

ICEVpaRus – новый ICE-элемент *Vibrio parahaemolyticus*

С.О.Водопьянов, О.С.Чемисова, А.С.Водопьянов, Р.В.Писанов, М.М.Сагакянц, О.А.Цырулина

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Для выявления интегративных конъюгативных элементов (ICE) *Vibrio parahaemolyticus* сконструированы праймеры, фланкирующие место интеграции ICE в 5' конец гена *pfrC3*. В случае интактного гена *pfrC3* при проведении полимеразной цепной реакции формируется фрагмент размером 478 п.о., в случае вставки ICE продукт амплификации отсутствует. При анализе коллекции из 14 культур *V. parahaemolyticus* обнаружено отсутствие ампликона при анализе ДНК из штамма 19632. Проведенный полногеномный сиквенс этого штамма и последующий биоинформационный анализ показал, что у него между 5' и 3' концами гена *pfrC3* встроен ICE-элемент размером 71 684 п.о., обозначенный нами как ICEVpaRus и кодирующий 91 ген. В составе идентифицированного ICEVpaRus и двух ранее описанных ICE элементов *V. parahaemolyticus* ICEVpaCan1 и IECVpaTF2 не идентифицирован ни один из генов антибиотикорезистентности. Анализ идентифицированных генов показал высокую степень уникальности белков для каждого ICE, а также присутствие значительного числа гипотетических протеинов, т.е. белков с не установленной на данный момент функцией.

Ключевые слова: *Vibrio parahaemolyticus*, интегративные конъюгативные элементы, ICE, праймеры, ген *pfrC3*

Для цитирования: Водопьянов С.О., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Сагакянц М.М., Цырулина О.А. ICEVpaRus – новый ICE-элемент *Vibrio parahaemolyticus*. Бактериология. 2023; 8(4): 42–46. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-4-42-46

ICEVpaRus – new ICE element *Vibrio parahaemolyticus*

S.O.Vodopyanov, O.S.Chemisova, A.S.Vodopyanov, R.V.Pisanov, M.M.Sagakyants, O.A.Tsyurulina

Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russian Federation

To identify integrative conjugative elements (ICE) of *Vibrio parahaemolyticus*, primers flanking the place of integration of ICE into the 5' end of the *pfrC3* gene were constructed. In the case of an intact *pfrC3* gene, a fragment with a size of 478 bp is formed during PCR, in the case of ICE insertion, there is no amplification product. When analyzing a collection of 14 cultures of *V. parahaemolyticus*, the absence of an amplicon was found when analyzing DNA from strain 19632. A full-genome sequence of this strain and subsequent bioinformatic analysis showed that it has an ICE element embedded between the 5' and 3' ends of the *pfrC3* gene, designated by us as ICEVpaRus with a size of 71,684 bp and encoding 91 genes. None of the antibiotic resistance genes were identified in the identified ICEVpaRus and two previously described ICE elements of *V. parahaemolyticus* ICEVpaCan1 and IECVpaTF2. The analysis of the identified genes showed a high degree of uniqueness of proteins for each ICE, as well as the presence of a significant number of hypothetical proteins, i.e. proteins with currently unknown function.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*, integrative conjugative elements, ICE, primers, *pfrC3* gene

For citation: Vodopyanov S.O., Chemisova O.S., Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Sagakyants M.M., Tsyurulina O.A. ICEVpaRus – new ICE element *Vibrio parahaemolyticus*. Bacteriology. 2023; 8(4): 42–46. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2023-4-42-46

Vibrio parahaemolyticus – граммотрицательная галофильная бактерия, которая является основной причиной диарейных заболеваний, связанных с морепродуктами [1], септицемией и раневой инфекцией [2, 3]. Интегративные конъюгативные элементы (ICE) представляют собой мобильные генетические элементы, способные к горизонтальному переносу и кодирующие широкий спектр генетической информации, включая устойчивость к антибиотикам и тяже-

лым металлам [4]. Значение ICE в биологии *Vibrio cholerae* и реализации патогенного потенциала, включая резистентность к антибиотикам, изучены достаточно полно [5–7].

На этом фоне роль ICE в случае *V. parahaemolyticus* исследована чрезвычайно слабо. Имеющиеся немногочисленные данные противоречивы. Так, среди 594 изолятов *V. parahaemolyticus* из культивируемых устриц и эстуарной воды, несмотря на наличие 74,1% изолятов с устойчивостью к

Для корреспонденции:

Водопьянов Сергей Олегович, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела диагностики холеры и других острых кишечных инфекций (ОКИ) ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117
Телефон: (863) 240-2703

Статья поступила 17.08.2023, принята к печати 25.12.2023

For correspondence:

Sergey O. Vodopyanov, MD, PhD, DSc, Chief Researcher, Department of Diagnostics of Cholera and Other Acute Intestinal Infections of the Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of Rosпотребнадзор

Address: 117 M.Gorky str., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation
Phone: (863) 240-2703

The article was received 17.08.2023, accepted for publication 25.12.2023

одному антибиотику и 13,5% изолятов с множественной лекарственной устойчивостью, не было выявлено ни одного ICE-элемента [8]. В то же время 59 из 997 изолятов из пресноводных креветок (5,9%) были предположительно ICE-позитивными по наличию положительного результата в полимеразной цепной реакции (ПЦР) на присутствие пяти генов, характерных для SXT/R391-подобных ICE (*int*, *attR*, *traC*, *setR* и *traI*). Интересен тот факт, что устойчивость *V. parahaemolyticus* к тяжелым металлам была характерна для ICE-положительных штаммов с более чем восемью маркерами устойчивости к антибиотикам [4]. Имеются сообщения о возможном присутствии ICE, лишенных генов устойчивости к антибиотикам, в трех изолятах *V. parahaemolyticus*, выделенных из воды моллюсков в 2002–2003 гг. в Мозамбике [9].

Однако в глобальной базе данных ICE-элементов ICEberg2 [10] присутствует всего один охарактеризованный ICE-элемент *V. parahaemolyticus* – ICEVpaCan1, выявленный в штамме *V. parahaemolyticus* S107-1 [11], при этом в GenBank также представлен еще один ICE-элемент ICEVpaTF2, выявленный в штамме TF2 (NCBIAccessionNumberMN201567). Очевидно, подобная ситуация обусловлена отсутствием методики выявления и идентификации ICE-элементов *V. parahaemolyticus*.

В связи с этим цель настоящего исследования состояла в разработке алгоритма поиска ICE-элементов у *V. parahaemolyticus* и его апробации на наборе штаммов.

Материалы и методы

В работе использованы 14 штаммов *V. parahaemolyticus* 19632, P-14810, 19366, 20647, 20404, 19744, 19529, 19394, 19379, 19234, 19167, 19016, 19008, 19014 из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора. Штаммы культивировали 24–48 ч на агаре Мартена с 2% хлорида натрия при 37°C.

Полногеномное секвенирование штаммов *V. parahaemolyticus* проведено в ходе выполнения стратегической инициативы социально-экономического развития Российской Федерации до 2030 г. «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)» на платформе MiSeq (Illumina, США) и OxfordNanopore (США). Сборку геномов, представленных в виде ридов, проводили с использованием программы Spades [12]. Полногеномные сиквенсы *V. parahaemolyticus* также были получены из базы данных NCBI. Поиск открытых рамок считывания проводили с использованием программы Glimmer3 [13]. Для аннотации и идентификации генов использовали программу blastx из пакета BLAST+ с использованием последовательностей референсных генов, полученных из базы данных uniprot.org [14]. Визуализацию расположения генов проводили с использованием пакета ruGenomeViz [15]. Условия проведения ПЦР (15 циклов амплификации) и учета результатов описаны ранее [16].

Результаты исследования и их обсуждение

Известно, что ICE различных микроорганизмов могут интегрироваться в самые различные сайты, при этом для не-

которых ICE-элементов сайт прикрепления часто находится в гене тРНК [17, 18]. Однако в случае *V. cholerae* ICE элемент стабильно интегрируется в 5' конец гена *pfrC3* размером 1590 п.о., детерминирующего белковый продукт peptide chain release factor 3 размером 529 аминокислот [7, 19].

Мы предположили, что эта закономерность интеграции ICE-элементов в геноме холерного вибриона свойственна и для близкородственного *V. parahaemolyticus*. Предварительный биоинформационный анализ показал, что гены *pfrC3* *V. cholerae* и *V. parahaemolyticus* совпадают по нуклеотидной и аминокислотной последовательности продуктов на 78 и 88% соответственно, а совпадение по гену интегразы ICE-элементов достигает 96–98%.

В связи с этим нами для выявления состояния гена *pfrC3* *V. parahaemolyticus* (нативный или наличие вставки) были сконструированы праймеры (прямой: CGAGAATACCGCG CAAAATTG и обратный: CAGACGTGTACTTCCATTAGCT), фланкирующие место предположительной интеграции ICE-элемента. В случае интактного гена *pfrC3* при использовании данных праймеров формируется фрагмент размером 478 п.о., в случае вставки размер ожидаемого фрагмента превышает 50 т.п.о. поскольку содержит в своем составе последовательность интегрированного ICE-элемента, что приводит к отсутствию продукта амплификации. Этот методический прием *in vitro* был успешно использован ранее для выявления встраивания генетического островка VcB во вторую хромосому *V. cholerae* [16].

Результат амплификации с праймерами, фланкирующими участок гена *pfrC3*, представленный на рис. 1, показал отсутствие специфического ампликона в случае проведения ПЦР-анализа ДНК штамма 19632 (рис. 1, лунка 1). При изучении остальных 13 штаммов *V. parahaemolyticus* из рабочей коллекции регистрировали появление целевого продукта (рис. 1, лунки 2–4). Данный результат расценивался нами как факт наличия большой вставки в ген *pfrC3* в геноме только штамма *V. parahaemolyticus* 19632.

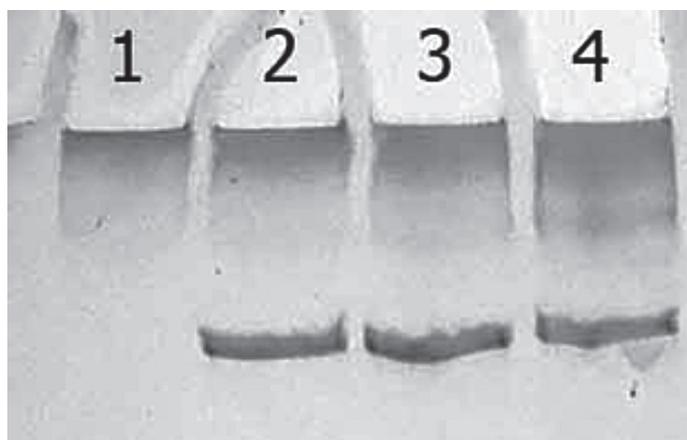


Рис. 1. Электрофореграмма ПЦР-продуктов ДНК штаммов *V. parahaemolyticus* с праймерами, фланкирующими участок гена *pfrC3*, в геле 8% полиакриламида. Лунки 1–4: результат реакции со штаммами 19632, P-14810, 19366, 20647. Специфический ампликон присутствует только в лунках 2, 3 и 4.
Fig. 1. Electrophoregram of PCR DNA products of *V. parahaemolyticus* strains with primers flanking a section of the *pfrC3* gene in a gel of 8% polyacrylamide. Wells 1–4: result of reaction with strains 19632, P-14810, 19366, 20647. The specific amplicon is present only in wells 2, 3 and 4.

Таблица. Характеристика генов, идентифицированных в составе ICE-элементов *V. parahaemolyticus*
 Table. Characteristics of the genes identified in the composition of the ICE elements of *V. parahaemolyticus*

Характеристика генов, детерминируемых ICE / Characteristics of genes determined by ICE	Тип ICE-элемента / ICE-element type		
	ICEVpaCan1	ICEVpaRus	ICEVpaTF2
Специфичен для ICEVpaCan1 / Specific to ICEVpaCan1	22		
Специфичен для ICEVpaRus / Specific to ICEVpaRus		27	
Специфичен для ICEVpaTF2 / Specific to ICEVpaTF2			23
Гипотетические протеины / Hypothetical proteins	18	14	21

В связи с этим нами был проведен сиквенс штамма *V. parahaemolyticus* 19632 с предположительной вставкой и 13 «нативных» штаммов, несущих по данным ПЦР интактный ген *pfrC3*. Для получения более достоверных результатов сиквенс каждого штамма проведен дважды на двух платформах: Illumina MiSeq и Oxford Nanopore, что дало возможность собрать гибридные последовательности геномов.

Биоинформационный анализ полученных гибридных последовательностей показал, что между 5' и 3' концами гена *pfrC3* в геноме штамма 19632 встроены ICE-элемент, обозначенный нами как ICEVpaRus. В геномах 13 «нативных» штаммов, как и предполагали, присутствовал интактный ген *pfrC*. Штамм *V. parahaemolyticus* 19632, выделенный в 2013 г. из морской воды на пляже г. Новороссийска, не содержал генов *tdh* и *trh*.

Проведен сравнительный анализ геномного состава обнаруженного ICEVpaRus и двух известных элементов – ICEVpaTF2 и ICEVpaCan1, показавший существенное различие в локализации и структуре генов (рис. 2). Размеры генетических структур составили: ICEVpaCan1 – 81 492 п.о., ICEVpaTF2 – 83 588 п.о. Выявленный нами у штамма *V. parahaemolyticus* 19632 ICEVpaRus имел размер 71 684 п.о. В структуре трех ICE-элементов *V. parahaemolyticus* идентифицировано 143 гена, при этом в составе ICEVpaCan1 и ICEVpaRus был выявлен 91 ген, а в ICEVpaTF2 – 93 гена. Общими для всех трех ICE-элементов был 61 ген. Интересно отметить, что ни в одном из изученных ICE-элементов *V. parahaemolyticus* программой blastx не идентифицирован ни один из генов антибиотикорезистентности, что согласуется с данными об отсутствии связи между резистентностью *V. parahaemolyticus* к антибиотикам и наличием ICE-элемента [8, 9]. Эти результаты противоречат известным данным о роли ICE-элементов *V. cholerae* в детерминировании устойчивости к антибиотикам [6, 7, 20]. Анализ идентифицированных генов показал высокую степень уникальности белков в составе изученных ICE-элементов. Число уникальных генов для каждого ICE элемента составило 22, 27 и 23 соответственно (таблица). Кроме того, интересен факт присутствия значительного числа гипотетических протеинов, т.е. белков с неустановленной на данный момент функцией. Вероятно участие подобных структур, входящих в состав ICE-элементов *V. parahaemolyticus*, в реализации новых признаков, в т.ч. в обеспечении резистентности хозяина к токсическому воздействию ионов тяжелых металлов [21–23].

Заключение

Таким образом, на основании проведенной работы предложен алгоритм поиска ICE-элементов *V. parahaemolyticus*, основанный на отборе с помощью сконструированных праймеров штаммов, содержащих вставку в ген *pfrC*, и их последующего секвенирования. В результате использования предложенного алгоритма у *V. parahaemolyticus* идентифицирован новый ICE – ICEVpaRus, содержащий 91 ген, но не содержащий генов антибиотикорезистентности. В противовес *V. cholerae*, в случае *V. parahaemolyticus* все охарактеризованные на данный момент ICE-элементы не содержат детерминант устойчивости к антибиотикам. Возможная роль ICE-элементов в биологии этого возбудителя пока не ясна и нуждается в дальнейшем изучении, в т.ч. в плане возможной толерантности возбудителя к воздействию тяжелых металлов.

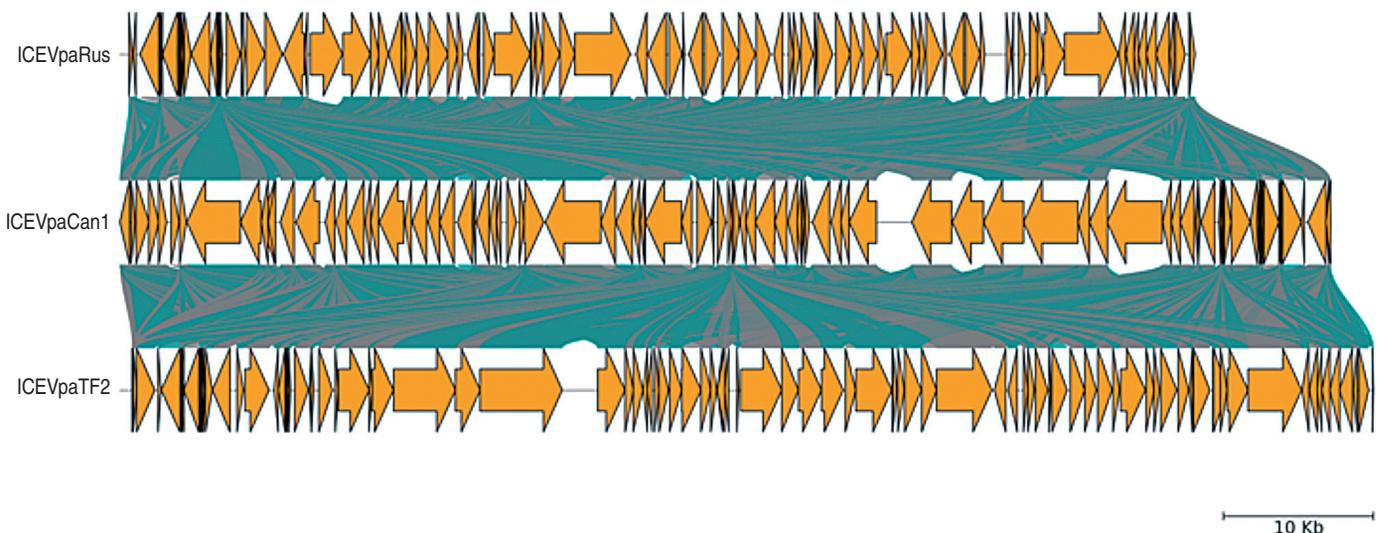


Рис. 2. Сравнение структуры трех ICE-элементов *V. parahaemolyticus*.
 Fig. 2. Comparison of the structure of three ICE elements of *V. parahaemolyticus*.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Funding information

The work was carried out within the framework of the industry program of Rosпотребнадзор.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература

1. Li L, Meng H, Gu D, Li Y, Jia M. Molecular mechanisms of *Vibrio parahaemolyticus* pathogenesis. *Microbiol Res*. 2019;222:43-51. DOI: 10.1016/j.micres.2019.03.003
2. Raszl SM, Froelich BA, Vieira CR, Blackwood AD, Noble RT. *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in South America: water, seafood and human infections. *J Appl Microbiol*. 2016;121(5):1201-1222. DOI: 10.1111/jam.13246
3. Letchumanan V, Chan KG, Lee LH. *Vibrio parahaemolyticus*: a review on the pathogenesis, prevalence, and advance molecular identification techniques. *Front Microbiol*. 2014;11;5:705. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00705
4. He Yu, Wang S, Zhang J, Zhang X, Sun F, He B, et al. Integrative and conjugative elements-positive *Vibrio parahaemolyticus* isolated from aquaculture shrimp in Jiangsu, China. *Front Microbiol*. 2019;10:1574. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01574
5. Селянская НА, Водопьянов СО, Рыкова ВА, Соколова ЕП. Трансмиссивная антибиотикоустойчивость, обусловленная SXT-элементом, у холерных вибрионов, выделенных на территории России. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020;97(3):258-264. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-3-8
6. Рыбальченко ДА, Щелканова ЕЮ, Лозовский ЮВ, Федоров АВ, Смирнова НИ. Распространенность разных типов интегративного конъюгативного элемента SXT/R391, кодирующего множественную резистентность к антибиотикам, среди клинических штаммов возбудителя холеры. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022;1:137-147. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-137-147
7. Захарова ИБ, Викторов ДВ. Интегративные конъюгативные элементы микроорганизмов (ICEs). *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2015;33(3):9-16.
8. Jeamsripong S, Khant W, Chuanchuen R. Distribution of phenotypic and genotypic antimicrobial resistance and virulence genes in *Vibrio parahaemolyticus* isolated from cultivated oysters and estuarine water. *FEMS Microbiol Ecol*. 2020 Aug 1;96(8):fiaa081. DOI: 10.1093/femsec/fiaa081
9. Elisa Taviani E, Ceccarelli D, Lazaro N, Bani S, Cappuccinelli P, Colwell RR, et al. Environmental *Vibrio* spp., isolated in Mozambique, contain a polymorphic group of integrative conjugative elements and class 1 integrons. *FEMS Microbiol. Ecol*. 2008; 64(1):45-54. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2008.00455
10. Liu M, Li X, Xie Y, Bi D, Sun J, Li J, et al. ICEberg 2.0: an updated database of bacterial integrative and conjugative elements. *Nucleic Acids Res*. 2019 Jan 8;47(D1):D660-D665. DOI: 10.1093/nar/gky1123
11. Bioteau A, Durand R, Burrus V. Redefinition and Unification of the SXT/R391 Family of Integrative and Conjugative Elements. *Appl Environ Microbiol*. 2018;18;84(13):e00485-18. DOI: 10.1128/AEM.00485-1
12. Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J Comput Biol*. 2012 May;19(5):455-77. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021
13. Delcher AL, Bratke KA, Powers TC, Salzberg SL. Identifying bacterial genes and endosymbiont DNA with Glimmer. *Bioinformatics*. 2007;15;23(6):673-9. DOI: 10.1093/bioinformatics/btm009

14. Camacho C, Coulouris G, Avagyan V, Ma N, Papadopoulos J, Bealer K, et al. BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics*. 2009 Dec 15;10:421. DOI: 10.1186/1471-2105-10-421
15. Shimoyama Y. pyGenomeViz: A genome visualization python package for comparative genomics [Computer software]. (2022). Available at: <https://github.com/moshi4/pyGenomeViz>
16. Водопьянов АС, Водопьянов СО, Мишанькин БН, Олейников ИП, Дуванова ОВ. Корреляция между наличием области варибельного tandemного повтораVcb и островком патогенности VPI-1 у *Vibrio cholerae*. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2017;35(2):49-52. DOI 10.18821/0208-0613-2017-35-2-49-52
17. Johnson CM, Grossman AD. Integrative and Conjugative Elements (ICEs): What They Do and How They Work. *Annu Rev Genet*. 2015;49:577-601. DOI: 10.1146/annurev-genet-112414-055018
18. Gonçalves OS, de Assis JCS, Santana MF. Breaking the ICE: an easy workflow for identifying and analyzing integrative and conjugative elements in bacterial genomes. *Funct Integr Genomics*. 2022 Dec;22(6):1139-1145. DOI: 10.1007/s10142-022-00903-2
19. 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 Nov;45(11):2991-3000. DOI: 10.1128/AAC.45.11.2991-3000.2001
20. Dutta D, Kaushik A, Kumar D, Bag S. Foodborne pathogenic vibrios: antimicrobial resistance. *Front Microbiol*. 2021;12:638331. DOI: 10.3389/fmicb.2021.638331
21. Song Y, Yu P, Li B, Pan Y, Zhang X, Cong J, et al. The mosaic accessory gene structures of the SXT/R391-like integrative and conjugative elements derived from *Vibrio* spp. isolated from aquatic products and environment in the Yangtze River estuary, China. *BMC Microbiol*. 2013;13:214. DOI: 10.1186/1471-2180-13-214
22. Jiang H, Yu T, Yang Y, Yu S, Wu J, Lin R, et al. Co-occurrence of antibiotic and heavy metal resistance and sequence type diversity of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from *Penaeus vannamei* at freshwater farms, seawater farms, and markets in Zhejiang Province, China. *Front Microbiol*. 2020;11:1294. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01294
23. Fang J, Cheng H, Yu T, Jiang H. Occurrence of virulence factors and antibiotic and heavy metal resistance in *Vibrio parahaemolyticus* isolated from Pacific mackerel at markets in Zhejiang, China. *J Food Prot*. 2020; 83(8):1411-1419. DOI:10.4315/JFP-20-091

References

1. Li L, Meng H, Gu D, Li Y, Jia M. Molecular mechanisms of *Vibrio parahaemolyticus* pathogenesis. *Microbiol Res*. 2019;222:43-51. DOI: 10.1016/j.micres.2019.03.003
2. Raszl SM, Froelich BA, Vieira CR, Blackwood AD, Noble RT. *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in South America: water, seafood and human infections. *J Appl Microbiol*. 2016;121(5):1201-1222. DOI: 10.1111/jam.13246
3. Letchumanan V, Chan KG, Lee LH. *Vibrio parahaemolyticus*: a review on the pathogenesis, prevalence, and advance molecular identification techniques. *Front Microbiol*. 2014;11;5:705. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00705
4. He Yu, Wang S, Zhang J, Zhang X, Sun F, He B, et al. Integrative and conjugative elements-positive *Vibrio parahaemolyticus* isolated from aquaculture shrimp in Jiangsu, China. *Front Microbiol*. 2019;10:1574. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01574
5. Селянская НА, Водопьянов СО, Рыкова ВА, Соколова ЕП. Трансмиссивная антибиотикоустойчивость, ассоциированная с SXT элементом, у холерных вибрионов, выделенных на территории России. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020;97(3):258-264. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-3-8 (In Russian).
6. Рыбальченко ДА, Щелканова ЕЮ, Лозовский ЮВ, Федоров АВ, Смирнова НИ. Prevalence of Different Types of Integrative Conjugative Element SXT/R391 Encoding Multiple Antibiotic Resistance Among Clinical Strains of Cholera Agent.

- Problems of Particularly Dangerous Infections. 2022;1:137-147. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-137-147 (In Russian).
7. Zakharaova IB, Viktorov DV. Integrative conjugative elements of microorganisms (ICEs). Molecular genetics, microbiology and virology. 2015;33(3):9-16. (In Russian).
 8. Jearnsripong S, Khant W, Chuanchuen R. Distribution of phenotypic and genotypic antimicrobial resistance and virulence genes in *Vibrio parahaemolyticus* isolated from cultivated oysters and estuarine water. FEMS Microbiol Ecol. 2020 Aug 1;96(8):fiae081. DOI: 10.1093/femsec/fiae081
 9. Elisa Taviani E, Ceccarelli D, Lazaro N, Bani S, Cappuccinelli P, Colwell RR, et al. Environmental *Vibrio* spp., isolated in Mozambique, contain a polymorphic group of integrative conjugative elements and class 1 integrons. FEMS Microbiol. Ecol. 2008; 64(1):45-54. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2008.00455
 10. Liu M, Li X, Xie Y, Bi D, Sun J, Li J, et al. ICEberg 2.0: an updated database of bacterial integrative and conjugative elements. Nucleic Acids Res. 2019 Jan 8;47(D1):D660-D665. DOI: 10.1093/nar/gky1123
 11. Bioteau A, Durand R, Burrus V. Redefinition and Unification of the SXT/R391 Family of Integrative and Conjugative Elements. Appl. Environ. Microbiol. 2018;18;84(13):e00485-18. DOI: 10.1128/AEM.00485-1
 12. Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. J Comput Biol. 2012 May;19(5):455-77. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021
 13. Delcher AL, Bratke KA, Powers TC, Salzberg SL. Identifying bacterial genes and endosymbiont DNA with Glimmer. Bioinformatics. 2007; 15;23(6):673-9. DOI: 10.1093/bioinformatics/btm009
 14. Camacho C, Coulouris G, Avagyan V, Ma N, Papadopoulos J, Bealer K, et al. BLAST+: architecture and applications. BMC Bioinformatics. 2009 Dec 15;10:421. DOI: 10.1186/1471-2105-10-421
 15. Shimoyama Y. pyGenomeViz: A genome visualization python package for comparative genomics [Computer software]. (2022). Available at: <https://github.com/moshi4/pyGenomeViz>
 16. Vodopyanov AS, Vodopyanov SO, Mishankin BN, Oleinikov IP, Duvanova OV. Correlation between the presence of a variable tandem repeat of VcB and the island of VPI-1 pathogenicity in *Vibrio cholerae*. Molecular Genetics, Microbiology and Virology. 2017;35(2):49-52. DOI 10.18821/0208-0613-2017-35-2-49-52 (In Russian).
 17. Johnson CM, Grossman AD. Integrative and Conjugative Elements (ICEs): What They Do and How They Work. Annu Rev Genet. 2015;49:577-601. DOI: 10.1146/annurev-genet-112414-055018
 18. Gonçalves OS, de Assis JCS, Santana MF. Breaking the ICE: an easy workflow for identifying and analyzing integrative and conjugative elements in bacterial genomes. Funct Integr Genomics. 2022 Dec;22(6):1139-1145. DOI: 10.1007/s10142-022-00903-2
 19. 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 Nov;45(11):2991-3000. DOI: 10.1128/AAC.45.11.2991-3000.2001
 20. Dutta D, Kaushik A, Kumar D, Bag S. Foodborne pathogenic vibrios: antimicrobial resistance. Front Microbiol. 2021;12:638331. DOI: 10.3389/fmicb.2021.638331
 21. Song Y, Yu P, Li B, Pan Y, Zhang X, Cong J, et al. The mosaic accessory gene structures of the SXT/R391-like integrative and conjugative elements derived from *Vibrio* spp. isolated from aquatic products and environment in the Yangtze River estuary, China. BMC Microbiol. 2013;13:214. DOI: 10.1186/1471-2180-13-214
 22. Jiang H, Yu T, Yang Y, Yu S, Wu J, Lin R, et al. Co-occurrence of antibiotic and heavy metal resistance and sequence type diversity of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from *Penaeus vannamei* at freshwater farms, seawater farms, and markets in Zhejiang Province, China. Front Microbiol. 2020;11:1294. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01294
 23. Fang J, Cheng H, Yu T, Jiang H. Occurrence of virulence factors and antibiotic and heavy metal resistance in *Vibrio parahaemolyticus* isolated from Pacific mackerel at markets in Zhejiang, China. J Food Prot. 2020; 83(8):1411-1419. DOI:10.4315/JFP-20-091
-
- Информация о соавторах:**
Чемисова Ольга Сергеевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, исполняющая обязанности заведующего «Музеем живых культур с Центром патогенных для человека холерных вибрионов»; ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
- Водопьянов Алексей Сергеевич, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций; ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
- Писанов Руслан Вячеславович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, исполняющий обязанности заведующего лабораторией молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций; ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
- Сагакянц Маргарита Маргаритосовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник «Музея живых культур с Центром патогенных для человека холерных вибрионов» ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
- Цырулина Оксана Алексеевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник «Музея живых культур с Центром патогенных для человека холерных вибрионов» ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
-
- Information about co-authors:**
Olga S. Chemisova, PhD in Biological Sciences, leading researcher, acting head of the «Museum of Living Cultures with the Center for *Vibrio Cholerae* Pathogenic to Humans»; FKUZ «Rostov-on-Don Anti-Plague Institute» of Rosptrebnadzor
- Alexey S. Vodopyanov, MD, PhD, leading researcher at the Laboratory of Molecular Biology of Natural Focal and Zoonotic Infections; FKUZ «Rostov-on-Don Anti-Plague Institute» of Rosptrebnadzor
- Ruslan V. Pisanov, PhD in Biological Sciences, leading researcher, acting head of the laboratory of molecular biology of natural focal and zoonotic infections; FKUZ «Rostov-on-Don Anti-Plague Institute» of Rosptrebnadzor
- Margarita M. Sagakyants, PhD in Biological Sciences, Researcher at the «Museum of Living Cultures with the Center for *Vibrio Cholerae* Pathogenic to Humans», Federal Public Health Institution «Rostov-on-Don Anti-Plague Institute» of Rosptrebnadzor
- Oksana A. Tsyruлина, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher, «Museum of Living Cultures with the Center for *Vibrio Cholerae* Pathogenic to Humans», Federal Public Health Institution «Rostov-on-Don Anti-Plague Institute» of Rosptrebnadzor