BMC Evol. Biol.* **6**, 3 (2006)
- Bush K., Zgurskaya H.I. I wsp.: Tackling antibiotic resistance. *Nat. Rev. Microbiol.* **9**, 894–896 (2011)
- Cambray G., Guerout A.M., Mazel D.: Integrons. *Annu. Rev. Genet.* **44**, 141–166. (2010)
- Clark N.C., Olsvik O., Swenson J.M., Spiegel C.A., Tenover F.C.: Detection of a streptomycin/spectinomycin adenyltransferase gene (*aadA*) in *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **43**, 157–160 (1999)
- Collis C.M., Grammaticopoulos G., Briton J., Stokes H.W., Hall R.M.: Site-specific insertion of gene cassettes into integrons. *Mol. Microbiol.* **9**, 41–52 (1993)
- Collis C.M., Kim M.J., Stokes H.W., Hall R.M.: Binding of the purified integron DNA integrase IntI1 to integron- and cassette-associated recombination sites. *Mol. Microbiol.* **29**, 477–490 (1998)
- Crowley D., Daly M., Lucey B., Shine P., Collins J.J., Cryan B., Moore J.E., Murphy P., Buckley G., Fanning S.: Molecular epidemiology of cystic fibrosis-linked *Burkholderia cepacia* complex isolates from three national referral centres in Ireland. *J. Appl. Microbiol.* **92**, 992–1004 (2002)
- Davies J.: Microbes have the last word. *EMBO Rep.* **8**, 616–621 (2007)
- Davies J., Davies, D.: Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **74**, 417–433 (2010)
- Fluit A.C., Schmitz F.J.: Class 1 integrons, gene cassettes, mobility, and epidemiology. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **18**, 761–770 (1999)
- Fluit A.C., Schmitz F.J.: Resistance integrons and super-integrons. *Clin. Microbiol. Infect.* **10**, 272–288 (2004)

15. Francia M.V., Zabala J.C., De La Cruz F., Garcia Lobo J.M.: The IntI1 integron integrase preferentially binds singlestranded DNA of the *attC* site. *J. Bacteriol.* **181**, 6844–6849 (1999)
16. Gillings, M.R.: Evolutionary consequences of antibiotic use for the resistome, mobilome and microbial pangenome. *Front. Microbiol.* **4**, 4 (2013)
17. Girlich D.K.A., Poirel L., Cavin M.H., Verny C., Nordmann P.: Molecular epidemiology of an outbreak due to IRT-2 beta-lactamase-producing strains of *Klebsiella pneumoniae* in a geriatric department. *J. Antimicrob. Chemother.* **45**, 467–473 (2000)
18. Hall R.M., Collis C.M.: Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. *Mol. Microbiol.* **15**, 593–600 (1995)
19. Hall R.M., Collis C.M.: Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria: the role of gene cassettes and integrons. *Drug Resist. Updates*, **1**, 109–119 (1998)
20. Hansson K., Sundstrom L., Pelletier A., Roy P.H.: IntI2 integron integrase in Tn7. *J. Bacteriol.* **184**, 1712–1721 (2002)
21. Hisata K, K.A.K., Yamamoto M., Ito T., Nakatomi Y., Cui L.: Dissemination of methicillin-resistant Staphylococci among healthy Japanese children. *J. Clin. Microbiol.* **43**, 3364–3372 (2005)
22. Katsumata R., Ozaki A., Oka T., Furuya A.: Protoplast transformation of glutamate-producing bacteria with plasmid DNA. *J. Bacteriol.* **159**, 306–311 (1984)
23. Koczura R., Mokracka J., Barczak A., Krysiak N., Kaznowski A.: Association between the presence of class 1 integrons, virulence genes and phylogenetic groups of *Escherichia coli* isolates from river water. *Microb. Ecol.* **65**, 84–90 (2013)
24. Labbate M, Case R.J., Stokes H.W.: The integron/gene cassette system: an active player in bacterial adaptation. *Methods Mol. Biol.* **532**, 103–125 (2009)
25. Mazel D.: Integrons and the origin of antibiotic resistance gene cassettes. *ASM News*, **70**, 520–525 (2004)
26. Mazel D., Dychinco B., Webb V.A., Davies J.: Antibiotic resistance in the ECOR collection: integrons and identification of a novel *aad* gene. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**, 1568–1574 (2000)
27. Mokracka J., Koczura R., Kaznowski A.: Transferable integrons of Gram-negative bacteria isolated from the gut of a wild boar in the buffer zone of a national park. *Ann. Microbiol.* **62**, 877–880 (2012)
28. Nandi S., Maurer J.J., Hofacre C., Summers A.O.: Gram-positive bacteria are a major reservoir of class 1 antibiotic resistance integrons in poultry litter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 7118–7122 (2004)
29. Nesvera J., Hochmannová J., Pátek M.: An integron of class 1 is present on the plasmid pCG4 from Gram-positive bacterium *Corynebacterium glutamicum*. *FEMS Microbiol. Lett.* **15**, 391–395 (1998)
30. Partridge S.R., Tsafnat G., Coiera E., Iredell J.R.: Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons. *FEMS Microbiol. Rev.* **33**, 757–784 (2009)
31. Pinilla G., Muñoz L., Ruiz A., Chavarro B., Cifuentes Y.: Isolation of *Staphylococcus epidermidis* strain carrier of the class one integron in a septic neonatal patient. *Infection*, **13**, 196–202 (2009)
32. Ren C., Zhao Y., Shen Y.: Analysis of the effect of integrons on drug-resistant *Staphylococcus aureus* by multiplex PCR detection. *Mol. Med. Rep.* **7**, 719–724 (2013)
33. Rowe-Magnus D.A., Mazel D.: The role of integrons in antibiotic resistance gene capture. *Int. J. Med. Microbiol.* **292**, 115–125 (2002)
34. Shi L., Zheng M., Xiao Z., Asakura M., Su J., Li L., Yamasaki S.: Unnoticed spread of class 1 integrons in gram-positive clinical strains isolated in Guangzhou, China. *Microbiol. Immunol.* **50**, 463–467 (2006)
35. Stalder T., Barraud O., Casellas M., Dagot C., Ply, M.C.: Integron involvement in environmental spread of antibiotic resistance. *Front. Microbiol.* **3**, 119 (2012)
36. Stokes H.W., Hall R.M.: A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. *Mol. Microbiol.* **3**, 1669–1683 (1989)
37. Tauch A., Gotker S., Puhler A., Kalinowski J., Thierbach G.: The 27.8-kb R-plasmid pTET3 from *Corynebacterium glutamicum* encodes the aminoglycoside adenylyltransferase gene cassette *aadA9* and the regulated tetracycline efflux system Tet 33 flanked by active copies of the widespread insertion sequence IS6100. *Plasmid*, **48**, 117–129 (2002)
38. Wang L., Li Y., Chu J., Xu Z., Zhong Q.: Development and application of a simple LAMP method on rapid detection of *L. monocytogenes* strains. *Mol. Biol. Rep.* **39**, 445–449 (2012)
39. Xu Z., Shi L., Zhang C., Zhang L., Li X., Cao Y., Li L., Yamasaki S.: Nosocomial infection caused by class 1 integron-carrying *Staphylococcus aureus* in a hospital in South China. *Clin. Microbiol. Infect.* **13**, 980–984. (2007)
40. Xu Z., Shi L., Alam M., Li L., Yamasaki S.: Integron-bearing methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci in South China, 2001–2004. *FEMS Microbiol. Lett.* **278**, 223–230 (2008)
41. Xu Z., Li L., Alam M.J., Zhang L., Yamasaki S., Shi L.: First confirmation of integron-bearing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Curr. Microbiol.* **57**, 264–268 (2008)
42. Xu Z., Li L., Shirliff M.E., Peters B.M., Peng Y., Alam M.J., Yamasaki S., Shi L.: First report of class 2 integron in clinical *Enterococcus faecalis* and class 1 integron in *Enterococcus faecium* in South China. *Diagnostic Microbiol. Infect. Dis.* **68**, 315–317 (2010)
43. Xu Z., Li L., Shirliff M.E., Peters B.M., Li B., Peng Y., Alam M.J., Yamasaki S., Shi L.: Resistance class 1 integron in clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in southern China, 2001–2006. *Clin. Microbiol. Infect.* **17**, 714–718 (2011)
44. Xu Z., Li L., Shi L., Shirliff M.: Class 1 integron in staphylococci. *Mol. Biol. Rep.* **38**, 5261–5279 (2011)
45. Zhao X, Li Y., Wang L., You L., Xu Z., Li L., He X., Liu Y., Wang J., Yang L.: Development and application of a loop-mediated isothermal amplification method on rapid detection *Escherichia coli* O157 strains from food samples. *Mol. Biol. Rep.* **37**, 2183–2188 (2010)