

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ – ΟΝΟΜΑΤΟΔΟΣΙΑ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

ΣΥΝΟΠΤΙΚΕΣ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΜΑΘΗΜΑΤΟΣ

# ΓΕΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

*Συμπληρωματικό Υλικό Διδασκαλίας*

**ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ – ΟΝΟΜΑΤΟΔΟΣΙΑ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ**

- ❖ **Ταξινόμηση των βακτηρίων (Taxonomy):** Η **Ταξινομική** ή **Ταξινομία** (*Taxonomy*) είναι επιστημονικός κλάδος που ασχολείται με την 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 όροι: (α) **Ταξινόμηση**, (β) **Ταυτοποίηση** και (γ) **Ονοματοδοσία** είναι αλληλένδετες.
- ❖ **Σημασία τυποποίησης και ταξινόμησης:** Ο βασικός κώδικας επικοινωνίας και ανταλλαγής πληροφοριών μεταξύ των μικροβιολόγων βασίζεται στην ορθή και κοινά αποδεκτή ονοματολογία των μικροοργανισμών. Όταν π.χ. αναφέρουν τον μικροοργανισμό *Bacillus cereus* θα πρέπει πράγματι να μιλούν για τον ίδιο μικροοργανισμό, με τα ίδια χαρακτηριστικά, διαφορετικά δεν έχει κανένα νόημα η επικοινωνία.
- ❖ **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
- ❖ **Ιεραρχικό σύστημα ταξινόμησης:** Η ιεραρχική ταξινόμηση των προκαρυωτικών οργανισμών, κατά *φθίνουσα* σειρά, είναι:
  1. Επικράτεια (*Domain*)
  2. Βασίλειο (*Kingdom*)
  3. Φύλο (*Phylum*)
  4. Κλάση (*Class*)
  5. Τάξη (*Order*)
  6. Οικογένεια (*Family*)
  7. Γένος (*Genus*)
  8. Είδος (*Species*)
  9. Υποείδος (*Subspecies*)

**Παράδειγμα:** Το «Οικογενειακό Δέντρο» του βακτηρίου *Escherichia coli* («εσερίχια κόλι» που είναι το γνωστότερο κολοβακτηριοειδές) είναι το ακόλουθο:

1. Επικράτεια ( <i>Domain</i> )		<i>Bacteria</i>
2. Βασίλειο ( <i>Kingdom</i> )		
3. Φύλο ( <i>Phylum</i> )	XXI	<i>Proteobacteria</i>
4. Κλάση ( <i>Class</i> )	III	<i>Gamma proteobacteria</i>
5. Τάξη ( <i>Order</i> )	XIII	<i>Enterobacteriales</i>
6. Οικογένεια ( <i>Family</i> ) I		<i>Enterobacteriaceae</i> ('έντερομπακτηριάτσε')
7. Γένος ( <i>Genus</i> )	41	( <i>Escherichia, Salmonella, Shigella, Enterobacter</i> )
8. Είδος ( <i>Species</i> )	1	<i>Escherichia coli</i>
10. Υποείδος ( <i>Subspecies</i> )		-

Στο παραπάνω παράδειγμα το βακτήριο *Escherichia coli* ανήκει στην Οικογένεια *Enterobacteriaceae* η οποία διαίρεται σε 41 γένη, μεταξύ των οποίων είναι και το γένος *Escherichia*. Το γένος *Escherichia* έχει μόνο ένα είδος, το είδος *Escherichia coli*

- ❖ **Τρόπος αναγραφής των μικροοργανισμών:** Ο τρόπος γραφής τους καθώς και ο τρόπος προφοράς των ονομάτων των μικροοργανισμών τους είναι επιστημονικά κατοχυρωμένος, δηλαδή έχει συμφωνηθεί μεταξύ των επιστημόνων και κάθε άλλο παρά αυθαίρετος είναι. Πάντοτε είναι με Λατινικούς χαρακτήρες και με πλάγια γραφή, π.χ. *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus cremoris* sub. *cremoris*. Το πρώτο γράμμα του γένους (*Staphylococcus*) είναι υποχρεωτικά με κεφαλαία ενώ το πρώτο γράμμα του είδους αναγράφεται υποχρεωτικά με μικρό (*aureus*).

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

Όταν δεν μας είναι γνωστό παρά μόνο το γένος η αναγραφή γίνεται ως εξής: *Staphylococcus* spp. ('σταφυλοκόκκους σπίσις'), δηλαδή «είδη Σταφυλοκόκκων», το spp. σημαίνει «είδη».

Στην πράξη τα βακτήρια αναφέρονται συνήθως με το γένος και είδος και, όταν υπάρχει, ακολουθούμενα με τον υποείδος ή τον **ορότυπο** (*serotype*)\*. Πολύ χαρακτηριστικό παράδειγμα οροτυπικής, κατά βάση, ταξινόμησης είναι η περίπτωση των ειδών του βακτηρίου *Salmonella*. Τα βακτήρια του γένους αυτού, είναι Gram αρνητικά και χαρακτηρίζονται από μεγάλη παραλλακτικότητα στο είδος των λιποπρωτεϊνών που δομούν την εξωτερική μεμβρανώδη μονοστοιβάδα (κάψουλα) οι οποίες μάλιστα εκφράζονται, σε ορισμένες περιπτώσεις, και σε επίπεδο παθογένειας. Ειδικά, για τα βακτήρια του γένους *Salmonella* η ταυτοποίηση, προς το παρόν, γίνεται με βάση την ορολογική μέθοδο Kauffmann-White. Χαρακτηριστικά αναφέρονται δύο παραδείγματα:

- *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Typhimurium ή σύντομα *Salmonella* Typhimurium.
- *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis ή σύντομα *Salmonella* Enderitidis.

Άλλο χαρακτηριστικό παράδειγμα οροτυπικής ονομασίας είναι το, πολύ γνωστό βακτήριο *Escherichia coli* καθώς και παθογόνος ορότυπός του *Escherichia coli* O157:H7 (βλέπε πιο κάτω).

- ❖ **«Αριθμητικό Ταξινομικό Σύστημα»:** 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. Μετρά και βαθμονομεί τον βαθμό συγγένειας. 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.).

- ❖ Οι πρώτες προσπάθειες ταξινόμησης των οργανισμών έγιναν το 1758 από τον Linnaeus. Αρχικά οι πρώτες ταξινομήσεις γίνονταν με βάση τις **μορφολογικές** και **φυσιολογικές** ιδιότητες των μικροοργανισμών. Η σύνθεση «ταξινομικών κλειδών» δεν ήταν ποτέ πλήρης και καθόλου εύκολη στον σχηματισμό τους. Σταδιακά με την πρόοδο των γνώσεων και την εξέλιξη της επιστήμης νέες τεχνικές αναπτύχθηκαν για την λεπτομερέστερη καταγραφή και ταξινόμηση των μικροοργανισμών. Αργότερα εμφανίστηκαν οι τεχνικές ταυτοποίησης με βάση τα ένζυμα που παράγουν οι μικροοργανισμοί (*enzymic profile*) τα οποία άλλωστε είναι «αντανάκλαση» των σχετικών γονιδίων τους. Επίσης ένα ακόμα «εργαλείο», και μάλιστα λεπτοφυές, διαφοροποίησης είναι οι λιποπρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης οι οποίες δίνουν αντιδράσεις **αντιγόνου-αντισώματος** (ορολογικές). Ασφαλώς τα τελευταία χρόνια με την εκρηκτική εξέλιξη της μοριακής βιολογίας η ταυτοποίηση έχει εξελιχθεί ακόμη περισσότερο δίνοντας πληροφορίες σε επίπεδο στελέχους, δηλαδή η ταυτοποίηση έχει γίνει ακόμα πιο εξειδικευμένη.
- ❖ **Διαφοροποίηση και Ταυτοποίηση:** Η έννοια της ταυτοποίησης ενός μικροοργανισμού αναγκαστικά περιέχει μέσα και την έννοια της διαφοροποίησης (*differentiation*) και της ομοιότητας (*similarity*). Πρακτικά δηλαδή όσο περισσότερο διαφέρουν οι μικροοργανισμοί σε κάποια επιλεγμένα και συγκεκριμένα χαρακτηριστικά τους τόσο πιο απομακρυσμένοι φυλογενετικά είναι μεταξύ τους ενώ όταν ο βαθμός ομοιότητάς τους – πάλι στα ίδια χαρακτηριστικά, είναι μεγάλος τόσο περισσότερο μοιάζουν μεταξύ τους – προφανώς ότι μοιάζουν πολύ μεταξύ τους (*very high similarity*) τότε είναι τα ίδια.
- ❖ Από την άλλη πλευρά, είναι σχεδόν αυτονόητο ότι ο βαθμός διαφοροποίησης/ ομοιότητας εξαρτάται απολύτως από τους δείκτες/ κριτήρια διαφοροποίησης και τελικά από τα «εργαλεία/ μέσα» που είναι διαθέσιμα για τον εντοπισμό αυτών των κριτηρίων. Ορισμένες φορές κριτήριο διαφοροποίησης μπορεί να είναι ο σχηματισμός σπορίων ή μη οπότε έχουμε σπορογόνα ή μη σπορογόνα, σε άλλες περιπτώσεις το κριτήριο είναι η δυνατότητα να αναπτύσσονται σε αυστηρά αναερόβιες συνθήκες και συνεπώς υπάρχει η διαφοροποίηση «αερόβια/ αναερόβια». Ασφαλώς η πιο λεπτοφυής διαφοροποίηση προκύπτει από το γονιδίωμα.
- ❖ Από τα παραπάνω είναι σαφές ότι η διαφοροποίηση έχει «βαθμούς» και ότι η Ταυτοποίηση είναι προϊόν της Διαφοροποίησης ενός συνόλου χαρακτηριστικών. Όσο πιο εξειδικευμένα είναι τα κριτήρια διαφοροποίησης τόσο πιο εφικτό είναι να έχουμε ακριβή και συνεπή Ταυτοποίηση.
- ❖ Ακολουθούν ορισμένα επιστημονικά κριτήρια διαφοροποίησης των μικροοργανισμών με διαφορετικούς βαθμούς εξειδίκευσης.

#### **A. Επιστημονικές μεθοδολογίες:**

1. **Μορφολογικά χαρακτηριστικά (Morphological):** Σχήμα, παρουσία μαστιγίου, παρουσία σπορίου, είδος κυτταρικού τοιχώματος (Gram<sup>+</sup>, Gram<sup>-</sup>) κ.α. Χρησιμοποιείται πάντοτε μικροσκόπιο και τεχνικές χρώσεων.
2. **Φυσιολογικά χαρακτηριστικά (Physiological):** Θερμοκρασία, pH, ενεργότητα νερού, αντοχή στο αλάτι, κ.α. Με βάση αυτά τα χαρακτηριστικά έχουμε βακτήρια ψυχρόφιλα, θερμόφιλα, θερμοάντοχα, αλόφιλα, οξέαντοχα, κ.α.
3. **Βιοχημικά χαρακτηριστικά (Biochemical):** Καταγράφουν το βιοχημικό (ενζυμικό) προφίλ των μικροοργανισμών. Δεν έχουν όλα τα βακτήρια την ίδια ποικιλία

ενζύμων. Π.χ. παρουσία καταλάσης, κιτράσης, νιτροδοαναγωγασών, και πλήθος άλλων ενζύμων. Υπάρχουν εδώ και χρόνια εμπορικά διαθέσιμα kit ταυτοποίησης μικροοργανισμών με βάση το βιοχημικό/ ενζυμικό προφίλ τους.

4. **Ορολογικά ή ανοσοβιολογικά χαρακτηριστικά** (*Immunological* ή *Serological*): Ορισμένα βακτήρια παρουσιάζουν αντιγονική αντίδραση (*serological reaction*). Υπάρχουν βακτήρια που ανήκουν στο ίδιο είδος, οπότε έχουν ταυτόσημα όλα τα μορφολογικά, φυσιολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά τους. Ωστόσο διαφοροποιούνται σε κάποιες άλλες ιδιότητές τους (π.χ. παθογόνος δράση). Χαρακτηριστική περίπτωση είναι το βακτήριο *Escherichia coli*. Υπάρχουν πολλά βακτήρια του είδους *E. coli* τα οποία είναι μη-παθογόνα για τον άνθρωπο. Ωστόσο υπάρχουν και κάποια που είναι παθογόνα. Τα τελευταία έχουν ορότυπο O157:H7, και το βακτήριο περιγράφεται ως *Escherichia coli* O157:H7. Το O αντιστοιχεί στα αντιγόνα του κυτταρικού τοιχώματος και το H στα αντιγόνα των πρωτεϊνών της φλαγγέλας. Η αρχή της δοκιμής (*agglutination test*) βασίζεται στην αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος των βακτηρίων έναντι των αντισωμάτων (*antibodies*) του ορού αίματος.
5. **Ταυτοποίηση με «φάγους»** (*phage typing*): «Φάγοι» λέγονται οι ιοί (*virus*) που έχουν την δυνατότητα να εισβάλλουν τα βακτήρια και να προκαλέσουν την λύση (διάσπαση) του κυττάρου. Δεν είναι όλα τα βακτήρια ευαίσθητα σε όλους του φάγους. Αντίθετα πολύ συγκεκριμένοι φάγοι μπορούν να προσβάλουν πολύ συγκεκριμένα βακτήρια. Υπάρχει δηλαδή πολύ μεγάλη εξειδίκευση μεταξύ φάγων και βακτηρίων.
6. **Λόγος G+C**: Είναι γνωστό ότι οι τέσσερις βάσεις που δομούν το DNA είναι οι ακόλουθες: αδενίνη (*adenine* – A), γουανίνη (*guanine* – G), κυτοσίνη (*cytosine* - C) και θυμίνη (*thymine* – T). Με δεδομένο ότι διαφορετικά είδη μικροοργανισμών έχουν διαφορετικό DNA είναι αναμενόμενο ότι οι διαφορές σε επίπεδο DNA εκφράζονται, σε κάποιο βαθμό βέβαια, και σε διαφορές στον παρακάτω λόγο, ο οποίος καλείται και λόγος G+C.

$$\frac{G+C}{A+T+G+C} \times 100 (\%)$$

Οι αναλογίες G+C έχουν υπολογισθεί για ένα ευρύ είδος οργανισμών, τόσο ευκαρυωτικών όσο και προκαρυωτικών, και στους προκαρυωτικούς οργανισμούς κυμαίνονται από 20% έως 80%.

Η γνώση της αναλογίας G+C είναι πολύ χρήσιμη για την ταξινόμηση των οργανισμών, αλλά σε αδρό επίπεδο, δηλαδή για να έχουμε μια γενική ιδέα για το είδος του οργανισμού. Δεν είναι τόσο ακριβής ώστε να μπορεί να καθορίσει το τελικό όνομα του μικροοργανισμού.

Χαρακτηριστικά παραδείγματα:

- Χαμηλού G+C, θετικά κατά Gram: Οξυγαλακτικά βακτήρια.
- Υψηλού G+C, θετικά κατά Gram: Βακτήρια του προπιονικού οξέως.

7. **Ανάλυση λιπαρών οξέων** (*FAME*): Αυτή η μέθοδος ταξινόμησης βασίζεται στις ομοιότητες των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων των λιπιδίων της βακτηριακής

μεμβράνης Δύο βακτήρια βρίσκονται φυλετικά κοντά όταν τα προφίλ των λιπαρών οξέων των μεμβρανών τους είναι παρόμοια.

8. **Μοριακή ταξινόμηση (*genotypic*):** Αυτός ο τρόπος ταξινόμησης βασίζεται στο γεγονός ότι όλα τα χαρακτηριστικά των βακτηρίων (μορφολογικά, φυσιολογικά, βιοχημικά και ορολογικά), καθώς και όλων των μορφών ζωής βρίσκονται στο DNA τους, οπότε οι οργανισμοί που έχουν σημαντικές ομοιότητες στο DNA τους ανήκουν στο ίδιο είδος. Συγκεκριμένα όσο μεγαλύτερος είναι ο συντελεστής ομοιότητάς του DNA δύο οργανισμών τόσο περισσότερο «συγγενική σχέση» έχουν μεταξύ τους. Με βάση τα παραπάνω αντιλαμβανόμαστε ότι για την μοριακή ταυτοποίηση απαιτείται «τράπεζα μικροοργανισμών αναφοράς» ώστε να μπορούμε να συγκρίνουμε το «άγνωστο» DNA με γνωστά DNA αναφοράς. Για τεχνικούς λόγους και ανάλογα με το είδος που θέλουμε να ταυτοποιήσουμε αναγνώριση- ταυτοποίηση δεν γίνεται μόνο με το DNA αλλά και με RNA, ή ακόμα και με το μιτοχονδριακό DNA (*mtDNA*). Για πρώτη φορά γενετική ταυτοποίηση και σύγκριση βακτηρίων έγινε το 1976 και μάλιστα στο RNA τους (είναι σημαντικά μικρότερο από το DNA και γενετικά πιο σταθερό) από τον Woese.

Από τότε πολλές διαφορετικές τεχνικές και προσεγγίσεις για την γενετική ανάλυση των μικροοργανισμών έχουν αναπτυχθεί και αναπτύσσονται με διαφορετικά πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα:

- **Υβριδοποίηση DNA:DNA (*DNA:DNA hybridization*):** Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στο γεγονός ότι δύο οργανισμοί είναι ίδιοι όταν το DNA τους είναι ίδιο ή έστω όταν υπάρχει σημαντική ομοιότητα (ποσοστό υβριδοποίησης) μεταξύ τους. Για να πραγματοποιηθεί η μέθοδος θα πρέπει να είναι διαθέσιμη συλλογή γνωστών μικροοργανισμών («τράπεζα μικροοργανισμών») ως προς τα οποία συγκρίνονται οι άγνωστοι μικροοργανισμοί. Το ζήτημα που ανακύπτει στην μέθοδο αυτή είναι το ακόλουθο: ποιές περιοχές του DNA των μικροοργανισμών θα συγκριθούν. Με την πάροδο των χρόνων οι ερευνητές έχουν εντοπίσει στο DNA των βακτηρίων τις λεγόμενες «συντηρητικές αλληλουχίες» (*conservative sequences*), δηλαδή περιοχές που παραμένουν σταθερές, «απρόσβλητες» από μεταλλάξεις, στην διάρκεια του χρόνου. Η προσπάθεια αυτή οδήγησε στην επόμενη μέθοδο.
- **Υβριδοποίηση DNA:rRNA (*DNA:rRNA hybridization*):** Από το σύνολο του DNA των βακτηρίων μια από τις περισσότερο «συντηρητικές περιοχές» είναι η περιοχή που κωδικεύει το rRNA. Οπότε ο υβριδισμός DNA:rRNA μπορεί να εντοπίσει ομοιότητες μεταξύ βακτηρίων όπου ο DNA:DNA υβριδισμός είναι ασθενής.
- **Καθορισμός ριβοτύπου (*ribotyping*):** Οι δύο παραπάνω τεχνικές, όπως φανερώνει και το όνομά τους, βασίζονται στον υβριδισμό μεταξύ τμημάτων DNA. Υπάρχει όμως και άλλος τρόπος να μελετήσουμε το DNA των βακτηρίων και να εντοπίσουμε διαφορές και ομοιότητες μεταξύ διαφορετικών βακτηρίων. Όπως έχει ήδη αναφερθεί το τμήμα του DNA που κωδικεύει το RNA είναι γενετικά σταθερό. Ειδικά το τμήμα του DNA που κωδικεύει την υπομονάδα 16S του ριβοσώματος είναι αρκετά μεγάλο και σταθερό, τεμαχίζεται με ειδικά ένζυμα (ένζυμα περιορισμού – *restriction enzymes*) και μέσω ηλεκτροφόρισης τα διασπασμένα τμήματα DNA συγκρίνονται με αντίστοιχα τμήματα γνωστών βακτηρίων. Είναι

φανερό και πάλι ότι οι «τράπεζες βακτηρίων» είναι απαραίτητες για την ταξινόμηση.

Είναι προφανές ότι οι παραπάνω περιγραφές των μεθόδων ταυτοποίησης, είναι εξαιρετικά απλουστευμένες, όμως λεπτομερείς περιγραφή θα ξέφευγε της σκοπιμότητας συγγραφής αυτού του βοηθήματος του μαθήματος.

Γενικά, κάτω από τις παρούσες συνθήκες, ισχύει ότι η ταυτοποίηση με βάση τα μορφολογικά, φυσιολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά είναι απλούστερη, με σχετικά χαμηλό κόστος, και δεν απαιτεί υψηλές επενδύσεις σε υλικοτεχνική υποδομή και ανθρώπινο δυναμικό. Όμως είναι χρονοβόρες και δεν έχουν την ακρίβεια και την σχεδόν, απόλυτη αξιοπιστία των μοριακών μεθόδων. Από την άλλη πλευρά οι μοριακές τεχνικές είναι μεν ακριβείς, ταχείες, και αξιόπιστες, όμως απαιτούν εξειδικευμένο προσωπικό, και υψηλό, προς το παρόν, αρχικό κόστος επένδυσης και αγοράς αναλωσίμων (προκειμένου για εφαρμογή τους στην βιομηχανία).

**B. Πρακτικοί τρόποι ομαδοποίησης:** Είναι εμπειρικός (άτυπος) τρόπος ομαδοποίησης και βασίζεται σε ομοειδείς ιδιότητες των βακτηρίων που βρίσκονται στην ίδια ομάδα. Δεν δίνει όνομα στα βακτήρια οπότε είναι ορθότερο να αναφέρονται ως «τρόπος ομαδοποίησης» των βακτηρίων και όχι κατάταξης. Μπορούν δε να διακριθούν στις ακόλουθες ομάδες:

**(i) Με βάση τα προϊόντα μεταβολισμού τους:**

- **Οξυγαλακτικά βακτήρια** (*lactic acid bacteria*) των οποίων ένα από τα προϊόντα μεταβολισμού των υδατανθράκων είναι το γαλακτικό οξύ (*lactic acid*).
- **Οξικά βακτήρια** (*acetic acid bacteria*) των οποίων ένα από τα προϊόντα μεταβολισμού των υδατανθράκων είναι το οξικό οξύ (*acetic acid* - ξύδι).
- **Προπιονικά βακτήρια** (*propionic acid bacteria*) των οποίων ένα από τα προϊόντα μεταβολισμού των υδατανθράκων είναι το προπιονικό οξύ (*propionic acid*).
- **Βουτυρικά βακτήρια** (*butyric acid bacteria*) των οποίων ένα από τα προϊόντα μεταβολισμού τους είναι το, δύσοσμο, βουτυρικό οξύ (*butyric acid*).
- **Πρωτεολυτικά βακτήρια** (*proteolytic bacteria*): πολύ μεγάλη ομάδα βακτηρίων με κοινή ιδιότητα την σύνθεση εξωκυτταρικών ενζύμων που διασπούν τις πρωτεΐνες (εξωκυτταρικές πρωτεάσες ή πρωτεϊνάσες – *extracellular proteases*).
- **Λιπολυτικά βακτήρια** (*lipolytic bacteria*): βακτήρια που παράγουν ένζυμα που διασπούν τα τριγλυκερίδια των λιπαρών υλών (*lipases* – λιπάσες).
- **Σακχαρολυτικά βακτήρια** (*Sacharolytic bacteria*): βακτήρια που παράγουν ένζυμα που διασπούν σύνθετους πολυσακχαρίτες, συχνά αναφέρονται και ως αμυλολυτικά.
- **Αεριογόνα βακτήρια** (*Gas producers*): βακτήρια που παράγουν αέρια όπως CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S κ.α.
- **Γλοιυγόνα βακτήρια** (*Slime producing bacteria*): Τα βακτήρια της ομάδας αυτής παράγουν εξωκυτταρικές ουσίες μεγάλου μοριακού βάρους που έχουν υψηλές ιξώδεις (“γλοιό”).

- (ii) **Με βάση ορισμένα φυσιολογικά χαρακτηριστικά τους:**
- **Θερμόφιλα βακτήρια** (*thermophilic bacteria*): Βακτήρια που αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες πάνω από 50°C.
  - **Θερμοάντοχα βακτήρια** (*thermoduric bacteria*): Βακτήρια που επιβιώνουν της παστερίωσης.
  - **Ψυχρόφιλα βακτήρια** (*psychrophilic bacteria*): Δεν αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες πάνω από τους 22°C, αντίθετα αναπτύσσονται με άνεση σε θερμοκρασίες μεταξύ 4-6°C.
  - **Ψυχρότροφα βακτήρια** (*psychrotrophic bacteria*): Αναπτύσσονται μεν σε θερμοκρασίες ψύξης (4-6°C) αλλά η άριστη θερμοκρασία ανάπτυξής τους είναι στην περιοχή των 22°C.
  - **Αλατοάντοχα βακτήρια** (*halotolerant bacteria*): Βακτήρια που επιβιώνουν σε υψηλές συγκεντρώσεις άλατος (NaCl > 10% κ.β).
  - **Αλόφιλα βακτήρια** (*halophilic bacteria*): Βακτήρια τα οποία για να αναπτυχθούν απαιτούν την παρουσία άλατος.
  - **Οξυάντοχα βακτήρια** (*aciduric bacteria*): Τα βακτήρια της ομάδας αυτής είναι ανθεκτικά σε χαμηλές τιμές pH (pH ≤ 4.0).
  - **Σπορογόνα βακτήρια** (*sporeformer bacteria*): Βακτήρια που κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες παράγουν ενδοσπόρια..
  - **Βαρόφιλα** (*barophiles*): Μπορούν να αναπτυχθούν μόνο σε πολύ υψηλές πιέσεις. Βρίσκονται στον πυθμένα των ωκεανών.

## Ερωτήσεις

Οι απαντήσεις των ερωτήσεων μπορεί να προέρχονται από τις διαφάνειες του μαθήματος, τις συζητήσεις επί των ερωτήσεων κατά τη διάρκεια του μαθήματος, καθώς και οποιαδήποτε άλλη έγκυρη επιστημονική πηγή

1. Τί σημαίνει «ταυτοποίηση» μικροοργανισμού;
2. Τί σημαίνει «ταξινόμηση» μικροοργανισμού;
3. Γιατί είναι σημαντική η ταυτοποίηση;
4. Πόσους τρόπους «ταξινόμησης» γνωρίζεται;
5. Τί είναι ο «ορότυπος»; Γιατί είναι σημαντικός; - Να δώσετε ένα παράδειγμα.
6. Πώς συνδέονται οι όροι «Διαφοροποίηση»/ «Ομοιότητα» και «Ταυτοποίηση» στην επιστήμη της κατάταξης των μικροοργανισμών;
7. Σχολιάστε και εξηγήστε τις ακόλουθες δύο φράσεις  
(a) το μικροσκόπιο συμμετέχει στην διαφοροποίηση των μικροοργανισμών  
(b) το μικροσκόπιο συμμετέχει αλλά δεν αρκεί για την ταυτοποίηση των βακτηρίων.
8. *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*: Ποιά είναι η Οικογένεια, το Γένος και το Είδος;
9. Τί σημαίνει ο όρος «spp.»; π.χ. *Salmonella* spp.
10. *LACTOBACILLUS bulgaricus*. Γράψτε σωστά το όνομα του προηγούμενου βακτηρίου.
11. Με πόσους τρόπους μπορούμε να «ταυτοποιήσουμε» τα βακτήρια;
12. Πού βασίζεται η ταυτοποίηση με βιοχημικά test;



13. Που βασίζονται οι «οροτυπικές» μέθοδοι ταυτοποίησης των βακτηρίων;
14. Ποιές είναι οι περισσότερο σύγχρονες τεχνικές ταυτοποίησης των βακτηρίων; Ποιά είναι η αρχή της τεχνικής; Αναφέρατε ορισμένες από αυτές.
15. Με βάση τα προϊόντα μεταβολισμού τους τα βακτήρια διακρίνονται σε ορισμένες ομάδες. Ποιές είναι αυτές;
16. Υπάρχουν βακτήρια που ταυτόχρονα να ανήκουν και στην ομάδα των «οξυγαλακτικών» και στην ομάδα των «γλοιογόνων» βακτηρίων;
17. Με βάση ορισμένα φυσιολογικά τους χαρακτηριστικά τα βακτήρια διακρίνονται σε ορισμένες ομάδες. Ποιές είναι αυτές;