

Brachyspira-serie, del 4

Bakteriers taxonomi och fylogeni – eller varför byta namn på bakterier?

Namnbyte på bakterier har bland annat skett inom släktet (genus) *Brachyspira*. Denna artikel ligger därför till grund för en senare artikel i brachyspiraserien, som kommer att handla om biodiversitet och släktskap. Artikeln är skriven för att vara av generellt intresse för veterinärer som i sitt arbete kommer i kontakt med bakterier. Det är viktigt att förstå anledningen till dessa namnändringar, som främst är till för bakteriologerna. Metoden som beskrivs i artikeln (sekvensanalys av 16S rRNA) är idag en standardmetod för karakterisering av bakterier. Den är värdefull att känna till eftersom den nu används i de flesta vetenskapliga artiklar där nya bakteriearter beskrivs.

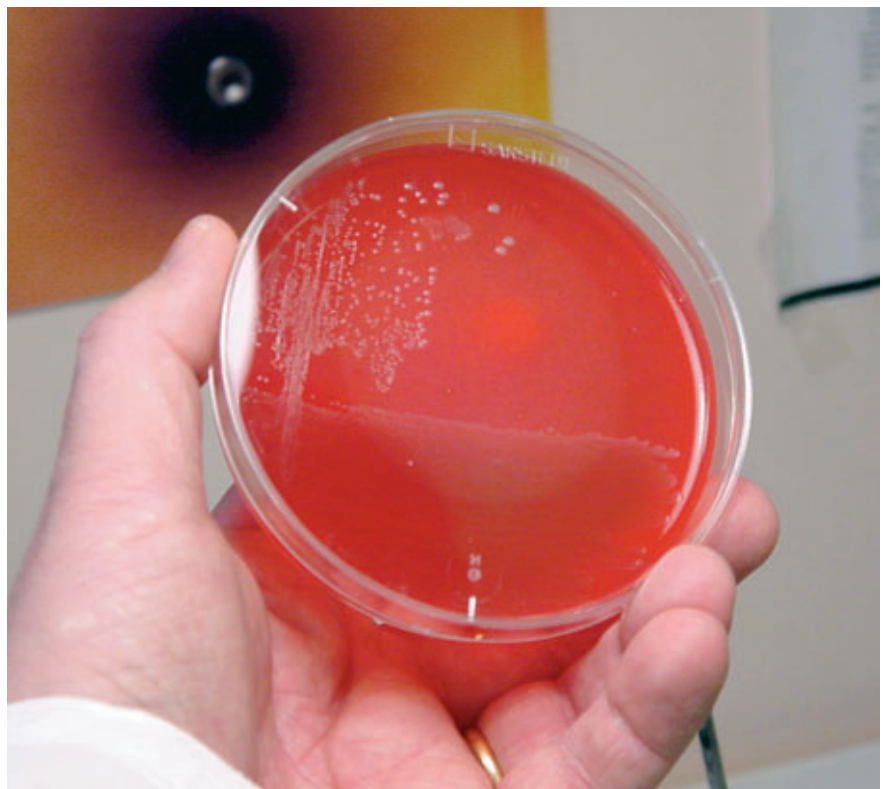
Tidigare artiklar i brachyspiraserien har varit publicerade i Svensk Veterinärtidning nr 10/06, nr 13/05 och nr 8–9/05.



granskad artikel

INLEDNING

Klassificering (taxonomi) av bakterier betraktades tidigare som en mindre viktig del av bakteriologin, eftersom den



FIGUR 1. Äldre klassificering återspeglar inte alltid bakteriernas naturliga släktskap, eftersom den ofta var baserad på alltför få egenskaper.

inte alltid har vilat på en strikt vetenskaplig grund. Tack vare moderna metoder för klassificering, baserade på bland annat genteknologi, har bakterietaxonomi gått in i en ny era och är idag grundad på vetenskapliga fakta. Forskarna strävar nu efter att klassificeringen ska återspegla bakteriernas evolutionära historia, vilket har den stora fördelen att bakterier som grupperas inom samma taxon (art, släkte, familj och så vidare),

kommer att ha många liknande egenskaper. Med andra ord, ju längre ner man går i den taxonomiska hierarkin (börjar med fylum och slutar med underart), desto mer lika varandra kommer de ingående medlemmarna att vara.

Äldre klassificering återspeglar alltså inte alltid bakteriernas naturliga släktskap, eftersom den ofta var baserad på alltför få egenskaper (Figur 1). Så kallad konvergent evolution kan leda till att ►

- olika bakterier får en del liknande egenskaper trots att de inte är närbesläktade. Molekylärgenetiska klassificeringsmetoder har kommit till stor användning vid studier av bakterier och det nya synsättet på taxonomi har resulterat i att många bakterier har klassificerats om och fått nya namn. Detta kommer att underlätta arbetet i framtiden för bland annat kliniska bakteriologer.

METODER

Fylogenetisk klassificering av bakterier

Forskarna föreslår ibland namnbyte på bakterier och det kan vara irriterande för

praktiserande veterinärer, som kanske inte dagligen kommer i kontakt med taxonomiska frågeställningar, att plötsligt upptäcka att en tidigare välkänd bakterie inte kan hittas under samma namn längre. Kunskap förändras emellertid och med hjälp av molekylärgenetiska metoder kan man idag klassificera bakterier på ett naturligare sätt, dvs på ett sätt som bättre återspeglar deras evolutionära historia. En naturlig klassificering baserad på bakteriernas släktskap kan användas för att förutsäga en del av deras egenskaper och har därför stor praktisk användning. Man måste alltså acceptera att taxonomi är en dynamisk

vetenskap och att namnbyte på bakterier är ett resultat av ökad kunskap.

Det finns många exempel på bakterier, som har placerats in under nya släkten och fått nya namn tack vare förbättrade klassificeringsmetoder (Tabell 1). På sikt kommer detta att vara till nytta inte bara för taxonomer utan även för kliniker. Det är dock inte förbjudet att använda bakterienamn som tidigare har godkänts av "International Committee on Systematics of Prokaryotes" (<http://www.the-icsp.org/>) eller som denna kommitté hette tidigare "International Committee on Systematic Bacteriology". Ett äldre godkänt artnamn ska snarare betraktas

Tabell 1. EXEMPEL PÅ VETERINÄRMEDICINSKT (OCH HUMANMEDICINSKT) VIKTIGA BAKTERIER, PÅ VILKA MAN RELATIVT NYLIGEN HAR BYTT NAMN.

Äldre godkänt artnamn	Senast föreslaget och godkänt artnamn	Sjukdom och värddjur
<i>Bacillus piliformis</i>	<i>Clostridium piliforme</i>	Tyzzers sjukdom hos gnagare m fl däggdjur samt fåglar (sällsynt).
<i>Bacteroides nodosus</i>	<i>Dichelobacter nodosus</i>	Fotröta hos får.
<i>Brucella abortus</i>	<i>Brucella melitensis, serovar Abortus</i>	Brucellos hos nötkreatur.
<i>Brucella suis</i>	<i>Brucella melitensis, serovar Suis</i>	Brucellos hos gris.
<i>Campylobacter pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	Ulcus ventriculi hos människa.
<i>Chlamydia psittaci</i> (abortstammar)	<i>Chlamydophila abortus</i> ¹	Genitalinfektion och abort hos nötkreatur och får.
<i>Chlamydia psittaci</i> (kattstammar)	<i>Chlamydophila felis</i> ¹	Ögon- och luftvägsinfektion hos katt.
<i>Chlamydia psittaci</i> (fågelstammar)	<i>Chlamydophila psittaci</i> ¹	Aviär klamydios (alt klamydofilos) hos fåglar. Psittakos (papegojsjuka) hos människa, däggdjur och papegojor.
<i>Corynebacterium pyogenes,</i> <i>Actinomyces pyogenes</i>	<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	Abscess, artrit, endometrit, mastit, pneumoni och pyometra hos bl a idisslare och gris.
<i>Cowdria ruminantium</i>	<i>Ehrlichia ruminantium</i>	"Heartwater" hos idisslare. Förekommer ej i Sverige.
<i>Ehrlichia equi</i> och <i>Ehrlichia phagocytophila</i>	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	Granulocytär anaplasmos hos häst, hund och människa. Betesfeber hos idisslare.
<i>Eperythrozoon suis</i>	<i>Mycoplasma suis</i> ²	Anemi hos gris.
<i>Eubacterium suis, Actinomyces suis</i>	<i>Actinobaculum suis</i>	Cystit hos gris.
<i>Haemobartonella felis</i>	<i>Mycoplasma haemofelis</i> ²	Felin hemotropisk mykoplasmos.
<i>Haemophilus equigenitalis</i>	<i>Taylorella equigenitalis</i>	Metrit eller CEM (contagious equine metritis) hos häst.
<i>Haemophilus parainfluenzae,</i> <i>Haemophilus pleuropneumoniae</i>	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	Pleuropneumoni hos gris.
<i>Haemophilus somnus,</i> <i>Haemophilus somnifer</i>	<i>Histophilus somni</i>	Bronkopneumoni och septikemi hos idisslare. Abort och konjunktivit förekommer också.
<i>Pasteurella haemolytica, biotyp A</i>	<i>Mannheimia haemolytica</i>	Luftvägsinfektion hos idisslare samt pneumoni hos får.
<i>Pasteurella haemolytica, biotyp T</i>	<i>Pasteurella trehalosi</i>	Septikemi och pneumoni hos får.
<i>Pseudomonas mallei</i>	<i>Burkholderia mallei</i>	Rots hos hästdjur.
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	<i>Burkholderia pseudomallei</i>	Melioidos hos häst m. fl. djurslag.
<i>Serpulina pilosicoli</i>	<i>Brachyspira pilosicoli</i>	Spiroketal diarré hos gris.
<i>Treponema hyodysenteriae,</i> <i>Serpula hyodysenteriae,</i> <i>Serpulina hyodysenteriae</i>	<i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	Svindysenteri.
<i>Vibrio anguillarum</i>	<i>Listonella anguillarum</i>	Vibriosis hos laxartade fiskar och ål.
<i>Vibrio jejuni, Campylobacter jejuni</i>	<i>Campylobacter jejuni subsp. jejuni</i> ³	Enterit, hepatit och sepsis hos fåglar och däggdjur.

¹ Vissa forskare anser att dessa arter fortfarande bör tillhöra genus *Chlamydia*.

² Vissa forskare anser (med rätta) att dessa arter, som tidigare tillhörde ordningen Rickettsiales, bör placeras i ett eget genus, men inom klassen Mollicutes till vilka mykoplasmer också hör.

³ Andra bakterier har också delats upp i underarter, men dessa listas inte här.

som en synonym till det nya namnet. Det finns en webbplats (List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature) där alla officiellt godkända bakterienamn (äldre och senare) finns listade och där man alltså kan hitta det senast föreslagna namnet (<http://www.bacterio.cict.fr/>). Om man anser att den författare som föreslagit en viss namnändring har rätt, bör man givetvis använda det föreslagna namnet, vilket inte nödvändigtvis behöver vara det senast föreslagna namnet. På webbplatsen för databasen VetBakt (<http://www.sva.se/vetbakt>), som huvudsakligen innehåller bakterier av veterinärmedicinskt intresse, kan man söka på såväl äldre som nya artnamn för att få information om vad en viss bakterie bör heta.

Enligt modern klassificering av organismer, indelas alla livsformer i tre domäner: arkéer (*Archaea*), bakterier (*Bacteria*) och eukaryoter (*Eucarya*). I detta sammanhang betraktas alltså inte virus som levande organismer. Idag finns det ungefär 6 000 officiellt beskrivna bakteriearter och dessa indelas i ett hierarkiskt system omfattande cirka 25 huvudutvecklingslinjer (fyla). Varje fylum indelas sedan vidare i olika kategorier enligt Tabell 2. I den senaste (andra) upplagan av "Bergey's Manual for Systematic Bacteriology" har klassificeringen av bakterier reviderats och den nya taxonomin är i stor utsträckning baserad på sekvensanalys av 16S rRNA

(7). I själva verket bestämmer man först sekvensen för 16S rRNA-genen och ur den kan sedan sekvensen för 16S rRNA-molekylen härledas. Än så länge har bara två volymer av fem kommit ut av "Bergey's Manual" och volym tre väntas komma ut under år 2007. Om man vill veta hur de bakterier som inte beskrivs i volymerna 1–2 kommer att klassificeras enligt den nya taxonomin, kan man registrera sig som användare och hämta ytterligare information på webbplatsen "Taxonomic Outline of the Prokaryotes" (<http://141.150.157.80/bergey-soutline/main.htm>).

Sekvensanalys som fylogenetiskt verktyg

Det var Linus Pauling och Emile Zuckerkandl som i början av 1960-talet insåg att ordningsföljden av byggstenarna (aminosyror och nukleotider) i cellens makromolekyler (proteiner respektive nukleinsyror) återspeglar organismens evolutionära historia (11). Ju större skillnad det är mellan byggstenarnas ordning (sekvenserna), dvs ju mer generna har hunnit mutera, desto mer avlägset besläktade är organismerna. Nukleotiderna i DNA är adenosin, cytidin, guanosin samt tymidin och de brukar förkortas A, C, G respektive T. Varje nukleotidposition i en gens ekvens kan betraktas som en karaktär där egenskapen kan vara A, C, G, eller T. Sekvensen av en gen på 1 500 nukleotider kan då i princip ge 1 500 karaktärer, som släkt-

skapet kan baseras på. Man får alltså betydligt fler karaktärer att basera släktskapet på, än man skulle få om det enbart var baserat på fenotypiska egenskaper (biokemi, morfologi, fysiologi med mera). Med hjälp av automatiska DNA-sekvenseringstekniker (Figur 2) kan man idag relativt enkelt och snabbt bestämma nukleotidsekvenser av olika gener till en rimlig kostnad. Även hela bakteriegenom kan sekvenseras, men det är betydligt dyrare och mer tidskrävande eftersom man då måste bestämma ordningsföljen av cirka 1 000 gånger fler nukleotider.

Sekvensanalys av 16S rRNA

Carl Woese (8) var först med att använda nukleotidsekvenser i 16S rRNA för att studera släktskap hos bakterier. Han kunde visa att 16S rRNA är en av de mest användbara enskilda molekylerna för sådana studier och man brukar säga att 16S rRNA fungerar som en molekylär klocka (10). Cellens proteinsyntesfabrik, ribosomen, består bland annat av 16S rRNA och eftersom "Naturen" bara tycks ha uppfunnit proteinbiosyntesen en enda gång, fungerar den på principiellt samma sätt i alla levande organismer.

De ingående komponenterna (rRNA och proteiner) har också samma viktiga funktioner och finns i alla levande organismer. Detta innebär att sekvensen av 16S rRNA kan användas för att konstruera evolutionära släkträd, som omfattar representanter för alla grupper av levande organismer. Genom sina studier kunde Carl Woese bland annat visa att arkéerna (kallades tidigare för arkebakterier), trots stora morfologiska likheter med vanliga bakterier, är lika skilda från dessa som eukaryota organismer (växter och djur). För dessa upptäckter tilldelades han Linné-priset 1995 av Uppsala Universitet och Crawford-priset 2003 av Kungliga Vetenskapsakademien.

Fylogenetiska träd

Med hjälp av olika beräkningsmodeller (t ex Neighbour Joining, Parsimony eller Maximum Likelihood) kan man från sekvensdata låta en dator rita upp fylogenetiska (evolutionära) träd, som ➤

Tabell 2. HIERARKISKT KASSIFICERINGSSYSTEM FÖR BAKTERIER.

Kategori (Taxon)	Category (Taxon) (engelska)	Antal ¹
Domän	Domain	1
Fylum	Phylum	25
Klass	Class	35
Subklass ²	Subclass ²	5
Ordning/Subsektion ³	Order/Subsection ³	90
Subordning ²	Suborder ²	15
Familj	Family	220
Släkte (el Genus)	Genus	1 000
Art	Species	6 000
Underart	Subspecies	iu ⁴

¹ Ungefärligt antal officiellt godkända taxa.

² Subklass och subordning används bara inom fylum Actinobacteria.

³ Subsektion används istället för ordning inom fylum Cyanobacteria.

⁴ Ingen uppgift, men relativt få arter är uppdelade i underarter.



FIGUR 2A. Marianne Persson sköter utrustningen (ABI Prism 3100 Genetic Analyzer) för automatisk DNA-sekvensering genom kapillärelektrofores vid SVA/SLU.

► illustrerar organismers släktskap (se Figur 3). För att kunna studera organismers släktskap genom analys av sekvensdata, måste man oberoende av beräkningsmodell först göra ett så kallat "sekvensalignment". Detta innebär att sekvenser av en viss gen (t ex den för 16S rRNA) från olika organismer organiseras så att homologa nukleotider (nukleotider, som har ett gemensamt ursprung) placeras i samma kolumn (se Figur 3A). Man brukar även på svenska säga att man då "alignar" sekvenser. Ett sekvensalignment kan göras manuellt eller automatiskt med hjälp av datorprogram, men underlättas i båda fallen av att sekvenserna innehåller omväxlande variabla och konserverade (universella) regioner, vilket 16S rRNA-genen gör (Figur 3A). Om man väljer att göra sitt träd med hjälp av Neighbour Joining, som är den enklaste beräkningsmodellen, låter man först datorprogrammet konstruera en så kallad distansmatris

(eller en likhetsmatris), som innehåller information om hur mycket de olika sekvenserna skiljer sig från varandra (Figur 3B). Neighbour Joining kan sedan tillämpas på distansmatrisen och programvaran ritar då upp ett träd, som endast är baserat på de procentuella nukleotidskillnaderna i sekvenserna och inte på karaktärernas egenskaper (dvs om det är ett A, C, G eller T i en viss position). I ett Neighbour Joining-träd är de horisontella avstånden i trädet alltså proportionella mot antalet nukleotidskillnader i den gen som trädet är baserat på, och grenordningen återspeglar släktskapet mellan de undersökta organismerna (Figur 3C).

Med hjälp av Parsimony eller Maximum Likelihood låter man datorprogrammet utgå från ett sekvensalignment och sedan testa alla tänkbara topologier (grenordningar) på träd, som kan konstrueras från de arter som har valts ut. Med endast nio arter i trädet kan man

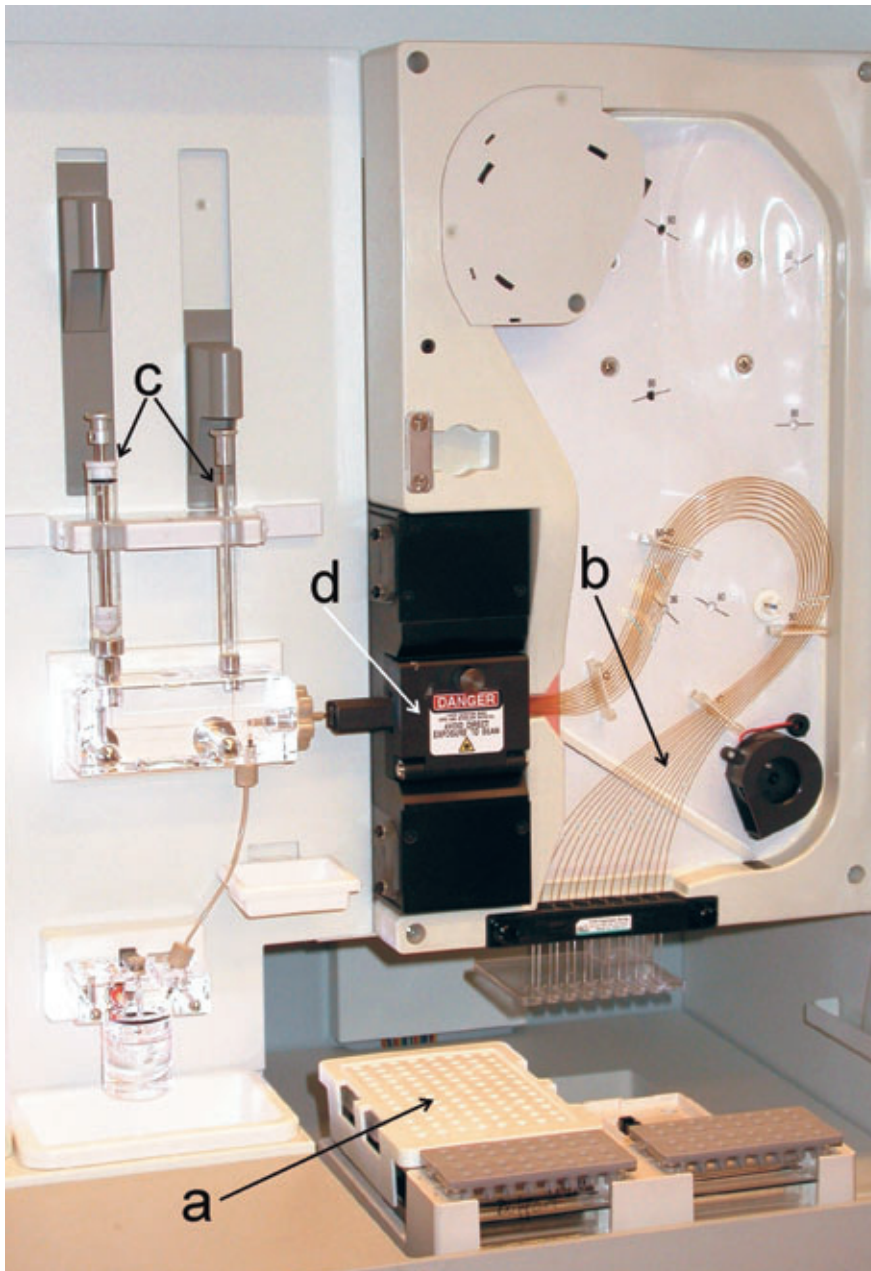
konstruera ca 35x106 olika träd. Från dessa väljer sedan datorprogrammet ut det träd som kan konstrueras från det minsta antalet nukleotidsubstitutioner (mutationer). Man antar att detta träd representerar de släktskapsförhållanden som är mest sannolika.

Parsimony och Maximum Likelihood kräver hög datorkapacitet, om man har många arter i trädet. Neighbour Joining ger i allmänhet tillräckligt bra resultat för träd baserade på 16S rRNA. På SVA används sekvensanalys av 16S rRNA rutinmässigt för identifiering av bakterier som inte går att typa med konventionella metoder, och tekniken har fått stor praktisk betydelse (1–3, 5–6, 9).

RESULTAT OCH DISKUSSION

Artbegreppet inom bakteriologi

Trots att arten kan sägas vara "grund-enheten" inom taxonomi finns det inom bakteriologi inte någon enhetlig definition av detta begrepp, som gäller för



FIGUR 2B. Närbild av sekvenseringsutrustningen. Maskinen kan laddas med 2x96 prover från mikrotiterplattor (a) och dessa prover appliceras sedan automatiskt i 16 kapillärrör (b) innehållande polyakrylamidgel, som fylls på med sprutor (c). Sekvenseringsprodukterna, som är fluorescensmärkta, separeras i kapillärröret genom elektrofores och separationen kan följas med hjälp av ett laserinstrument (d). Sekvensdata lagras kontinuerligt i dator och sedan använder man speciell programvara för utvärderingen.

DNA-preparationer är. Man brukar då säga att två DNA-preparationer, som har ett högre DNA-DNA reassociationsvärde än 70 procent, representerar samma art. Detta värde motsvarar en genomsnittlig sekvenslikhet på cirka 95 procent i hela genomet. Om detta artbegrepp tillämpas på högre organismer, skulle människan samt alla apor och halvapor utgöra en och samma art. Med andra ord, artbegreppet inom bakteriologi är mycket vidare än artbegreppet för högre organismer.

För bakterier går det också att använda sekvenslikhetsvärden för någon gen och då är det 16S rRNA-genen som har kommit till störst användning. Om sekvenslikheten i denna gen är mindre än 97 procent, representerar de jämförda generna troligen olika arter. För båda dessa metoder finns det dock en gräns runt gränsvärdet och för vissa grupper av bakterier (t ex inom genus *Brachyspira*) anser man att det rör sig om olika arter även om sekvenslikhetsvärdet för 16S rRNA-genen närmar sig 98–99 procent. Detta beror på att man i vissa fall även väger in viktiga kliniska egenskaper.

Fylogenetiska träd

Figur 4 visar ett fylogenetiskt träd med bakterier representerande veterinärmedicinskt viktiga fyla. Eftersom de flesta arter i detta träd tillhör olika familjer, blir grenarna i trädet långa. *Chlamydia muridarum* och *Chlamydophila felis* samt de båda arterna inom genus *Mycoplasma* utgör dock undantag. Av grenlängden mellan mykoplasmaerna att döma kan man dock säga att dessa båda arter nog borde tillhöra olika genus och kanske till och med olika familjer. Det är alltså stora sekvenskillnader mellan 16S rRNA-generna från de flesta av organismerna i detta träd.

Det fylum som omfattar det största antalet bakterier är *Proteobacteria* och därför har detta fylum delats upp vidare i sina klasser i Figur 5. I detta träd finns det flera bakteriearter inom åtminstone en del av familjerna. Därför är också grenarna kortare. Bakterierna är helt enkelt närmare släkt med varandra i detta träd än vad bakterierna i Figur 4 är. Trädet visar att släktet *Burkholderia* ligger ganska långt från släktet *Pseudo-* ➤

alla grupper av bakterier. Det beror på att bakterier, till skillnad från högre organismer, i allmänhet inte har någon sexuell förökning. Man brukar lite vagt säga att en bakterieart utgörs av en grupp av stammar, som inbördes liknar varandra mer än vad de liknar andra grupper av stammar. Definitionen av en

art beror då mycket på vilka egenskaper man väljer för att jämföra stammar. Olyckligtvis måste man ofta välja olika egenskaper för olika grupper av bakterier.

I dag har man också möjlighet att basera artbegreppet på så kallade DNA-DNA reassociationsstudier, dvs man bestämmer hur lika varandra olika

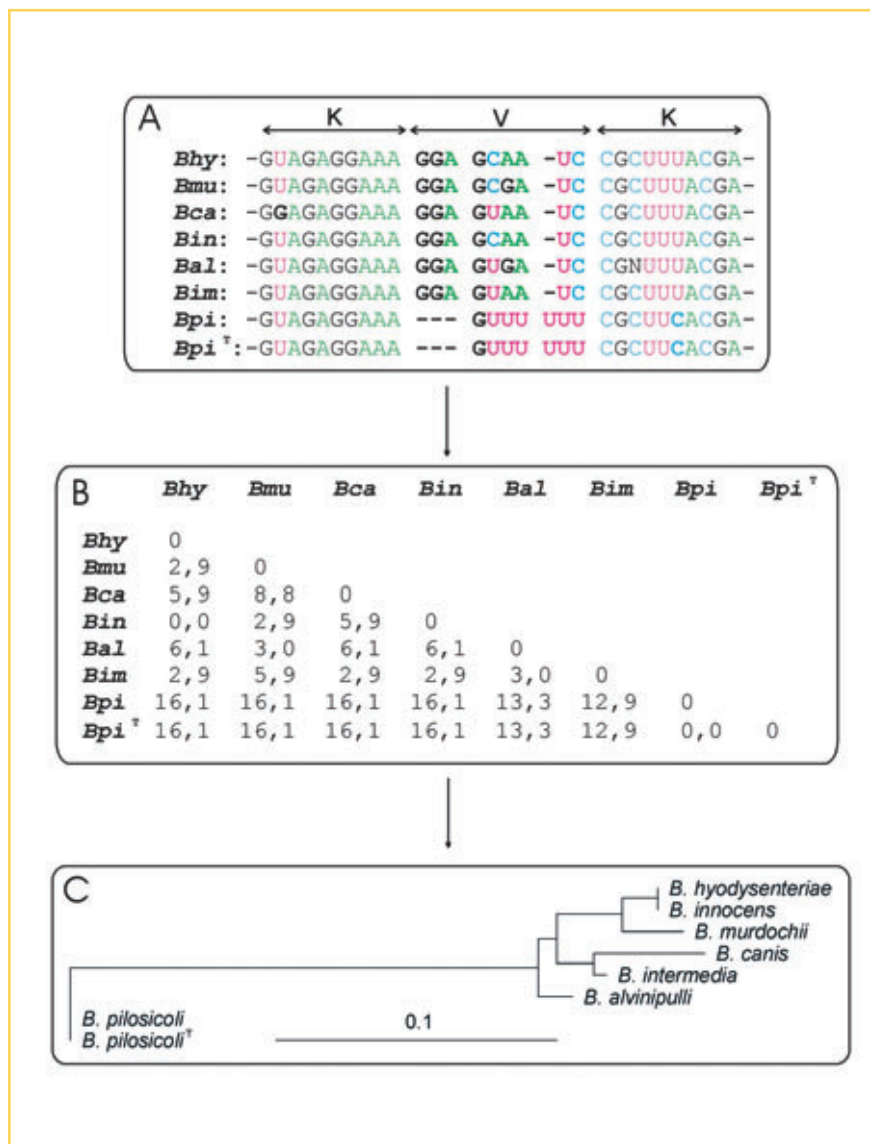
- *monas* liksom släktet *Helicobacter* ligger ganska långt från släktet *Campylobacter*. Detta motiverar ändrade klassificeringar (se Tabell 1). Trädet illustrerar också att det var riktigt att införa flera olika släkten (till exempel *Actinobacillus*, *Mannheimia* och *Nicoletella*) inom familjen *Pasteurellaceae* (jämför Figur 4).

Bioinformatik

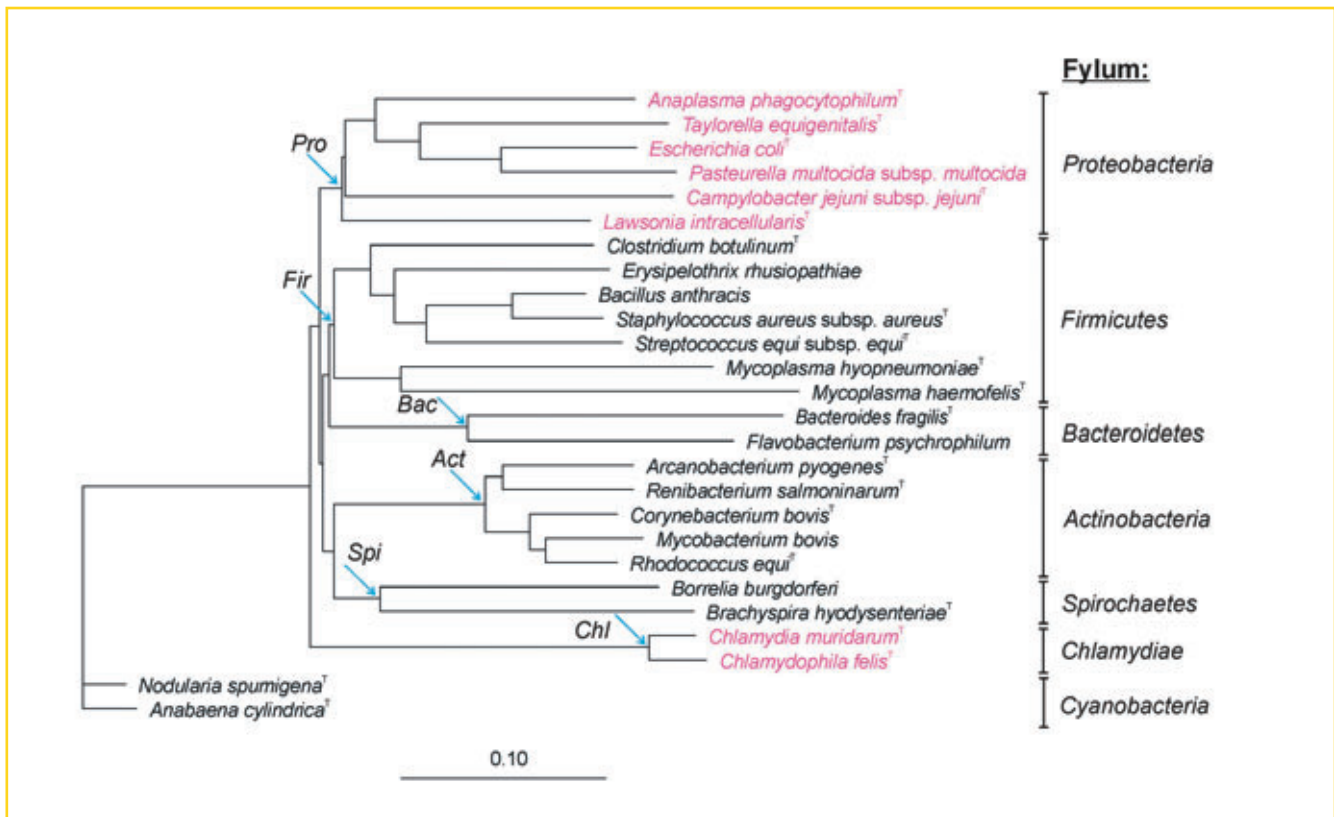
Med bioinformatik menas bland annat att kunna använda biologiska data (t ex nukleotidsekvenser från gener) för att söka information i olika databaser. När man arbetar med identifiering av bakterier har man mycket stor nytta av de sekvensdatabaser som är allmänt tillgängliga på Internet. Mest känd är kanske den allmänna sekvensdatabasen GenBank, som innehåller fler än $1,9 \times 10^{10}$ nukleotider i form av cirka $4,6 \times 10^6$ gener. På GenBanks webbplats (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) kan man använda sig av sekvenslikhetssökningsprogrammet BLAST för att jämföra en sekvens som man har bestämt själv med sekvenser som finns deponerade i databasen.

Om man matar in en egen sekvens, ger programmet en lista på de 100 sekvenser som har högst sekvenslikhetsvärde med den nya sekvensen. Eftersom sekvensering av 16S rRNA-genen från bakterier har blivit en standardmetod för karakterisering och beskrivning av nya bakteriearter, har man mycket stor nytta av dessa databaser. Man kan använda sig av bioinformatik för att ta reda på vilken bakterieart en viss sekvens sannolikt representerar. Metoden är speciellt användbar för de bakterier som är svåra att typa med konventionell teknik. Den har fördelen framför den vanligaste formen av PCR-baserad diagnostik att man inte behöver ha en specifik frågeställning. Information om 16S rRNA-sekvenser för veterinärmedicinskt viktiga bakterier kan man hämta i databasen VetBakt.

Det finns också flera speciella databaser som bara innehåller rRNA-sekvenser. Ett exempel på en sådan databas är Ribosomal Database Project-II (RDP-II), som har ca $2,5 \times 10^5$ förälgade bakteriella 16S rRNA-sekvenser (<http://rdp.cme.msu.edu/>). Denna data-



FIGUR 3. Konstruktion av ett evolutionärt (fylogenetiskt) träd från 16S rRNA-sekvensdata genom "Neighbour Joining". 3A illustrerar ett alignment, som visar hur ett litet segment omfattande 30 nukleotidpositioner ur 16S rRNA-sekvensen från olika taxa (arter och stammar) av genus *Brachyspira* har organiserats så att homologa positioner står i samma kolumn. Notera hexa-U segmentet i de två nedre raderna, som är karakteristiskt för *B. pilosicoli*. Nukleotiden uridin (U) i RNA motsvaras av T (tymidin) i DNA. 3B är en distansmatrix som visar de procentuella nukleotidskillnaderna mellan de segment som visas i 3A. Segmentet är inte representativt för hela genen eftersom det innehåller en förhållandevis lång hypervariabel region (fet stil i 3A), vilket ger större sekvenskillnader än de genomsnittliga. Konserverade (universella) och variabla regioner är markerade med K respektive V i 3A. 3C visar ett fylogenetiskt träd, som har beräknats med distansmatrisen i 3B som bas. Skallstreckat representerar tio nukleotidsubstitutioner per 100 positioner (90 % sekvenslikhet, vilket motsvarar 10 % sekvenskillnad). Eftersom trädet är baserat på endast ett fåtal nukleotidpositioner är den fylogenetiska upplösningen låg och trädets topologi illustrerar inte de ingående arternas sanna släktskap. Man kan ändå se att *B. pilosicoli*, som har valts som utgrupp, ligger relativt långt från övriga arter. I det valda segmentet är sekvenserna för *B. hyodysenteriae* och *B. innocens* identiska och de placeras därför på samma vertikala linje (eftersom det inte finns något horisontellt avstånd mellan dem). De båda *B. pilosicoli*-segmenten är också identiska. Förkortningarna i 3A och 3B står för *B. hyodysenteriae*, *B. murdochii*, *B. canis*, *B. innocens*, *B. aalborgi*, *B. intermedia* respektive *B. pilosicoli*.



FIGUR 4. Fylogenetiskt träd med representanter för några inom veterinärmedicinen viktiga bakteriella fyla (huvudutvecklingslinjer), baserat på 16S rRNA-sekvenser. Djurpatogener som representerar dessa fyla har lagts in i trädet. Alla fyla i trädet är monofyletiska, dvs härstammar från en enda stamfader (markerad med pil i trädet), som inte delas med något annat fylum. Grenordningen i trädet återspeglar bakteriernas släktskapsförhållanden. *Mycobacterium bovis* är t ex närmare besläktad med *Rhodococcus equi* än vad *Corynebacterium bovis* är. *Arcanobacterium pyogenes* och *Renibacterium salmoninarum* är ännu mindre besläktade med *R. equi*. Skallstreckat motsvarar tio substitutioner per 100 nukleotidpositioner.

bas är speciellt användbar när man vill göra fylogenetiska studier, eftersom man relativt lätt kan aligna den egna sekvensen med relevanta sekvenser i databasen på ett korrekt sätt. Det kan förefalla märkligt att det finns 40 gånger så många 16S rRNA-sekvenser deponerade som det finns officiellt beskrivna bakteriearter. De deponerade sekvenserna representerar dock inte bara typstammar av officiellt beskrivna bakterier, utan även andra stammar, icke officiellt beskrivna bakterier och bakterier som inte ens går att odla, utan enbart föreligger som klonade DNA-preparationer.

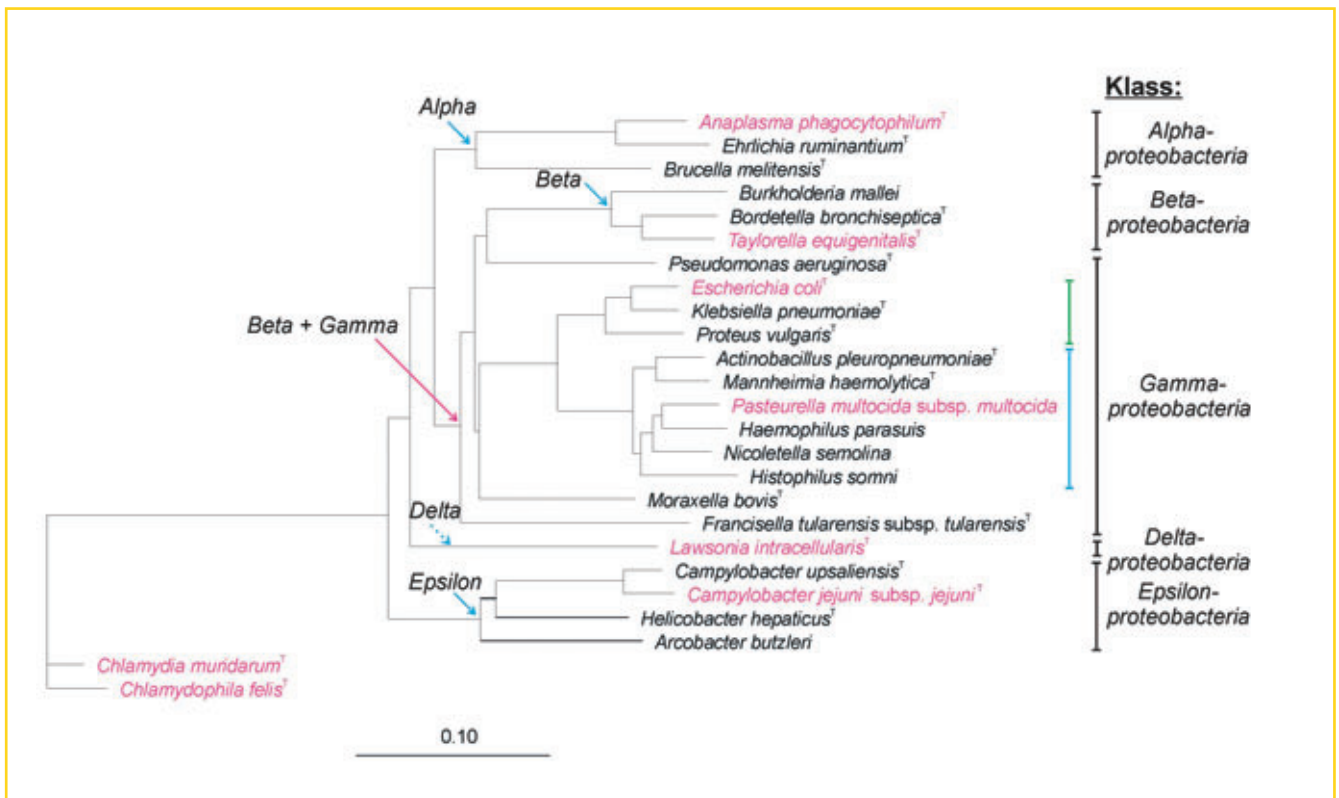
Helgenomsekvensering

Med ett bakteriegenom menas den fullständiga genetiska uppsättningen (kromosom och eventuella plasmider) för en bakterie. Idag finns den full-

ständiga nukleotidsekvensen rapporterad för cirka 400 bakteriegenom (<http://www.genomesonline.org/>) varav nio representeras av spiroketer (*Borrelia afzelii*, *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia garinii*, *Leptospira borgpetersenii* (två olika stammar), *Leptospira interrogans* (två olika stammar), *Treponema denticola* och *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*). Storleken på spiroketgenom varierar mellan 0,9 och 4,7 Mbp (miljoner baspar), vilket kan jämföras med andra bakteriegenom, som varierar i storlek mellan 0,6 och 10,0 Mbp.

Det finns ännu inte någon helgenomsekvens rapporterad för någon brachyspira, men sådana projekt pågår och man kan räkna med att helgenomsekvenser för brachyspiror blir allmänt tillgängliga inom en femårsperiod. När dessa sekvenser blir tillgängliga kommer man troligen att kunna härleda och för-

stå patogenicitetsmekanismer hos de sekvenserade arterna och det kommer att finnas större möjligheter att utveckla vacciner och förbättrad diagnostik än vad som finns idag. Figur 6 illustrerar den fantastiska utveckling som ägt rum från 1995 när den första bakteriella (*Haemophilus influenzae*) helgenomsekvensen publicerades (4). Förutom de cirka 400 avslutade helgenomsekvenseringsprojekten, finns ytterligare ungefär 1 000 pågående projekt rapporterade. Inom en femårsperiod kommer huvuddelen av dessa projekt att också vara avslutade. Helgenomsekvenser kommer då att finnas tillgängliga för de flesta bakterier av veterinärmedicinskt intresse och de kommer sannolikt att även kunna utnyttjas för klassificering. Vi måste alltså vara beredda på att man kommer att byta namn på bakterier också i framtiden. ➤



FIGUR 5. Fylogenetiskt träd med representanter inom fylum Proteobacteria. Detta fylum innehåller många veterinärmedicinskt viktiga bakteriearter. Fylum Proteobacteria är stort och har delats upp i fem klasser där Gammaproteobacteria utgör den största gruppen. Klassen Gammaproteobacteria är i detta träd inte monofyletisk eftersom *Pseudomonas aeruginosa* och *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* delar stamfader med Betaproteobacteria. Familjerna Enterobacteriaceae och Pasteurellaceae indikeras med grön respektive blå vertikal linje. Det är önskvärt, men inte alltid möjligt att taxonomiska grupper representeras av monofyletiska kluster. Klassen Delta-proteobacteria representeras av endast en art (*Lawsonia intracellularis*) och pilen är därför streckad eftersom den inte representerar en gemensam stamfader utan en så kallad "single species line". Skälstreckket motsvarar tio substitutioner per 100 nukleotidpositioner.

► TACK

Denna artikel tillägnas Allan Holmlund, som alltid har kloka synpunkter, men inte tycker om att man i "onödan" ändrar namn på bakterier. Ett stort tack till Karin Bergström, Viveca Bäverud och Göran Bölske för värdefulla synpunkter. Ett varmt tack till Marianne Persson, som har utfört många av de sekvenseringar som ligger till grund för detta arbete. Forskningsprojekt rörande betydelsen av biodiversitet inom genus *Brachyspira* för diagnostik, epidemiologi och patogenicitet har ekonomiskt stöd från Formas och Stiftelsen Lantbruksforskning.

SUMMARY

Taxonomy and phylogeny of bacteria – or why change bacterial names?

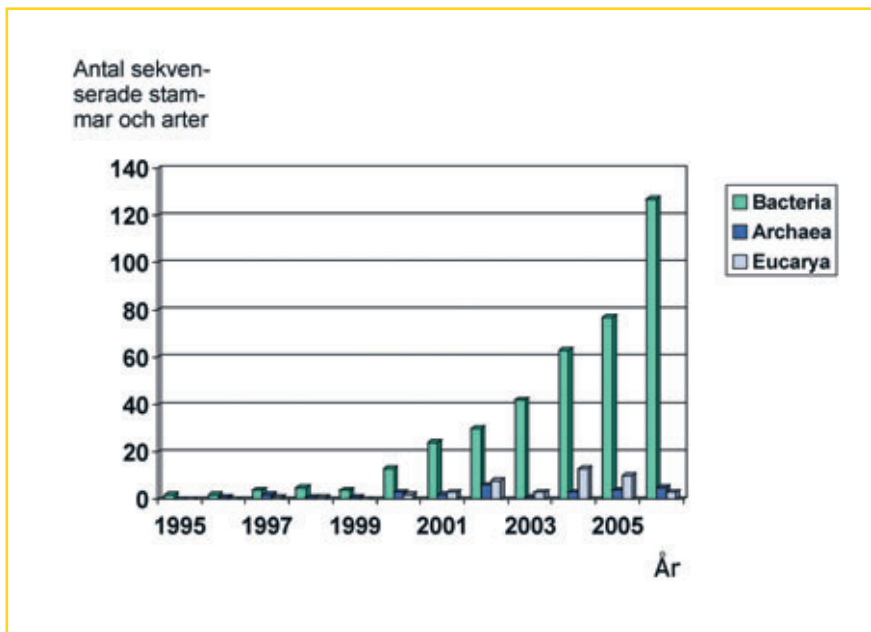
Today, classification (taxonomy) of bacteria is primarily based on their phylogeny (evolutionary history), which

can be determined by sequence analysis of the 16S rRNA gene. This approach has revolutionized bacterial taxonomy and many species have been reclassified and their names have been changed.

Bacterial strains are usually regarded as different species if the sequence difference in the 16S rRNA genes exceeds 3%. If the sequence difference between two strains is smaller than 3%, other criteria has also to be taken into account to judge if they still represent different species. A great advantage with a phylogeny based taxonomy is that bacteria within a certain taxon have a number of properties in common. The closer the taxon is to the species level, the more properties can be found that are in common. Bacterial taxonomy has become a much more dynamic science than it was in the past and we have to accept that bacterial names are sometimes changed.

Referenser

1. Bäverud V, Eriksson L, Holmström G, Persson M, Zimmermann U & Johansson KE. Isolering och karaktärisering av *Dichelobacter nodosus* från får med fotröta. Svensk VetTidn, 2005, 57, 11, 21–26.
2. Bäverud V, Nyström C & Johansson KE. Isolation and identification of *Taylorella asinigenitalis* from the genital tract of a stallion, first case of a natural infection. Vet Microbiol, 2006, 116, 294–300.
3. Englund S, Bölske G & Johansson KE. An IS900-like sequence found in *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. FEMS Microbiol Lett, 2002, 209, 267–271.
4. Fleischmann RD, Adams MD, White O, et al. Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. Science, 1995, 269, 496–511.
5. Hansson I, Persson M & Johansson KE. *Nicoletella semolina* – ny bakterie påvisad hos hästar med luftvägsproblem. Svensk VetTidn, 2006, 58, 11, 17–24.



FIGUR 6. Kompletta och publicerade helgenomsekvenseringsprojekt för bakterier, arkéer och eukaryoter. Figuren visar hur många genomprojekt som hittills har slutförts per år för respektive domän (bakterier, arkéer och eukaryoter).

- Johansson SK, Feinstein RE, Johansson KE & Lindberg AV. Occurrence of *Helicobacter* species other than *H hepaticus* in laboratory mice and rats in Sweden. *Comp Med*, 2006, 56, 110–113.
- Ludwig W & Klenk H-P. Overview: A phylogenetic backbone and taxonomic

framework for procaryotic systematics. In: Garrity GM, ed. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol 1, 2nd ed. New York, NY, Springer-Verlag, 2001, 49–65.

- Morell V. Microbiology's scarred revolutionary. *Science*, 1997, 276, 699–702.

- Råsbäck T, Jansson DS, Johansson K-E & Fellström C. A novel enteropathogenic, strongly haemolytic spirochaete isolated from pig and mallard, provisionally designated "*Brachyspira suanatina*" sp nov. *Environ Microbiol*, 2006, in press.
- Woese CR. Bacterial evolution. *Microbiol Rev*, 1987, 51, 221–271.
- Zuckerandl E & Pauling L. Evolutionary divergence and convergence in proteins. In: Bryson V & Vogel HJ, eds. *Evolving genes and proteins*. New York, NY, Academic Press, 1965, 97–166.

***KARL-ERIK JOHANSSON**, professor, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, Sveriges Lantbruksuniversitet, Box 7009, 750 07 Uppsala och Avdelning för bakteriologi, Statens Veterinärmedicinska Anstalt, 751 89 Uppsala.

MÄRIT PRINGLE, leg veterinär, VMD, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, Sveriges Lantbruksuniversitet, Box 7009, 750 07 Uppsala.

DÉSIRÉE S JANSSON, leg veterinär, Avdelning för lantbrukets djur, Statens Veterinärmedicinska Anstalt, 751 89 Uppsala.

STAFFAN TAMM, fil dr, Avdelning för vetenskap och kvalitet, Statens Veterinärmedicinska Anstalt, 751 89 Uppsala.

THERESE RÅSBÄCK, leg veterinär, Avdelning för bakteriologi, Statens Veterinärmedicinska Anstalt, 751 89 Uppsala.

CLAES FELLSTRÖM, leg veterinär, professor, Institutionen för kliniska vetenskaper, Sveriges Lantbruksuniversitet, Box 7018, 750 07 Uppsala.

NordVacc
210 x 86