

Caracterização de integrons de classe 1 em isolados clínicos de *Acinetobacter* sp.

John, E. B. O.*; Corção, G.¹

¹Departamento de Microbiologia / ICBS, UFRGS

Rua Sarmiento Leite, 500 ICBS CEP: 90050-170 Porto Alegre, RS *elisajohn@live.com

Introdução e Objetivo

Integrons são unidades genéticas que contêm mecanismos de recombinação sítio específica e são capazes de capturar e mobilizar genes contidos em cassetes gênicos. A classe 1 de integrons é uma importante plataforma para recrutamento de genes de resistência, como aqueles característicos de linhagens bacterianas multirresistentes.

Acinetobacter são cocobacilos Gram-negativos, que comumente apresentam resistência a antimicrobianos – fato que agrava as dificuldades no tratamento de infecções nosocomiais, as quais esse gênero de patógenos oportunistas está relacionado.

Integrons têm sido encontrados em isolados clínicos e ambientais de *Acinetobacter* sp. e tem-se sugerido que os isolados multirresistentes poderiam agir como um reservatório destas unidades genéticas.

OBJETIVO: Este estudo visou investigar e caracterizar os integrons de classe 1 presentes em cepas clínicas de *Acinetobacter* sp.

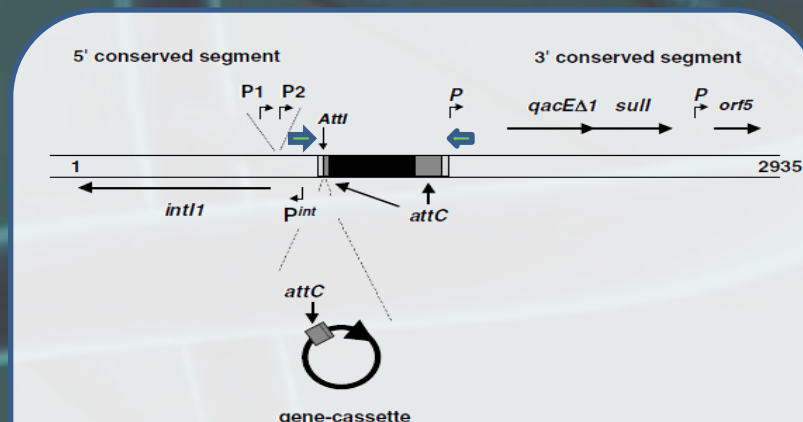


Figura 1. Representação de integron de classe 1. P1, promotor para a transcrição de cassetes gênicos; P2 segundo promotor; *int*, gene da integrase; *attI*, sítio de integração; *qacE*, gene de resistência ao quaternário de amônio; *sull*, gene de resistência a sulfonamidas; *orf5*, de função desconhecida; *attC*, sequência no cassete gênico reconhecida pela integrase. As setas verdes representam o anelamento dos oligonucleotídeos iniciadores utilizados.

Material e métodos

Um total de 20 cepas multirresistentes de *Acinetobacter*, previamente isoladas e identificadas, tiveram seu DNA extraído (extração orgânica; Sambrook *et al.*, 1989) e foram submetidas à PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

- Na reação, foram utilizados oligonucleotídeos iniciadores 5'CS e 3'CS descritos por Lévesque *et al.* (1995) que amplificam a região interna variável do integron.

Análise do DNA:

- Eletroforese em gel de agarose (1%);
- Retirada das bandas de interesse do gel e purificação da banda com Kit comercial (Invisorb® Fragment CleanUp (50) - Invitex);
- Sequenciamento (Sequenciador Applied Biosystems 3130XL).

Os resultados foram analisados e comparados a sequências disponíveis em banco de dados (BLAST).

Resultados

Das cepas analisadas 64,28% foram positivas para a presença de integron de classe 1.

Foram amplificados fragmentos de 600 a 2141 pares de base, e a análise do sequenciamento mostrou que os principais genes encontrados nestas cepas são os de resistência aos aminoglicosídeos (genes *aacC1*, *aacA4*, *aac(6')-Ib*, *aac(6')-Iq* e *aadA1*). Em uma das cepas foi encontrado o gene *dfrA15* que confere resistência às sulfonamidas. Também foram observados os genes que codificam as enzimas fosfatase e glicose desidrogenase, além do sítio *attI1*, a sequência 59 be e orfX.



Figura 3. Representação esquemática de uma das sequências encontradas (cepa IC146, 1722pb). A parte em vermelho corresponde à sequência *attI1*, sítio de integração do cassete; em verde, o gene *aac(6')-Iq*, de resistência aos aminoglicosídeos; em azul, um fragmento ainda não sequenciado, para tanto, serão desenhados novos oligonucleotídeos iniciadores; em amarelo, o gene *aadA1*, que também confere resistência aos aminoglicosídeos.

Conclusão

A ocorrência de integrons de classe 1 foi alta (64,28%), resultado que corrobora com outros estudos com cepas clínicas de *Acinetobacter* sp.

A presença de tais genes de resistência está de acordo com o fenótipo de resistência previamente observado nestas cepas.

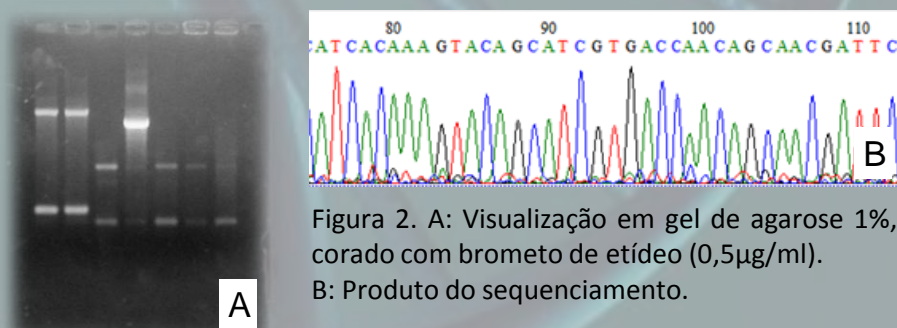


Figura 2. A: Visualização em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídeo (0,5µg/ml). B: Produto do sequenciamento.

Referências

- CHANG-TAI Z. *et al.* High frequency of integrons related to drug-resistance in clinical isolates of *A. baumannii*. Indian J Med Microbiol 2011;29:118-23
- HALL, R.M. *et al.* Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. Mol. Microbiol. (1995) 15(4), 593-600.
- LÉVESQUE *et al.* PCR mapping of integrons reveals several novel combinations of resistance genes. Antimicrob. Agents Chemother. (1995) 39, 185-191.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. Molecular cloning – a laboratory manual, 2ª ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.