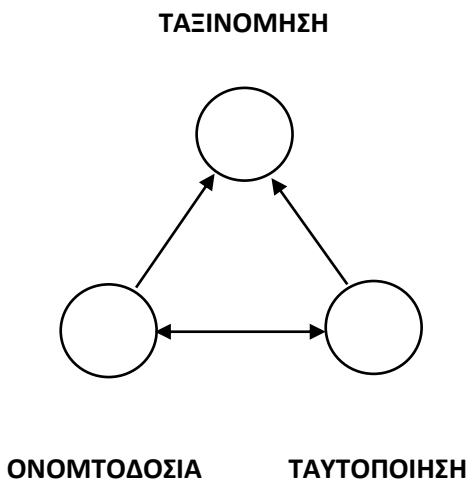


ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΟΝΟΜΑΤΟΔΟΣΙΑ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

1. Εισαγωγή

Ταξινόμηση (Classification) ενός βακτηρίου αλλά και γενικότερα ενός οργανισμού είναι η τοποθέτησή του σε ένα «ταξινομικό σχήμα» ή «κλείδα ταξινόμησης», δηλαδή σ' ένα κατάλογο όπου έχουν οργανωθεί σε ομάδες οι οργανισμοί, ανάλογα με τον βαθμό ομοιότητας/συνάφειας που έχουν μεταξύ τους.

Προϋπόθεση της ταξινόμησης ενός βακτηρίου είναι να του δοθεί όνομα (*Nomenclature*) (**ονοματοδοσία**) π.χ. *Escherichia coli*. Για να δοθεί όμως όνομα, θα πρέπει να γίνει η **ταυτοποίησή** του (*Identification*), δηλαδή ένα σύνολο χαρακτηριστικών του (φαινοτυπικών ή/και γενοτυπικών), να ταυτιστεί με τον αντίστοιχο μικροοργανισμό – αναφοράς (*type strain*), δηλαδή τον μικροοργανισμό εκείνο ο οποίος έχει όλα τα χαρακτηριστικά του είδους (χαρακτηριστικό είδος), π.χ. όταν ένα υπό διερεύνηση βακτήριο έχει 95% ομοιότητα στα χαρακτηριστικά του με το *Escherichia coli* – *type strain*, τότε πρόκειται για *Escherichia coli* και αυτό. Συνεπώς, οι: **Ταξινόμηση, Ταυτοποίηση και Ονοματοδοσία είναι αλληλένδετες (Σχ. 1).**



Σχ. 1 Οι τρεις πόλοι του συστήματος Ταξινόμησης

2. Σχήματα Ταξινόμησης

Τα βασικά ταξινομικά σχήματα που χρησιμοποιούνται σήμερα είναι δύο: το παλαιότερο είναι το «**Ιεραρχικό Σύστημα Ταξινόμησης**» (*Hierarchical Taxonomic System*), όπου η ταξινόμηση οργανώνεται σε ιεραρχικές ομάδες και η υψηλότερη ιεραρχικά ομάδα, στο αμέσως χαμηλότερο επίπεδο αναλύεται σε άλλες μικρότερες μονάδες. Το Ιεραρχικό σύστημα ταξινόμησης, υπό μία πολύ ευρεία έννοια,

βασίζεται πολύ σε χαρακτηριστικά των βακτηρίων, που με κάποιο τρόπο είναι αντιληπτά από τον άνθρωπο, π.χ. σχήμα, μέγεθος, μεταβολικά προϊόντα, σπόρια, βλεφαρίδες, είδος κυτταρικού τοιχώματος, χαρακτηριστικά κυτταρικής μεμβράνης κ.ά. Όμως, έχει αρκετούς ταξινομικούς περιορισμούς, όσο κατεβαίνουμε ιεραρχικά – χαμηλότερα από είδος (*species*) – διότι έχει περιορισμένη «διακριτική/διαχωριστική ικανότητα» (*discrimination*) και ουσιαστικά δεν μπορεί να διαχειρισθεί την πολυμορφία των βακτηρίων που συνεχώς ανακαλύπτονται. Όμως, χρησιμοποιείται σε πολύ μεγάλο βαθμό, διότι έχει άμεσα αντιληπτό νόημα για τους επιστήμονες. Η περιγραφή ενός βακτηρίου ως *Bacillus cereus* – ανεξάρτητα του στελέχους – σημαίνει ότι πρόκειται για σπορογόνο βακτήριο που μπορεί να παράγει τοξίνες.

Ένα νεότερο – μετά τη δεκαετία του 1960 – ταξινομικό σύστημα είναι το «**Αριθμητικό Ταξινομικό Σύστημα**» (*Numerical Taxonomy System*), το οποίο έχει μαθηματική προσέγγιση (π.χ. Cluster Analysis) στην διαχείριση του βαθμού ομοιότητας/συνάφειας των χαρακτηριστικών των οργανισμών που μελετώνται και συγκρίνονται. Επίσης, είναι γνωστό και ως "phenetics". Τα αριθμητικά ταξινομικά σχήματα εμφανίζονται με τη μορφή Δενδρογραμμάτων, έχουν γενεαλογικό χαρακτήρα και χρησιμοποιούνται, κυρίως, για επιστημονικούς σκοπούς (Ιατρική, Επιδημιολογία κ.ά.).

Δεδομένης της ποικιλομορφίας των οργανισμών που συνεχώς ανακαλύπτονται, η δημιουργία καταλόγων ταξινόμησης (*Taxonomy*) δεν είναι μία εύκολη υπόθεση και υπάρχουν ερευνητές και ιδρύματα με αποκλειστικό σκοπό την «τοποθέτηση» όλων των γνωστών οργανισμών στους καταλόγους αυτούς. Θα πρέπει όμως να σημειωθεί, ότι ναι μεν υπάρχουν κοινά αποδεκτές κλειδες ταξινόμησης, όμως δεν υπάρχει μια επίσημη και είναι δύο οι αιτίες για αυτό: **(α)** δεν υπάρχει – προς το παρόν – μία κοινά χρησιμοποιούμενη (*golden standard*) τεχνική μοριακής ταυτοποίησης και **(β)** ανακαλύπτονται νέα βακτήρια, τα οποία πρέπει να τοποθετηθούν εκ νέου μέσα στις κλειδες, οι οποίες μετά από ορισμένα χρόνια πρέπει να αναδιαταχθούν σε μεγάλο βαθμό και πάλι. Θα πρέπει, επίσης, να υπογραμμισθεί, ότι οι ταξινόμηση των βακτηρίων δεν περιλαμβάνει μόνο τροφιμογενή βακτήρια, αλλά όλα τα βακτήρια που υπάρχουν παντού στη φύση, αλλά και τον άνθρωπο, γεγονός που αυξάνει σημαντικά τη δυσκολία του εγχειρήματος.

Μία από τις πιο γνωστές και κοινά χρησιμοποιούμενες Ιεραρχικές Κλειδες Ταξινόμησης, εδώ και αρκετά χρόνια, είναι η ταξινομική κλειδα "*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*", στην οποία η κατάταξη βασίζεται, κυρίως, σε μορφολογικά, μεταβολικά και ανοσολογικά χαρακτηριστικά και πολύ λιγότερο σε γενετικά. Τα τελευταία χρόνια όμως, λόγω των συνεχών και ταχέων αλλαγών στις μοριακές τεχνικές ταυτοποίησης, αυτή η κλειδα ταξινόμησης τείνει να χρησιμοποιείται όλο και λιγότερο, χωρίς όμως να έχει χάσει την πρακτική αξία της. Ένας Δικτυακός τόπος, ο οποίος ενημερώνεται σε πολύ τακτική βάση σχετικά με την Ιεραρχική Κατάταξη των βακτηρίων, είναι ο "<https://lpsn.dsmz.de/>" (*Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures*).

3. Ονοματοδοσία

Σε ό,τι αφορά την ονοματοδοσία (*Nomenclature*) των βακτηρίων αυτή ελέγχεται από το "*International Code of Nomenclature of Prokaryotes*". Στην πραγματικότητα, άτυπα, οι ταξινομήσεις έχουν αποδοθεί στις Διεθνείς και Εθνικές Συλλογές

Καλλιεργειών ή Τράπεζες Βακτηρίων, στις οποίες συντηρούνται καθαρές καλλιέργειες στελεχών. Ο ρόλος των συλλογών αυτών είναι πολλαπλός, με κυριότερο ότι διατηρούν καθαρές και καλά χαρακτηρισμένες καλλιέργειες βακτηρίων – και όχι μόνο – οι οποίες είναι διαθέσιμες για ερευνητικούς σκοπούς, αποτελώντας σταθερό σημείο αναφοράς και επιστημονικής συνεννόησης για όλους τους ερευνητές. Οι κυριότερες από αυτές παρουσιάζονται στον **Πίνακα 1**.

Πίνακας 1: Κυριότερες Εθνικές και Διεθνείς συλλογές βακτηρίων

ΟΝΟΜΑ	ΑΚΡΩΝΥΜΙΟ	ΧΩΡΑ
American Type Culture Collection	ATCC	ΗΠΑ
National Collection of Type Cultures	NCTC	Αγγλία
Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen	DSMZ	Γερμανία
Collection d'Institut Pasteur	CIP	Γαλλία
Belgian Co-ordinated Collections of Micro-organisms	BCCM	Βέλγιο
International Collection of Microorganisms from Plants	ICMP	Διεθνής
World Federation for Culture Collections	WDCM	Διεθνής

Το Διεθνές Κέντρο Συλλογής Καλλιεργειών Αναφοράς “*World Federation for Culture Collections*” δίνει αντιστοίχιση μεταξύ των προτύπων στελεχών που διατηρεί και διαθέτει, με τα πρότυπα καθαρά στελέχη άλλων Κέντρων Συλλογής και Διατήρησης στελεχών, π.χ. το στέλεχος *Escherichia coli* 00012 WDCM είναι το ίδιο με τα στελέχη *Escherichia coli* των αντιστοιχών καθαρών καλλιεργειών: ATCC™8739, BCRC 11634, CCM 4517, CECT 516, CIP 53.126, DSM 1576, IFO 3972, IMET 11121, LMG 8063, NBIMCC 3397, NCDO 904, NCIMB 8545, NCTC 12923. Πρακτικά αυτό σημαίνει ότι τα δεδομένα μίας επιστημονικής εργασίας ή επιδημιολογικής μελέτης, που αφορούν το στέλεχος *Escherichia coli* 00012 WDCM, συνδέονται με τα αποτελέσματα μίας άλλης, στην οποία είχε χρησιμοποιηθεί, π.χ. το στέλεχος *Escherichia coli* ATCC™8739.

Η ταυτοποίηση και η επακόλουθη ονοματοδοσία ενός βακτηρίου, καθώς και οποιοδήποτε άλλου έμβιου οργανισμού ή ιού, είναι εξαιρετικής σημασίας, όχι μόνο διότι αποτελεί τρόπο επικοινωνίας και συνεννόησης μεταξύ των επιστημόνων, αλλά και για νομοθετικούς σκοπούς. Για παράδειγμα, όταν σε ένα τρόφιμο βρεθεί και ταυτοποιηθεί το βακτήριο *Escherichia coli* σημαίνει ότι το τρόφιμο μπορεί να είναι επισφαλές από πλευράς υγιεινής, αλλά εάν ταυτοποιηθεί ότι πρόκειται για *Escherichia coli* O157:H7, τότε πρόκειται για τρόφιμο που έχει μόλυνση κοπρανώδους προέλευσης και είναι επικίνδυνο.

4. Ταξινόμικοί χαρακτηρισμοί

Η ιεραρχική ταξινόμηση των προκαρυωτικών οργανισμών, κατά φθίνουσα σειρά, είναι: Domain (*Επικράτεια*), Phylum (*Φύλλο*), Class (*Ομοταξία*), Order (*Τάξη*), Family (*Οικογένεια*), Genus (*Γένος*), Species (*Είδος*). Στην πράξη βέβαια, ως μέσο περιγραφής ενός βακτηρίου χρησιμοποιούνται, κυρίως, το γένος και το είδος. Σε ορισμένες περιπτώσεις επίσης, το γένος ή/και το είδος συνοδεύονται από ορισμένους όρους, ως ακολούθως:

- **spp:** είναι συντομογραφία του όρου “*species*”, που σημαίνει «είδη», δηλαδή ο όρος *Lactobacillus* spp. σημαίνει είδη του γένους των Λακτοβακίλων. Εάν υπάρχει π.χ. η έκφραση «η αλλοίωση του πληθυσμού προκλήθηκε από *Lactobacillus* spp.» σημαίνει ότι η αλλοίωση του πληθυσμού προήλθε από διαφορετικά είδη του γένους *Lactobacillus* π.χ. *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*, κ.ά.

- **subp.:** είναι συντομογραφία του όρου “*subspecies*”, που σημαίνει «υποείδη», δηλαδή μέσα σε ένα είδος, π.χ. στο *Lactococcus lactis*, υπάρχουν διαφορετικά υποείδη, όπως τα *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* και *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. Τα δύο συγκεκριμένα υποείδη έχουν διαφορές στην ικανότητά τους να αναπτύσσονται σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως: θερμοκρασία, αλάτι, pH. Επίσης, το βακτήριο *Lactobacillus delbrueckii* έχει έξι διαφορετικά υποείδη.

Εκτός των παραπάνω χαρακτηρισμών, που έχουν και επίσημο ταξινομικό χαρακτήρα, πολύ συχνά συναντώνται και οι ακόλουθοι όροι:

- **serotype:** σημαίνει «ορότυπος» και συντομογραφικά αναφέρεται ως “ser.”. Οι ορότυποι βασίζονται σε διαφοροποιήσεις ανοσολογικής φύσης και συγκεκριμένα των αντιγόνων της κυτταρικής μεμβράνης των βακτηρίων. Πολύ χαρακτηριστικές περιπτώσεις οροτύπων συναντώνται στο γένος *Salmonella* spp. ή ορισμένες φορές στο είδος *Escherichia coli*.

Στην περίπτωση των *Salmonella* spp. και συγκεκριμένα για το είδος *enterica* υποείδος *enterica* (*Salmonella enterica* subsp. *enterica*) υπάρχουν πέντε διαφορετικοί ορότυποι και συγκεκριμένα: Typhi, Typhimurium, Enteritidis, Paratyphi και Choleraesuis. Για παράδειγμα, ο ορότυπος Typhi γράφεται ως εξής: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Typhi, Συντομογραφικά, πολύ συχνά, χωρίς να είναι λάθος, το παραπάνω βακτήριο μπορεί να γραφεί ως *Salmonella* Typhi.

Στην περίπτωση του βακτηρίου *Escherichia coli* υπάρχουν και έχουν αναγνωρισθεί οι ακόλουθοι παθογόνοι ορότυποι: O157:H7, O104:H4, O121, O26, O103, O111, O145 και O104:H21. Ο πιο συνηθισμένος, ως εξωγενής μόλυνση στα τρόφιμα, είναι ο ορότυπος O157:H7. Συνεπώς, όταν το βακτήριο *Escherichia coli* συνοδεύεται από τον χαρακτηρισμό O157:H7, δηλαδή *Escherichia coli* O157:H7, σημαίνει ότι πρόκειται για την παθογόνο εκδοχή του βακτηρίου.

- **biovar:** σημαίνει «βιότυπος» και αφορά μικρές διαφοροποιήσεις μεταξύ στελεχών του ίδιου είδους, στο επίπεδο βιοχημικών ή φυσιολογικών χαρακτηριστικών τους, π.χ. σε επιδημιολογική μελέτη διαπιστώθηκε ότι τα κυριότερα κρούσματα Βρουκέλωσης (ζωνόσος) προήλθαν από *Brucella melitensis* biovar 2 και *Brucella abortus* biovar 3. Πρόκειται λοιπόν για πολύ συγκεκριμένα στελέχη των ειδών *Brucella melitensis* και *Brucella abortus*. Συχνά αναγράφεται και ως “var.”.

- **strain:** ένας από τους πιο συχνά χρησιμοποιούμενους όρους στην μικροβιολογία είναι το «στέλεχος» (*strain*). Στελέχη είναι βακτήρια που ανήκουν στο ίδιο είδος και μπορεί να έχουν πολύ μικρές διαφορές μεταξύ τους, σε γενετικό επίπεδο. Συνήθως, ένα στέλεχος προέρχεται από ένα κύτταρο καθαρής καλλιέργειας. Συχνά, αναφέρεται και ως «καθαρή καλλιέργεια», δηλαδή μία καλλιέργεια η οποία αποτελείται από ένα και μόνο ένα στέλεχος. Ωστόσο, μετά από αρκετές ανακαλλιέργειες, ένα στέλεχος μπορεί να παρουσιάσει διαφοροποιήσεις από το αρχικό. Αυτός είναι και ο λόγος που υπάρχουν οι τράπεζες μικροοργανισμών, όπου μπορεί πάντοτε να αναζητηθούν τα αρχικά στελέχη. Συνεπώς, όταν δίπλα από ένα βακτήριο υπάρχει ένας αλφαριθμητικός

προσδιορισμός π.χ. *Escherichia coli* NCTC 12923 αυτό σημαίνει ότι το βακτήριο αυτό είναι από καθαρή καλλιέργεια, προερχόμενη από Συλλογή Καλλιεργειών, με δεδομένα χαρακτηριστικά.

5. Τρόπος αναγραφής και εκφοράς των βακτηρίων

Η ταξινόμική περιγραφή όλων των έμβιων οργανισμών πραγματοποιείται με το διωνυμικό σύστημα (*binomial system*) ονοματολογίας, σε επίπεδο γένους (*genus*) και είδους (*species*). Και οι δύο λέξεις είναι στα Λατινικά ή είναι λατινοποιημένες λέξεις. Πάντα προηγείται η ανώτερη ταξινόμικά ομάδα και ακολουθεί η κατώτερη, οπότε πρώτα αναφέρεται το γένος και μετά το είδος. Ο τρόπος αναγραφής είναι απολύτως συγκεκριμένος και έχει λεπτομερώς περιγράψει και καθιερωθεί, χωρίς επιφυλάξεις, από το «*International Code of Nomenclature of Prokaryotes*». Ακολουθεί σειρά παραδειγμάτων, όπου εξηγείται ο ορθός τρόπος γραφής:

- ✓ το γένος και το είδος πάντοτε με πλάγια γράμματα
- ✓ το γένος πάντοτε με το πρώτο γράμμα κεφαλαίο
- ✓ το είδος πάντοτε με το πρώτο γράμμα μικρό

π.χ. *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus cereus* και όχι *Escherichia Coli*, *LACTOBACILLUS plantarum*, *BACILLUS CEREOUS*.

Επιτρέπονται συντομογραφίες, αλλά μόνο στο γένος και όχι στο είδος και ο τρόπος της συντομογραφίας είναι ορισμένος.

π.χ. *E. coli*, *L. plantarum*, *B. cereus* και όχι *Esc. coli*, ή *Esch. Coli*, *Lb. plantarum* ή *Lac. plantarum*, *Bac. cereus* ή *Bacil. cereus*

Επίσης, ισχύουν και τα εξής

- το "spp." το "subsp.", το "bion.", το "ser." γράφονται με όρθια γραμματοσειρά

π.χ. *Salmonella* spp. και όχι *Salmonella spp.*
Lactococcus lactis subsp. *cremoris* και όχι *Lactococcus lactis subsp. cremoris*
Brucella melitensis biovar 2, *Streptococcus lactis* var. *maltigenes*

- ο ορότυπος γράφεται με όρθια γραμματοσειρά και το πρώτο γράμμα πάντοτε κεφαλαίο

π.χ. *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Enteritidis

5.1 Τρόπος προφοράς των βακτηρίων

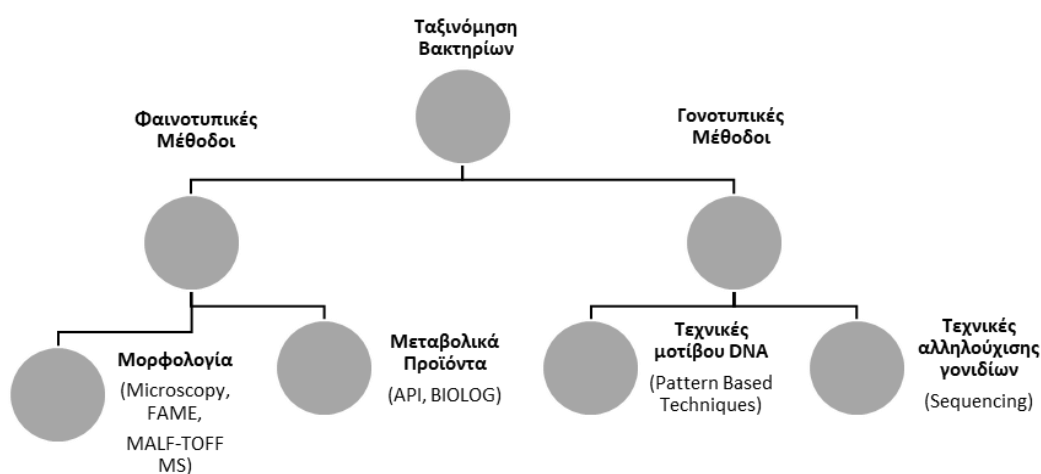
Ο τρόπος εκφοράς των βακτηρίων στον προφορικό λόγο, επίσης, είναι καθορισμένος και έχει ως εξής:

Ιεραρχία	Κατάληξη	Παράδειγμα	Προφορά
Τάξη	ales/ -άλες	<i>Pseudomonadales</i>	Ψευδομοναντάλες
Οικογένεια	aceae/ -άτσε	<i>Pseudomonadaceae</i>	Ψευδομοναντάτσε

6. Μεθοδολογίες Ταξινόμησης

Υπάρχουν δύο βασικές προσεγγίσεις στην ταξινόμηση των βακτηρίων. Η πρώτη είναι η λεγόμενη «φαινοτυπική» προσέγγιση (*phenotypic*) και η δεύτερη η «γονοτυπική» (*genotypic*), Σχ. 2.

Προϋπόθεση της φαινοτυπικής ταξινόμησης είναι να υπάρχει διαθέσιμο το βακτήριο ως καλλιέργεια (*culture*) και για αυτό, η προσέγγιση αυτή καλείται και ως «*culture-dependent*». Αντίστροφα, στην περίπτωση της γονοτυπικής προσέγγισης, δεν είναι απαραίτητο να υπάρχει καλλιέργεια, αλλά απλά και μόνο το DNA αυτής, οπότε αυτή η προσέγγιση ταξινόμησης καλείται «*culture-independent*».



Σχ. 2 Μεθοδολογίες ταξινόμησης βακτηρίων

6.1 Φαινοτυπική Ταξινόμηση

Στην περίπτωση της «φαινοτυπικής» προσέγγισης η διαφοροποίηση και τελικά η ταυτοποίηση του βακτηρίου βασίζεται σε ένα σύνολο δεδομένων, τα οποία μπορούν να συλλεχθούν μέσω σχετικά απλών τεχνικών, οι οποίες είναι εφικτό να πραγματοποιηθούν σε ένα απλό μικροβιολογικό εργαστήριο. Οι βασικότερες από τις τεχνικές αυτές είναι:

- **Μικροσκοπία:** Αναγνωρίζεται το σχήμα του βακτηρίου (π.χ. κόκκος, βάκιλος, κ.ά.). Μέσω κατάλληλων χρώσεων είναι δυνατόν να διαφοροποιηθεί η βακτηριακή μεμβράνη (χρώση Gram), να εντοπισθεί η παρουσία ή μη ειδικών δομών του βακτηρίου, όπως: βλεφαρίδες, μαστίγια, ο σχηματισμός σπορίων (σπορογόνα βακτήρια), το μέγεθός του.
- **Βιοχημικές δοκιμές:** Στην περίπτωση αυτή η διαφοροποίηση των βακτηρίων βασίζεται στα είδη των ενζύμων που φέρουν (βιοχημικός εξοπλισμός), τα οποία ουσιαστικά αποτελούν έκφραση των γονιδίων τους. Με αυτή την προσέγγιση, η ταυτοποίηση/διαφοροποίηση κάθε βακτηρίου, μέσω του ενζυμικού εξοπλισμού του, δίνει διαφοροποιημένα, κατά είδος, μεταβολικά προϊόντα (π.χ. παραγωγή

υδρόθειου, παραγωγή καταλάσης, παραγωγή αμμωνίας, κ.ά.). Υπάρχουν διαθέσιμα στην αγορά, εδώ και αρκετά χρόνια, έτοιμα προς χρήση προϊόντα (kit), όπως τα API test (Analytical Profile System, bioMérieux) καθώς και εξοπλισμός, όπως: Vitek GNI Card VITEK 2 (bioMérieux), MicroScan (Siemens Healthcare) Phoenix (Becton Dickinson) και Biolog® (Biolog). Επίσης, στην ίδια κατηγορία είναι διαθέσιμα ανοσοβιολογικά test, όπως π.χ. agglutination test, τα οποία όταν χρησιμοποιούνται δίνουν τη δυνατότητα διαφοροποίησης σε ανοσολογικό επίπεδο (*immunology*), δηλαδή διαφοροποίηση με βάση τη σύσταση των πρωτεϊνών και γλυκοπρωτεϊνών της μεμβράνης των βακτηρίων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα και πάλι το βακτήριο *Escherichia coli*. Όταν αποικία από τρυβλίο αναμιχθεί με κατάλληλα διαγνωστικά αντιδραστήρια και αποκτήσει κολλώδη υφή, τότε πρόκειται για τον ορότυπο *Escherichia coli* O157:H7.

- **Ανάλυση Λιπαρών Οξέων Κυτταρικής Μεμβράνης:** Συντομογραφικά αναφέρεται ως FAME (Fatty Acids Cytoplasmic Membrane). Μέθοδος βακτηριακής ταξινόμησης, μέσω του χαρακτηρισμού των τύπων και αναλογιών των λιπαρών οξέων, που υπάρχουν στην κυτταροπλασματική μεμβράνη και στην εξωτερική μεμβράνη των Gram θετικών βακτηρίων. Κάθε μικροοργανισμός έχει συγκεκριμένο προφίλ FAME (μικροβιακό αποτύπωμα) και επομένως μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εργαλείο ταυτοποίησης.

- **MALDI-TOF MS:** Είναι αρτικόλεξο του όρου «Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS)». Έχει προταθεί και πολύ πρόσφατα χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση είτε άθικτων κυττάρων ή εκχυλίσματα κυττάρων. Το βασικό πλεονέκτημά της είναι ότι η διαδικασία είναι ταχεία, ευαίσθητη και οικονομική, τόσο από πλευράς εργασίας όσο και κόστους, αν και πιθανότατα θα χρησιμοποιείται για ταυτοποιήσεις ρουτίνας (π.χ. σε νοσοκομεία) και όχι για συστηματική κατάταξη των βακτηρίων.

Σε γενικές γραμμές, το βασικό πλεονέκτημα της «φαινοτυπικής» ταξινόμησης: τουλάχιστον μέχρι το επίπεδο του γένους είναι πολύ απλή, όπως και σε επίπεδο είδους για ορισμένα γένη, π.χ. Εντεροβακτήρια, Λακτοβάκιλοι, δεν απαιτείται ειδικός εξοπλισμός, ούτε πολύ εξειδικευμένη γνώση για την εφαρμογή της. Όταν όμως θέλουμε να περάσουμε σε πιο χαμηλό και εξειδικευμένο επίπεδο ταξινόμησης, τότε θα χρειαστούμε εξειδικευμένες τεχνικές (μοριακές τεχνικές), που εντοπίζονται μέσω της ανάλυσης του γονιδιώματος.

6.2 Μοριακή Ταξινόμηση

Υπάρχουν πλέον αρκετές διαφορετικές τεχνικές ταυτοποίησης βακτηρίων με βάση το γονιδίωμα, οι οποίες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες: **(α)** αυτές που βασίζονται σε τεχνολογία υβριδισμού του DNA (DNA – DNA hybridization) ή γονιδιακού αποτυπώματός του (DNA *fingerprinting techniques*) και **(β)** σε τεχνολογίες αλληλούχισης γονιδίων (*sequencing*). Τα τελευταία χρόνια οι τεχνολογίες αλληλούχισης γονιδίων έχουν βελτιωθεί πολύ και κυρίως έχει μειωθεί εξαιρετικά το κόστος τους, ώστε να είναι εφαρμόσιμες και σε εργαστήρια μη-ερευνητικού επιπέδου και τα επόμενα χρόνια θα είναι ο κοινός τόπος αναφοράς μοριακής μελέτης των βακτηρίων.

- **Μοριακές τεχνικές DNA υβριδισμού:** Στις κυριότερες μορφές μοριακού υβριδισμού ανήκουν οι: Northern Blot Hybridization, Fluorescent *in situ* Hybridization (FISH), Restriction Fragment Length Polymorphisms method (RFLPs),

Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), Ribotyping, κ.ά.

▪ **Μοριακές τεχνικές αλληλούχισης γονιδίων:** Multilocus sequence analysis (MLSA), 16S rRNA gene sequencing, Next Generation sequencing (NGS). Η τελευταία δε τεχνική είναι η πιο ταχεία, πολύ αποτελεσματική και με λογικό κόστος ανάλυσης. Σε ό,τι αφορά τις τεχνικές μοριακής ταξινόμησης, οποιαδήποτε περαιτέρω αναφορά εκφεύγει των σκοπών του παρόντος εγχειριδίου.

Ασφαλώς, τα τελευταία είκοσι χρόνια η χρήση μοριακών τεχνικών ανάλυσης έχει αναδιατάξει, σε σημαντικό βαθμό, την ταξινόμηση των βακτηρίων και έχει βοηθήσει πολύ, ειδικά στις περιπτώσεις εκείνες όπου η φαινοτυπική προσέγγιση δεν έδινε ικανοποιητικά αποτελέσματα. Ωστόσο, όλο και περισσότερο γίνεται αντιληπτό στην επιστημονική και ερευνητική κοινότητα ότι η ταξινόμηση δεν πρέπει να γίνεται «στο όνομα της ταξινόμησης», αλλά να αποτελεί ουσιαστικό εργαλείο επικοινωνίας και συνεννόησης μεταξύ των επιστημόνων. Για το λόγο αυτό, όλο και περισσότερο η ερευνητική κοινότητα τείνει να συμφωνήσει ότι ο ορθότερος και πιο χρηστικός τρόπος ταξινόμησης είναι η συνδυασμένη χρήση μοριακών και φαινοτυπικών μεθόδων.