

Обзор информационных ресурсов по генам устойчивости микроорганизмов

Алина Геннадьевна Виноградова*, Алексей Юрьевич Кузьменков

Смоленский государственный медицинский университет, г. Смоленск, Россия

Реферат

Интерес к вопросам контроля и мониторинга антибиотикорезистентности сохраняется на протяжении последних десятилетий. Значительное количество полученных данных свидетельствует о неуклонно возрастающей доле микроорганизмов, устойчивых к антимикробным препаратам. В этой статье представлено описание информационных ресурсов, включающих данные по генам устойчивости микроорганизмов. Обеспечение эффективного контроля и своевременного выявления изменений в этой тенденции возможно при условии получения полного объема информации, в том числе по спектру генов, характеризующих устойчивость к химическим соединениям и лекарственным препаратам. Особое значение приобретает использование специально разработанных баз данных, описывающих нуклеотидные и аминокислотные последовательности, которые определяют устойчивость к антимикробным препаратам. Более того, базы данных включают сведения о точечных мутациях в геноме микроорганизмов, ассоциированных с развитием антибиотикорезистентности. Первые разрабатываемые базы данных содержали лимитированную информацию по генетическим детерминантам резистентности. Однако современные базы данных всё больше направлены на отображение полного спектра информации по различным классам генов устойчивости к антимикробным препаратам и химическим соединениям. Такой подход обеспечивает получение исчерпывающей информации, дополненной в большинстве случаев графическим отображением результатов. Работа со значительной частью ресурсов осуществляется в бесплатном режиме с возможностью сохранения итоговых результатов, что значительно упрощает обмен полученной информацией и улучшает взаимодействие между исследователями. Характерной особенностью является постоянное обновление информации и курация в ручном режиме, что обеспечивает более качественную систематизацию существующих данных.

Ключевые слова: микроорганизмы, базы данных, антибиотикорезистентность, гены резистентности, информационные ресурсы, контроль.

Для цитирования: Виноградова А.Г., Кузьменков А.Ю. Обзор информационных ресурсов по генам устойчивости микроорганизмов. *Казанский мед. ж.* 2019; 100 (3): 457–463. DOI: 10.17816/KMJ2019-457.

A review of information resources on antimicrobial resistance genes

A.G. Vinogradova, A.Yu. Kuzmenkov

Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

Abstract

Interest in the issues of antibiotic resistance control and monitoring remains actual during the past decades. A significant number of findings confirm the ever-growing ratio of antimicrobial-resistant microorganisms. The article describes the information resources including data on antimicrobial resistance genes. Efficient monitoring and timely detection of changes in this trend are possible provided that the large volume of information, including the range of the genes characterizing resistance to chemical compounds and medicines, is obtained. Using purpose-built databases describing the nucleotide and amino acid sequences that define antimicrobial resistance is particularly important. Moreover, the databases include data on point mutations in the genome of the microorganisms associated with antimicrobial resistance development. The first developed databases contained the limited information on genetic determinants of resistance. However, modern databases are more than ever tended to a full range display of information on various genes of resistance to antimicrobial medicines and chemical compounds. The approach provides meaningful data supplemented by graphic imaging of results in most cases. Access to a significant part

of resources is free of charge and allows saving the final results that considerably simplifies communicating and improves interaction between researchers. A specific feature is continuous information updating and manual curation that provides better systematization of the available data.

Keywords: microorganisms, databases, antibiotic resistance, resistance genes, information resources, control.

For citation: Vinogradova A.G., Kuzmenkov A.Yu. A review of information resources on antimicrobial resistance genes. *Kazan medical journal*. 2019; 100 (3): 457–463. DOI: 10.17816/KMJ2019-457.

Введение в клиническую практику антимикробных препаратов для борьбы с инфекционными заболеваниями — одно из важнейших достижений XX века [1]. В то же время сообщения об устойчивости микроорганизмов стали появляться уже через несколько лет после начала использования этих препаратов [2].

Оценка результатов антимикробной резистентности свидетельствует о том, что при сохранении существующих тенденций роста количество смертей вследствие устойчивости возбудителей к 2050 г. может превысить отметку 10 млн в год [3]. При этом экономические последствия данной динамики указывают на то обстоятельство, что к 2050 г. распространение антибиотикорезистентности и ассоциированный с ней постоянный рост заболеваемости и смертности могут способствовать сокращению глобального валового внутреннего продукта в пределах от 2 до 3,5% (приблизительно 100 трлн долларов США в период с 2014 по 2050 гг.) [4].

Выявление генов, являющихся молекулярно-биологической основой развития антибиотикорезистентности микроорганизмов, относится к ключевым факторам, способствующим поддержанию контроля антибиотикорезистентности на должном уровне и, кроме того, в настоящий момент играет ведущую роль при разработке новых антибактериальных препаратов [5].

Развитие технологий секвенирования, неразрывно связанных с ростом числа исследований бактериальных геномов, позволило обнаружить значительное количество генетических последовательностей с предполагаемой устойчивостью к антимикробным препаратам [6]. С целью быстрого доступа к большому объёму информации и упрощения работы с ней были разработаны профильные интернет-ресурсы [7]. Большинство из них может включать как специализированные инструменты анализа для новых последовательностей, так и базы данных, систематизирующие информацию по нуклеотидным и аминокислотным последовательностям [8]. Следует отметить, что структурные элементы многих баз данных проходят проверку, проведённую ручным способом, что является основополагающим при работе с ге-

нетическими базами [9], особенно это касается вопроса валидности аминокислотных последовательностей [10].

ARGO (Antibiotic Resistance Genes Online) представляла собой базу данных, содержащую лимитированную информацию по генам резистентности к β -лактамам антибактериальным препаратам и ванкомицину [11]. Для её формирования использовалась информация, полученная из Genbank [12] и содержащая более 600 генов устойчивости. Вместе с тем, в отношении представленного ресурса выдвигались серьёзные замечания. Так, в некоторых источниках отмечено, что значительными недостатками в ARGO были отсутствие достаточной по объёму аннотации, ограниченное количество нуклеотидных последовательностей и наличие ошибок в сопутствующих идентификационных номерах [13]. Несмотря на тот факт, что в настоящий момент описанный веб-ресурс прекратил своё существование, в последующем многие онлайн-сервисы использовали содержащийся в нём материал.

Ввиду постоянного роста и распространения β -лактамаз специалистами клиники Lahey разработана « β -lactamase classification and amino acid sequences for TEM, SHV and OXA extended-spectrum and inhibitor resistant enzymes» с целью создания универсальной номенклатуры и для упрощения поиска β -лактамаз, описанных ранее в литературных источниках [14]. Пользователю выводится информация в виде таблицы, состоящей из нескольких столбцов, с возможностью скачивания результатов в полном объёме. Представлены данные по названию и его соответствующему альтернативному варианту, номеру в базе GenBank, фенотипу (функциональному классу) и аминокислотной последовательности, кроме того, доступен список литературных источников, опубликованных по каждому типу лактамаз.

При формировании ресурса требовалось выполнение ряда правил для присвоения нового номера. В первую очередь это обнаружение фермента в природных условиях, а не синтез в лаборатории. Кроме того, уникальной должна быть как нуклеотидная, так и аминокислотная последовательности, при этом наличие

функциональных проявлений в момент включения в базу не было обязательным требованием.

На сегодняшний день представленная система не обновляется, но сохранён свободный доступ к ней. Учитывая достаточно узкий и направленный спектр маркёров устойчивости, описанный ресурс послужил основой для ряда баз данных генов антибиотикорезистентности. Одна из них — MvirDB (Microbial database of protein toxins, virulence factors and antibiotic resistance genes).

MvirDB — информационный ресурс, содержащий информацию о генах антибиотикорезистентности, токсинах и факторах вирулентности микроорганизмов. Ключевая цель создания заключалась в систематизации существующей информации по вопросам биозащиты и безопасности биомедицинских исследований. Кроме того, доступность представленных на сайте данных могла быть расширена для конечных пользователей при разработке компьютерного приложения [15]. За основу были взяты данные базы ARGO, для универсализации номенклатуры генов использовалась коллекция β -лактамаз типа TEM, разработанная представителями клиники Lahey.

Опубликованные материалы свидетельствуют, что пользователь мог загружать интересующую последовательность вручную или целым файлом для поиска совпадений среди имеющихся данных. Результаты поиска представлялись в виде таблицы. В настоящее время веб-ресурс прекратил своё существование.

Galileo™ — программное обеспечение, которое используется для анализа нуклеотидных последовательностей грамотрицательных бактерий [16]. Впервые данный продукт анонсирован в июле 2018 г. До этого момента разработка носила название MARA (the Multiple Antibiotic Resistance Annotator). Для того чтобы осуществлять работу в полном объёме, пользователю необходимо зарегистрироваться на сайте и оформить лицензию на работу с системой.

Необходимо подчеркнуть, что приобретение лицензии требует оплаты в размере свыше 2 тыс. долларов США за год, в качестве альтернативы предоставляется возможность бесплатного пользования в течение 14-дневного пробного периода. В то же время любой пользователь имеет доступ к структурной составляющей ресурса, где указаны названия генов резистентности, пример последовательности из GenBank и краткое описание функции гена.

После приобретения лицензии появляется возможность проводить анализ собственных данных, загружая их в виде fasta-файла размером

до 5 Mb или непосредственно осуществляя ввод последовательности с клавиатуры. Выходная информация оформлена таблицей, состоящей из четырёх столбцов: позиция гена в последовательности, название, тип гена и комментарий. Кроме того, полученные результаты имеют графическое отображение внизу отчёта с возможностью сохранения [17]. Данная система относится к постоянно обновляемым, с обязательным контролем всего объёма информации ручным способом [18].

Одним из первых источников, отличающихся наличием широкого спектра генов антибиотикорезистентности, стала ARDB (Antibiotic Resistance Genes Database).

ARDB — база данных, включающая информацию по генам антибиотикорезистентности широкого спектра микроорганизмов. Ключевые задачи и мотивы, определяющие разработку представленного ресурса, включали создание и обеспечение доступа к унифицированному сборнику информации об антимикробной устойчивости, упрощение идентификации впервые выявленных генов антибиотикорезистентности и адаптацию их характеристики к имеющимся в системе. Все гены классифицировались в соответствии с их функциональной активностью и были объединены в единый профиль, представляющий собой перечень лекарственных препаратов, к которым выделены устойчивые гены.

Для повышения эффективности работы с веб-сайтом пользователю дана возможность выбирать параметры поиска. В выпадающем меню содержится несколько вариантов: тип резистентности, резистентный ген, геном, вид и род микроорганизма, название антибактериального препарата. Помимо универсального поиска, по ключевым словам, доступен расширенный, где дополнительно обозначена ссылка на соответствующий идентификационный номер в базе данных NCBI (National Center for Biotechnology Information).

Для проведения выравнивания интересующей последовательности рекомендованы следующие варианты: BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), BLAST с использованием соответствующей матрицы, BLAST для множественных последовательностей. Последняя из вышеуказанных функций анализирует несколько (менее 5000) оснований в формате fasta-файла, что позволяет анализировать бактериальный геном или большой транспозон. Кроме того, здесь локализован идентификатор мутаций устойчивости, позволяющий пользователю выявить мутации, которые потенциально

могут привести к развитию устойчивости (описано для 12 генов).

Преимуществом ARDB было регулярное обновление информации, при этом отличительная особенность — контроль данных, проводимый ручным способом. К основным ресурсам, формирующим ARDB, относились базы данных нуклеотидных и аминокислотных последовательностей NCBI, дополнительно использовалась белковая база данных Swiss-Prot. Критериями исключения были избыточные гены, наличие в структуре векторов и неполные гены. При этом полученная информация экспериментально подтверждалась по принципу соотношения с литературными источниками и метаинформацией, представленной в NCBI [13].

На момент последнего обновления, датированного июлем 2009 г., ARDB содержит информацию о резистентности для 13 293 генов, 377 типов, 257 антибиотиков, 3369 видов и 124 родов. По информации разработчиков, все имеющиеся данные ARDB содержатся в CARD (Comprehensive Antibiotic Resistance Database), которая имеет статус активной базы данных и постоянно обновляется. Тем не менее, на сайте проекта любому заинтересованному пользователю доступен архив с включением финального обновления 2009 г. [19].

CARD была создана в 2013 г. канадскими разработчиками и представляет собой веб-ресурс, объединяющий обширную коллекцию детерминант антибиотикорезистентности к соответствующим антибактериальным препаратам, что обеспечивается за счёт использования двух составляющих: Antibiotic Resistance Ontology (ARO) и Resistance Gene Identifier (RGI).

ARO — специально разработанный словарь для описания антимикробных лекарственных веществ и мишеней их воздействия, особенности механизмов резистентности. Также содержит термины, связанные с генами микроорганизмов и их мутациями. Для проведения анализа пользователь может загрузить fasta-файл, кроме того предоставлена возможность ручного внесения данных. Выравнивание проводят как для аминокислотной, так и для нуклеотидной последовательности. В то же время существенным ограничением использования описываемого ресурса служит лимит в количестве последовательностей: не более одной.

RGI представляет собой основу CARD для предсказания генов антибиотикорезистентности с использованием генетических последовательностей. RGI объединяет ARO, биоинформационные модели и молекулярные данные последовательностей, чтобы осущес-

твить разносторонний анализ антибиотикорезистентности на уровне генома.

Использование RGI позволяет обеспечить предварительное описание дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) или последовательностей белка, опираясь на информацию, доступную в базе CARD. Открытые рамки считывания длиной менее 30 пар оснований игнорируются [20].

Анализ большого количества геномов RGI доступен в виде инструмента — командной строки. Для визуализации результат суммарно отображается в виде таблицы, где пользователю доступна возможность текстового поиска. Также информация представлена в виде интерактивного графика, позволяющего группировать гены, обуславливающие устойчивость к одному и тому же классу антибактериальных препаратов. В сопроводительных материалах подчёркнуто, что результаты онлайн RGI-анализа сохраняются в течение 7 дней.

Для включения последовательности в представленную базу данных должно быть выполнено несколько условий: нечувствительность к антимикробным препаратам у данного гена проявляется как *in vivo*, так и *in vitro*, что требует обязательного подтверждения соответствующей публикацией в рецензируемом научном журнале, а кроме того, полное описание генетической последовательности должно быть доступно в репозитории GenBank NCBI [21].

Представленная база данных ежемесячно пополняется новой информацией, достоверность которой контролируют вручную. В её структуре описаны генетические последовательности по первичной и приобретённой антимикробной резистентности. На ноябрь 2018 г. CARD содержит информацию о 3997 онтологических терминах, 2492 последовательностях, 1215 SNPs (Single nucleotide polymorphisms), 2447 публикациях, 2540 моделях обнаружения антимикробной резистентности [22].

ResFinder — веб-сайт, который использует данные геномного секвенирования для идентификации приобретённых резистентных генов у бактерий [23] и хромосомных мутаций. В соответствии с материалами, предоставляемыми разработчиками ресурса, для идентификации пользовательских файлов необходимо, чтобы «ген-кандидат» покрывал минимум 20% длины гена устойчивости, который содержится в базе данных [24].

Можно выбрать порог совпадения (идентификатор). По умолчанию выставлен показатель 90%. Для работы необходимо загрузить один fasta-файл с нуклеотидными последова-

тельность, затем происходит выравнивание с использованием BLAST. Следует отметить, что сведения о невозможности анализа большого количества файлов появляется уже после загрузки на сервер, что потенциально может вводить в заблуждение при работе. Итогом будет считаться результат, при котором в большой степени возникает совпадение загруженной нуклеотидной последовательности с данными, которые представлены в текущей базе. Выравнивание для идентификации генов устойчивости происходит по нескольким классам антимикробным препаратов одновременно.

Ссылка на результаты проведённого анализа отправляется на указанный пользователем адрес электронной почты, доступна в течение 7 дней, её можно использовать многократно. Информацию, представленную в Resfinder, обрабатывают вручную и обновляют несколько раз в течение года с увеличением её количества и коррекцией неточностей в генетических последовательностях [25]. В базе данных на ноябрь 2018 г. содержится 3057 приобретённых генов антибиотикорезистентности, общее количество точечных мутаций — свыше 1000.

ARG-ANNOT (Antibiotic Resistance Gene ANNOtation) — платформа для поиска приобретённых генов устойчивости к антибактериальным препаратам и точечных мутаций в генетическом материале бактерий. Для своей работы ресурс использует программу BLAST в программном обеспечении Bio-Edit. Вся информация по генетическим детерминантам антибиотикорезистентности собрана из опубликованных работ и онлайн-ресурсов, при этом нуклеотидные и аминокислотные последовательности получены из базы данных NCBI GenBank [26]. С декабря 2018 г. относится к функционирующим сайтам.

Bacterial Antimicrobial Resistance Reference Gene Database — база данных, зарегистрированная в феврале 2016 г. Биопроjekt NCBI сотрудники курируют вручную. Следует отметить, что данный вариант контроля гарантирует отсутствие избыточности в последовательностях и строгое соответствие с литературными источниками [27]. При этом акцент направлен на приобретённую резистентность. Ключевые источники, формирующие базу данных: группа Lahey, Resfinder, the Center for Veterinary Medicine at the Food and Drug Administration, CARD, the Institut Pasteur, Dr. Marilyn Roberts и Dr. Derrick Crook [28].

Контроль осуществляется с использованием скрытых марковских моделей коллекции ResFams [18], Pfam и TIGRFAMs для обеспе-

чения аннотации генов в автоматизированном и ручном режимах [29]. На октябрь 2018 г. представлено 9158 файлов по нуклеотидным и аминокислотным последовательностям. Особенность записи нуклеотидных последовательностей — включение фланкирующих участков из 100 пар оснований с каждой стороны от кодирующей области при условии, если они первоначально присутствовали в исходных данных.

Кроме того, структура аннотации, описывающей продукт синтеза из нуклеотидной последовательности, используется и при характеристике этой последовательности в NCBI, что позволяет избежать возможных ошибок при работе с информацией значительного объёма, расположенной в различных источниках.

Следует отметить, что для отображения последовательности в названии генов, ответственных за резистентность к β -лактамам антибактериальным препаратам, будут представлены обозначения аллелей, поскольку даже изменения отдельных аминокислот могут влиять на функциональную активность белка.

Результаты исследований, проведённых *in vitro*, показали, что при осуществлении контроля над резистентностью микроорганизмов необходимо учитывать их чувствительность к биоцидам, используемым в качестве средств, уничтожающих патогенные микроорганизмы во внешней среде, что активно используют в медицине, фермерском хозяйстве, пищевой промышленности.

Несмотря на активное применение биоцидов с гигиенической целью, их механизм действия, направленный на уничтожение микроорганизмов, недостаточно изучен. При этом существуют данные, свидетельствующие в пользу того, что патогенные агенты обладают свойствами, которые позволяют им выжить при воздействии биоцидов [30].

С целью контроля информации по устойчивости бактерий к биоцидам и металлам была создана база данных BacMet (Antibacterial Biocide and Metal Resistance Genes Database), находящаяся в свободном доступе. Представленный информационный ресурс состоит из двух баз данных: последовательности с экспериментально подтверждённой резистентностью бактерий и последовательности с прогнозируемой устойчивостью. В основе представлена информация только по тем генам, которые имеют подтверждение соответствующей статьёй в Pubmed.

При этом разработчики и кураторы представленной базы данных утверждают, что каждую статью вручную анализируют для опре-

деления интересующих генов, родственных генов, перекрёстной резистентности, необходимых экспериментальных процедур и соединений, используемых для проверки фенотипа устойчивости [31].

База данных генов с прогнозируемой устойчивостью отличается быстро возрастающими темпами роста в связи с увеличением количества зарегистрированных бактериальных генов и насчитывает более 155 тыс. генов. При этом на момент последнего обновления, датированного мартом 2018 г., экспериментально подтверждённая база данных насчитывает 753 гена устойчивости бактерий [32].

Несмотря на тот факт, что в настоящее время появляется всё большее количество исследований, свидетельствующих о важности выявления генов устойчивости среди микроорганизмов, все прогнозы в вопросах, затрагивающих гены антибиотикорезистентности, следует рассматривать с осторожностью, особенно при работе с базами данных, поскольку нельзя исключать вероятность ложноотрицательного заключения. Это может быть связано с упущением искомой последовательности при формировании базы данных или быть следствием несвоевременного обновления используемого ресурса. Таким образом, следует отдавать предпочтение источникам с постоянным обновлением и наиболее полной коллекцией последовательностей [33].

В то же время распространяется идея о том, что следующее поколение антибактериальных препаратов будет отличаться высокой специфичностью [5], обладая активностью в отношении узкого спектра патогенов с особыми формами резистентности, разработанного на основе тщательного анализа генотипа резистентности и эпидемиологии в различных географических регионах.

Таким образом, сбор и формирование коллекции генов патогенных микроорганизмов может принести значительную пользу в решении проблемы правильного использования антибиотиков при условии постоянного совершенствования баз данных.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Davies J., Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2010; 74 (3): 417–33. DOI: 10.1128/MMBR.00016-10.
2. Aslam B., Wang W., Arshad M. et al. Antibiotic resistance: A rundown of a global crisis. *Infect. Drug Resist.* 2018; 11: 1645–1658. DOI: 10.2147/IDR.S173867.
3. O'Neill J. Review on antimicrobial resistance. antimicrobial resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. 2014. https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf (дата обращения: 18.11.2018).
4. Fields F.R., Lee S.W., McConnell M.J. Using bacterial genomes and essential genes for the development of new antibiotics. *Biochem. Pharmacol.* 2017; 134: 74–86. DOI: 10.1016/j.bcp.2016.12.002.
5. Donadio S., Maffioli S., Monciardini P. et al. Antibiotic discovery in the twenty-first century: Current trends and future perspectives. *J. Antibiot. (Tokyo)*. 2010; 63 (8): 423–430. DOI: 10.1038/ja.2010.62.
6. Martínez J.L., Coque T.M., Baquero F. What is a resistance gene? Ranking risk in resistomes. *Nat. Rev. Microbiol.* 2015; 13 (2): 116–123. DOI: 10.1038/nrmicro3399.
7. NAR Database Summary Paper. <https://www.oxfordjournals.org/nar/database/subcat/11/35> (дата обращения: 21.11.2018).
8. Zhulin I.B. Databases for microbiologists. *J. Bacteriol.* 2015; 197 (15): 2458–2467. DOI: 10.1128/JB.00330-15.
9. Warinner C., Rodrigues J.F., Vyas R. et al. Pathogens and host immunity in the ancient human oral cavity. *Nat. Genet.* 2014; 46 (4): 336–344. DOI: 10.1038/ng.2906.
10. Baxevanis A.D., Ouellette B.F. Bioinformatics: a practical guide to the analysis of genes and proteins. Wiley-Interscience. 2001; 470 p.
11. Scaria J., Chandramouli U., Verma S.K. Antibiotic Resistance Genes Online (ARGO): a database on vancomycin and beta-lactam resistance genes. *Bioinformatics*. 2005; 1 (1): 5–7. PMID: 17597841.
12. GenBank. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> (дата обращения: 22.11.2018).
13. Liu B., Pop M. ARDB — Antibiotic Resistance Genes Database. *Nucleic Acids Res.* 2009; 37: D443–D447. DOI: 10.1093/nar/gkn656.
14. LaheyClinic. <https://www.lahey.org/Studies/> (дата обращения: 22.11.2018).
15. Zhou C.E., Smith J., Lam M. et al. MvirDB—a microbial database of protein toxins, virulence factors and antibiotic resistance genes for bio-defense applications. *Nucleic Acids Res.* 2007; 35: D391–D394. DOI: 10.1093/nar/gkl791.
16. Galileo™. <https://www.arcbio.com/amr/> (дата обращения: 22.11.2018).
17. Galileo-amr-example. <https://www.arcbio.com/wp-content/uploads/2018/03/galileo-amr-example.pdf> (дата обращения: 23.11.2018).
18. Gibson M.K., Forsberg K.J., Dantas G. Improved annotation of antibiotic resistance determinants reveals microbial resistomes cluster by ecology. *ISME J.* 2015; 9 (1): 207–2016. DOI: 10.1038/ismej.2014.106.
19. ARDB — Antibiotic Resistance Genes Database. <https://arbd.cbcb.umd.edu/documentations.shtml> (дата обращения: 17.11.2018).
20. McArthur A.G., Waglechner N., Nizam F. et al. The comprehensive antibiotic resistance database. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013; 57 (7): 3348–3357. DOI: 10.1128/AAC.00419-13.
21. Jia B., Raphenya A.R., Alcock B. et al. CARD 2017: expansion and model-centric curation of the comprehensive antibiotic resistance database. *Nucleic Acids Res.* 2017; 45 (D1): D566–D573. DOI: 10.1093/nar/gkw1004.
22. CARD — Comprehensive Antibiotic Resistance Database. <https://card.mcmaster.ca/home> (дата обращения: 23.11.2018).

23. Zankari E., Hasman H., Cosentino S. et al. Identification of acquired antimicrobial resistance genes. *J. Antimicrob. Chemother.* 2012; 67 (11): 2640–2644. DOI: 10.1093/jac/dks261.
24. Zankari E. Comparison of the web tools ARG-ANNOT and ResFinder for detection of resistance genes in bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58 (8): 4986. DOI: 10.1128/AAC.02620-14.
25. ResFinder. <https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/> (дата обращения: 23.11.2018).
26. Gupta S.K., Padmanabhan B.R., Diene S.M. et al. ARG-ANNOT, a new bioinformatic tool to discover antibiotic resistance genes in bacterial genomes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58 (1): 212–220. DOI: 10.1128/AAC.01310-13.
27. O'Leary N.A., Wright M.W., Rodney Brister J.R. et al. Reference sequence (RefSeq) database at NCBI: status, taxonomic expansion, and functional annotation. *Nucleic Acids Res.* 2016; 44 (D1): D733–D745. DOI: 10.1093/nar/gkv1189.
28. Bacterial antimicrobial resistance reference gene database. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/PRJNA313047> (дата обращения: 19.11.2018).
29. Haft D.H., Selengut J.D., Richter R.A. et al. TIGRFAMs and Genome Properties in 2013. *Nucleic Acids Res.* 2013; 41: D387–D95. DOI: 10.1093/nar/gks1234.
30. Research strategy to address the knowledge gaps on the antimicrobial resistance effects of biocides. 2010. http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenihr_o_028.pdf (дата обращения: 17.11.2018). DOI: 10.2772/39297.
31. Pal C., Bengtsson-Palme J., Rensing C. et al. BacMet: antibacterial biocide and metal resistance genes database. *Nucleic Acids Res.* 2014; 42: D737–D743. DOI: 10.1093/nar/gkt1252.
32. BacMet database. <http://bacmet.biomedicine.gu.se/index.html> (дата обращения: 19.11.2018).
33. Xavier B.B., Das A.J., Cochrane G. et al. Consolidating and exploring antibiotic resistance gene data resources. *J. Clin. Microbiol.* 2016; 54 (4): 851–859. DOI: 10.1128/JCM.02717-15.