

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 – грамотрицательная 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.

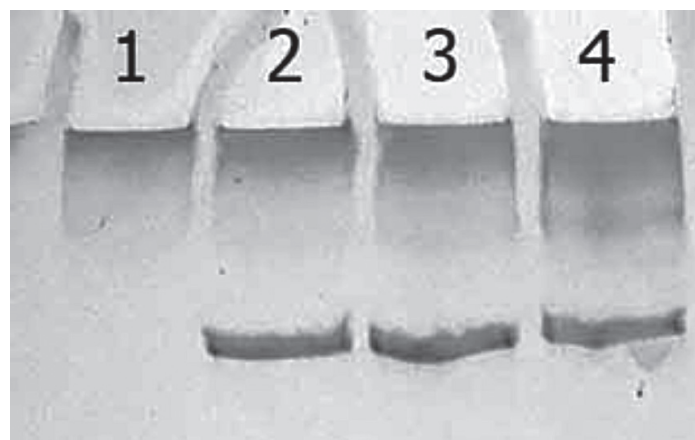


Рис. 1. Электрофореграмма ПЦР-продуктов ДНК штаммов *V. parahaemolyticus* с праймерами, фланкирующими участок гена *pfrC3*, в геле 8% полиакриламида. Лунки 1–4: результат реакции со штаммами 19632, P-14810, 19366, 20647. Специфический ампликон присутствует только в лунках 2, 3 и 4.
Fig. 1. Electrophoregram 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.

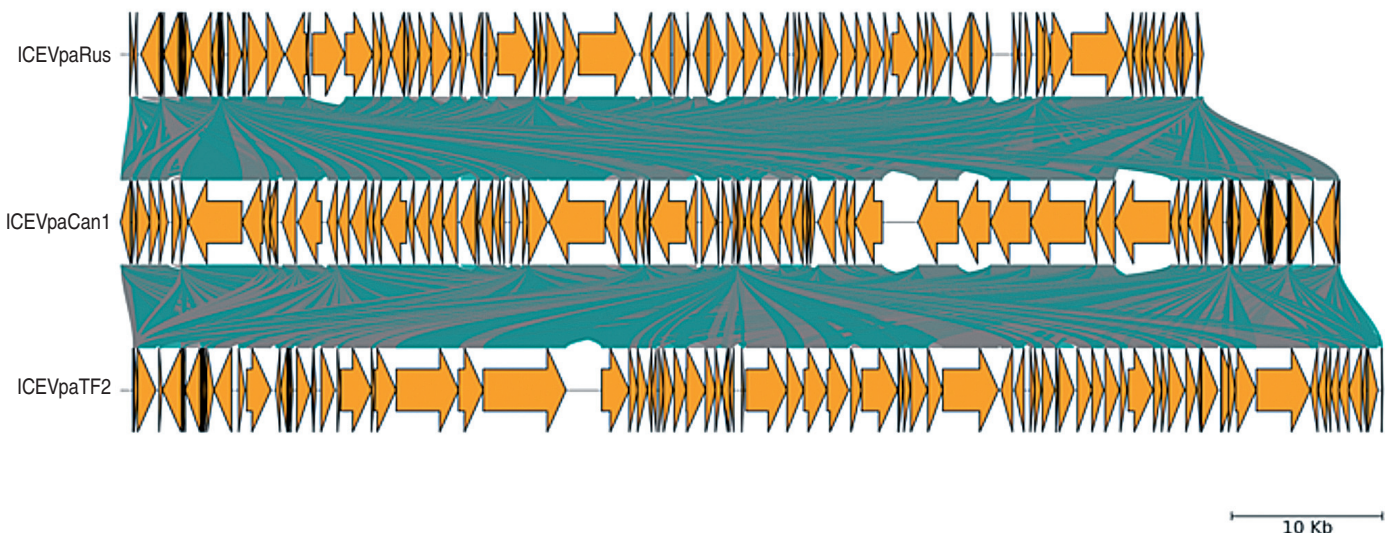


Рис. 2. Сравнение структуры трех ICE-элементов *V. parahaemolyticus*.
 Fig. 2. Comparison of the structure of three ICE elements of *V. parahaemolyticus*.

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

- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- Захарова ИБ, Викторов ДВ. Интегративные конъюгативные элементы микроорганизмов (ICEs). *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2015;33(3):9-16.
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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

- 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
- Shimoyama Y. pyGenomeViz: A genome visualization python package for comparative genomics [Computer software]. (2022). Available at: <https://github.com/moshi4/pyGenomeViz>
- 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
- 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
- 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
- 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
- Dutta D, Kaushik A, Kumar D, Bag S. Foodborne pathogenic vibrios: antimicrobial resistance. *Front Microbiol.* 2021;12:638331. DOI: 10.3389/fmicb.2021.638331
- 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
- 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
- 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

- 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
- 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
- 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
- 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
- Selyanskaya NA, Vodop'yanov SO, Rykova VA, Sokolova EP. Transmissible antibiotic resistance, associated with the SXT element, in cholera vibrios isolated in the territory of Russia. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 2020;97(3):258-264. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-3-8 (In Russian).
- Rybal'chenko DA, Shchelkanova EYu, Lozovsky YuV, Fedorov AV, Sмирнова NI. 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. Zakharova 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 Rospotrebndzor
- 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 Rospotrebndzor
- 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 Rospotrebndzor
- 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 Rospotrebndzor
- 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 Rospotrebndzor