

«Актуальные вопросы эпидемиологии, микробиологии,  
диагностики и профилактики холеры и других  
инфекционных болезней» 7-8 ноября 2024 года

**Роль интегративных элементов (ICE) в реализации  
устойчивости *Vibrio cholerae* к тяжелым металлам**

**Водопьянов С.О., Евтеев А.В., Водопьянов А.С., Писанов Р.В.,  
Селянская Н.А., Кругликов В.Д.**

г. Ростов-на-Дону 2024 г.



# Тяжелые металлы как фактор экологии

Индустриализация привела к глобальному загрязнению водных объектов тяжелыми металлами.

Вода реки Темерник, протекающей в г. Ростове-на-Дону, по содержанию токсических компонентов относится к 4-5 классам опасности, что квалифицируется как чрезвычайная токсичной. По ряду загрязнителей показатель ПДК превышен в 40-1 000 раз.



→ 13

→ 13 A

→ 14

→ 14 A

FILM NEGATIVE

FILM NEGATIVE

FILM NEGATIVE



# Тяжелые металлы как фактор эволюции микроорганизмов

Идентифицированы гены, опосредующие устойчивость к различным ТМ.

Обнаружены штаммы, резистентные к воздействию различных ТМ, идентифицированы гены резистентности,

У представителей рода *Vibrio*, из водоемов обнаружена резистентность к ряду ТМ, но генетическая природа пока не установлена.





## Выделение *ctx*<sup>+</sup> штаммов *Vibrio cholerae*

В период 2023 -2024 года в г.Ростове-на-Дону из воды реки Темерник выделено три *ctx*<sup>+</sup> штамма *Vibrio cholerae*.

Вода и ил реки Темерник, по содержанию токсических компонентов, включая кадмий, относится к 4-5 классам опасности и квалифицируется как чрезвычайно токсичной. По ряду загрязнителей показатель ПДК превышен в 40-1 000 раз.



# Рабочая гипотеза

Возможное наличие у *ctx+* штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных в период 2023 -2024 года в из загрязненной воды реки Темерник генетических детерминант устойчивости к тяжелым металлам.



# Биоинформационный анализ

Сравнительное изучение. Два штамма были изолированы в 2023 г. от людей, а три штамма изолированы из реки Темерник.

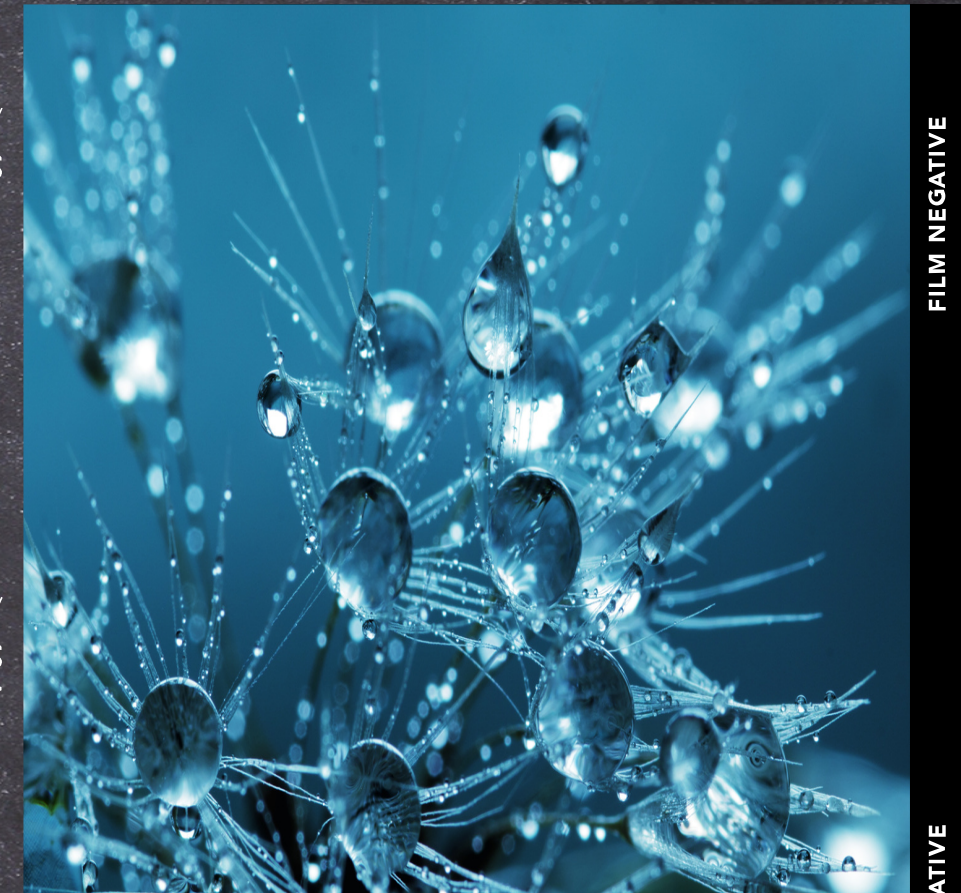
Путем вычитания и углубленного анализа найденных различий по различным базам данных нами было показано наличие в «водных» штаммов гена *czsA*.





## Биоинформационный анализ

По данным базы VacMet ген *czcA* BAC0119 содержался в составе плазмиды pMOL30 *Ralstonia metallidurans* и детерминировал продукцию Cobalt-Zinc-Cadmium resistance protein, локализованного во внутренней мембране и обеспечивающего эффлюкс тяжелых металлов из клетки (Nies DH, 1989).



→ 13

→ 13 A

FILM NEGATIVE



→ 14

→ 14 A

FILM NEGATIVE

FILM NEGATIVE



# Биоинформационный анализ

Ген *czcA* в GenBank содержался в первой хромосоме только у двух штаммов *Vibrio cholerae*.

В нашей выборке секвенированных геномов *Vibrio cholerae* ген *czcA* обнаружен в 159 из 1125 *ctx*<sup>+</sup> геномов, в 775 геномах нетоксигенных вибрионов *czcA* не обнаружен

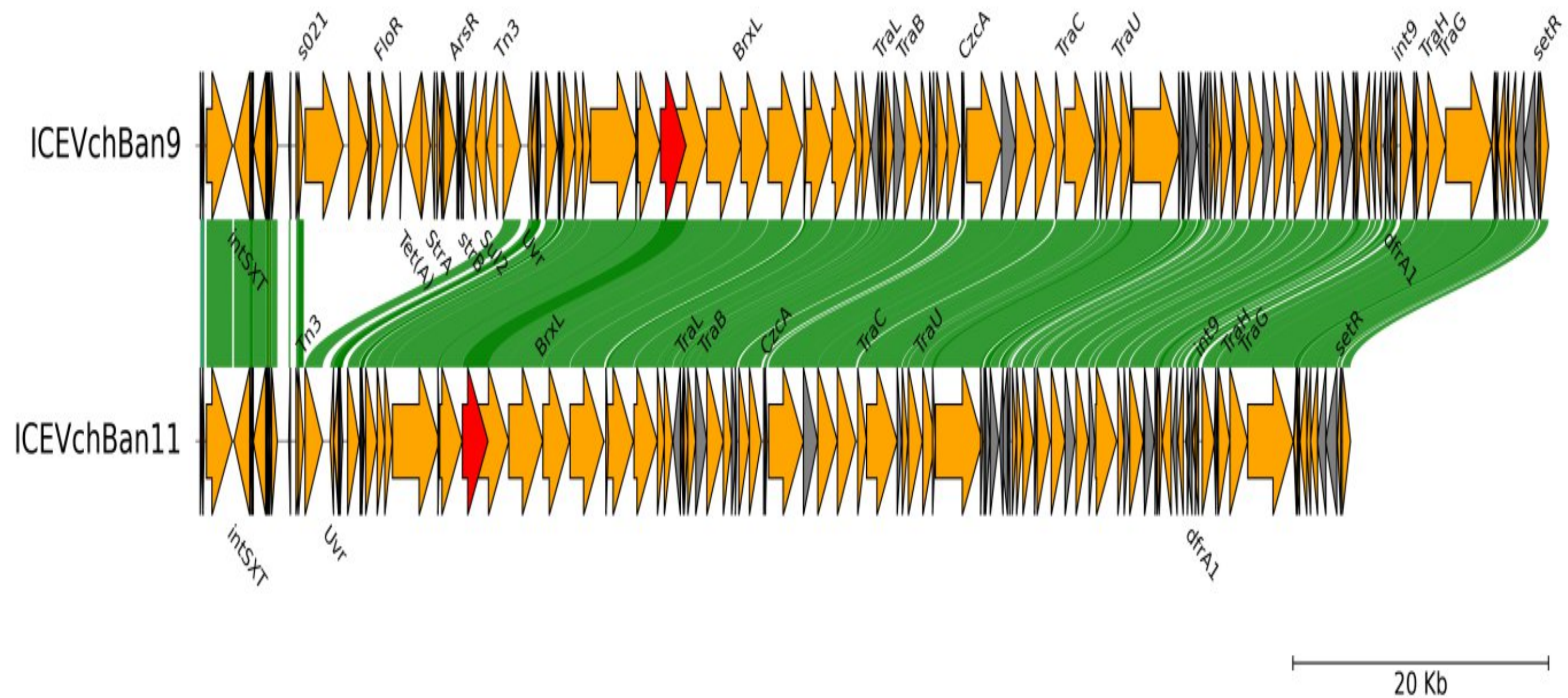


# Определение генетической локализации *czcA*

В полном геноме штамма *czcA*<sup>+</sup> *Vibrio cholerae* 83, полученном путем гибридной сборки ген *czcA* был локализован в составе интегративно-конъюгативного элемента типа ICEVchBan11.



# Определение генетической локализации гена *czcA*





# Определение функциональной активности *czcA* в составе интегративно-конъюгативного элемента типа ICEVchBan11 по величине диаметра зон ингибции роста

Штамм	вариант	кадмий	кадмий	теллур
5879 исходный	реципиент	$18.75 \pm 0.75$	$18.75 \pm 0.75$	$35.5 \pm 2.10$
5879 <i>czcA</i> +	ICEVchBan11	$14.25 \pm 0.63$	$14.25 \pm 0.63$	$33.25 \pm 1.75$



# Определение типа ICE элемента

Программа *V.cholerae* ICE genotyper при  
анализе 159 *czcA*+ геномов *Vibrio cholerae*  
идентифицировала два типа интегративно-  
конъюгативного элемента

113 геномов - ICEVchBan9

27 геномов - ICEVchBan11





## Заключение

14% *ctx*<sup>+</sup> штаммов *Vibrio cholerae* содержат ген *czcA*<sup>+</sup>, детерминирующий устойчивость к токсическому действию кадмия.

Ген *czcA*<sup>+</sup> идентифицирован в составе ICEVchBan9 и ICEVchBan11

Возможно присутствие гена *czcA* позволяет *ctx*<sup>+</sup> штаммам *Vibrio* персистировать в загрязненных водоемах.



**Спасибо за внимание!**