

ZMIANY W TAKSONOMII  $\gamma$ -PROTEOBACTERIA,  
MODYFIKACJA NAZWY RZĘDU *ENTEROBACTERIALES*  
I NOWE RODZINY W OBRĘBIE *ENTEROBACTERALES* ORD. NOV.

Paweł Nawrotek\*, Bartłomiej Grygorcewicz, Adrian Augustyniak

Katedra Immunologii, Mikrobiologii i Chemii Fizjologicznej, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt,  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

Wpłynęło w lipcu, zaakceptowano w sierpniu 2017 r.

1. Wstęp. 2. Zasady dotyczące wprowadzania zmian taksonomicznych. 3. Przesłanki wprowadzania zmian taksonomicznych. 4. Zmiany w rządzie *Enterobacterales* ord. nov. 5. Bazy danych a zmiany w taksonomii rzędu *Enterobacterales* ord. nov. 6. Podsumowanie**Changes in the taxonomy of  $\gamma$ -Proteobacteria, modification of the order *Enterobacteriales* and novel families within *Enterobacterales* ord. nov.**

**Abstract:** Prokaryotic diversity increases every year with each new described species. Since the first discoveries of microorganisms, researchers' endeavours are dedicated to the systematisation of all known living organisms in a consistent taxonomy. Originally based on morphology, in recent years modern taxonomy develops thanks to the implementation of new discoveries in the fields of biochemistry and genetics. In the last thirty years, ribotyping was the leading technique used to classify microorganisms. Due to problems with the comparison of certain species, novel methods based on the analysis of proteins have been applied. In-depth analysis of *Enterobacteriaceae* family showed that its members are more dissimilar than previously thought, which eventually led to dividing this family into seven families and resulted in a change to the name of the order: from *Enterobacteriales* to *Enterobacterales*. These changes were applied in some biggest accessible databases. However, there are still many other which have not modified their taxonomy records to date. Such situation may lead to unnecessary confusion, which strengthens the necessity to create one, unified taxonomy which is approved by the whole scientific community.

1. Introduction. 2. Principles regarding the introduction of taxonomical changes. 3. Justification of taxonomical changes. 4. Modifications in the order *Enterobacterales* ord. nov. 5. Databases and changes in the taxonomy of the order *Enterobacterales* ord. nov. 6. Summary**Słowa kluczowe:** *Enterobacteriaceae*, *Enterobacteriales*, nowa taksonomia**Key words:** *Enterobacteriaceae*, *Enterobacteriales*, novel taxonomy

## 1. Wstęp

Taksonomia drobnoustrojów podlega ciągłym zmianom. Równoległe z rozwojem mikrobiologii tworzył się i zmieniał system nazewnictwa mikroorganizmów. Było to możliwe głównie dzięki wprowadzaniu nowych metod badawczych umożliwiających uzyskanie oryginalnych danych doświadczalnych. Dużym przełomem w identyfikacji i różnicowaniu bakterii, a tym samym w ich nomenklaturze, było wprowadzenie w 1884 roku przez Hansa Christiana Joachima Grama złożonej metody barwienia pozwalającej na wprowadzenie podziału bakterii na Gram-dodatnie i Gram-ujemne [19]. Bazując na morfologicznych i fizjologicznych przesłankach stopniowo odkrywano kolejne mikroorganizmy reprezentujące określone grupy i podejmowano próby ich klasyfikacji. Systemy oparte na analizie cech fenotypowych stanowią obecnie zasadniczy element rutynowej diagnostyki mikrobiologicznej, jednak dopiero odkry-

cie budowy i funkcjonowania komórek na poziomie molekularnym, począwszy od zaproponowanego przez Jamesa Watsona i Francisca Cricka w 1953 roku modelu struktury DNA (na podstawie radiogramów wykonanych przez Rosalind Elsie Franklin) [18], doprowadziło do kolejnych badań i odkryć umożliwiających rozwój diagnostyki bazującej na nowych markerach przydatnych w określaniu przynależności taksonomicznej organizmów, w tym bakterii. W latach 90. XX wieku Carl Richard Woese zaproponował przełomowy model klasyfikacji organizmów oparty na analizie molekularnej sekwencji kodującej 16S rRNA. Wprowadzony dzięki temu podział świata żywego nie tylko pozwolił stworzyć uniwersalny system ukazujący rzeczywiste powiązania filogenetyczne pomiędzy organizmami, ale ustalił również najwyższe rangą taksony (zwane domenami) – Archaea, Bacteria oraz Eukarya [20]. Wykorzystywanie w rutynowej praktyce genu kodującego 16S rRNA jako molekularnego markera [3] doprowadziło

\* Autor korespondencyjny: Paweł Nawrotek, Katedra Immunologii, Mikrobiologii i Chemii Fizjologicznej, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, al. Piastów 45, 70-311 Szczecin; tel. 91 449 67 10; fax: 91 454 16 42; e-mail: [pawel.nawrotek@zut.edu.pl](mailto:pawel.nawrotek@zut.edu.pl)

do zrewidowania wcześniejszych ustaleń dotyczących systematyki wielu mikroorganizmów. Na tej podstawie dokonano m.in. szeregu zmian w taksonomii rodzaju *Bacteroides*, które zostały uwzględnione w ostatnim wydaniu Bergey's Manual of Systematic Bacteriology [15]. Ponadto, dzięki zastosowaniu rybotypowania udało się także zaktualizować systematykę Gram-zmiennych ziarniako-pałeczek *Gardnerella vaginalis*, które ze względu na swój pleomorfizm, pierwotnie zaliczane były do rodzajów *Haemophilus* i *Corynebacterium* [4, 17, 12]. Aktualnie bakteria ta jest przyporządkowana do typu *Actinobacteria* (promieniowce) i rodziny *Bifidobacteriaceae* (wg bazy UniProt). Niestety stosowanie 16S rDNA w taksonomii ma swoje ograniczenia. Wraz ze wzrostem liczby dostępnych sekwencji w bazach danych stwierdzono, że system ten nie jest wystarczająco wiarygodny do oznaczania przynależności gatunkowej wielu różnych drobnoustrojów. W dużej mierze związane jest to z występowaniem podobieństwa pomiędzy sekwencjami nukleotydowymi, co z kolei może powodować trudności z wyborem specyficznych par starterów zapewniających odpowiedni poziom dyskryminacji prób analizowanych z użyciem techniki PCR [13]. Na tego typu problem natknięto się m.in. podczas porównywania sekwencji nukleotydowych 16S rDNA bakterii z rodzajów *Streptomyces* i *Kitasatospora*. W tym przypadku gen kodujący 16S rRNA okazał się nieprzydatny do różnicowania występujących w ich obrębie gatunków, a sam rodzaj *Kitasatospora* ulegał kolejnym zmianom reklasyfikacyjnym [9]. Wskazane trudności skłaniają do poszukiwania i stosowania alternatywnych metod różnicowania drobnoustrojów. W tym kontekście szczególne znaczenie przypisuje się metodom, które uwzględniają zarówno dane uzyskiwane z analizy filogenetycznej sekwencjonowanych genomów, genów konstytutywnych oznaczanych z użyciem techniki MLSA (Multilocus Sequence Analysis) oraz unikalnych insercji lub delecji obecnych w szeroko rozpowszechnionych białkach (CSI – Conserved Signature Insertions/Deletions), w tym w kluczowych białkach bakteryjnych, m.in. występujących w nukleoidzie czy też białkach rybosomalnych [1, 10].

W 2016 roku dokonano radykalnej zmiany w aksonomii rodziny *Enterobacteriaceae*, z której nie tylko wydzielono kilka nowych rodzin, ale także uzgodniono, że bakterie zaliczane wcześniej do *Enterobacteriaceae*, obecnie będą klasyfikowane do taksonu w randze rzędu. Dodatkowo zaproponowano zmianę dotychczasowej nazwy rzędu „*Enterobacteriales*” na „*Enterobacterales*” [1]. Niniejsza praca ma na celu przedstawienie zmian w aktualnej systematyce bakterii z rzędu *Enterobacterales* ord. nov., wskazanie argumentów, które doprowadziły do modyfikacji wcześniejszego systemu klasyfikacji oraz instytucji, które zaakceptowały zaproponowane zmiany taksonomiczne pałeczek jelitowych.

## 2. Zasady dotyczące wprowadzania zmian taksonomicznych

Nazewnictwem taksonomicznym Prokaryota zajmuje się Międzynarodowy Komitet ds. Systematyki Prokaryota (ICSP – International Committee on Systematics of Prokaryotes). Pomysł powstania systemu ujednoliconego nazewnictwa drobnoustrojów powstał podczas pierwszego międzynarodowego kongresu mikrobiologii, który odbył się w Paryżu w 1930 roku [8]. Przez lata był on zmieniany i uaktualniany. Początkowo dotyczył jedynie bakterii, ale następnie został rozszerzony także o archeony. Jedną z istotniejszych zmian w nomenklaturze taksonomicznej organizmów prokariotycznych było wprowadzenie dodatkowych zasad dotyczących prawidłowego oznaczania gatunków niehodowlanych w warunkach laboratoryjnych, które weszły w życie od 1 stycznia 2001 roku. Ostatnie dostępne sugestie dotyczące zasad wprowadzania zmian w nazewnictwie Prokaryota zostały opublikowane w 2015 roku jako draft manuskryptu z roku 2008 [16]. Od publikacji w Internecie (20/11/2015) był on cytowany 35 razy w pracach, które przedstawiały sugestie i komentarze dotyczące zapisów tego dokumentu. Autorzy umieścili w nim 65 reguł, które powinny być stosowane w nomenklaturze mikroorganizmów prokariotycznych. Za właściwe czasopismo, które zajmować się będzie zbieraniem i aktualizowaniem danych dotyczących nazewnictwa bakterii i archeonów uznano *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, w którym przedstawiono m.in. zasady właściwego wprowadzania nowego nazewnictwa, a także zasady przechowywania i udostępniania szczepów drobnoustrojów [8, 16]. Podejście oparte na ciągłym zbieraniu i publikowaniu danych w czasopiśmie dostępnym w sieci internetowej wydaje się być dobrym rozwiązaniem. Ze względu na szybkość dostępu do danych ma ono zasadniczą przewagę nad tradycyjnymi publikacjami książkowymi, które przez dziesięciolecia były zasadniczym źródłem informacji na temat nazewnictwa taksonomicznego drobnoustrojów, takimi jak „*The Prokaryotes*” (wyd. Springer-Verlag) czy „*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*” (wyd. Springer-Verlag). Ten ostatni tytuł został zmodyfikowany i od 2015 roku jest dostępny na stronie wydawnictwa John Wiley & Sons, Inc. jako „*Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*” [2].

## 3. Przesłanki wprowadzania zmian taksonomicznych

Od wielu lat złotym standardem identyfikacji drobnoustrojów była analiza oparta o sekwencję genu kodującego 16S rRNA, czyli małą podjednostkę rybosomu. Każdego roku bazy danych są uzupełniane o nowe

sekwencje, które na bieżąco są publikowane m.in. na stronie NCBI (National Center for Biotechnology Information), a także w bazie RDP (Ribosomal Database Project) [6]. Ilość sekwencji zdeponowanych w bazie RDP wynosi ponad 3,3 mln. Identyfikacja w oparciu o 16S rRNA opiera się na porównaniu częściowej lub całkowitej sekwencji genu do sekwencji referencyjnej. Takiego porównania można łatwo dokonać wykorzystując aplikację BLAST dostępną na portalu NCBI. Podobieństwa pomiędzy sekwencjami mogą być także analizowane za pośrednictwem programów komputerowych, takich jak MEGA 7 oraz Ugene. W modelowaniu przestrzennym i porównywaniu białek pomocne może być ponadto oprogramowanie Chimera, które umożliwia przepisywanie sekwencji nukleotydowych na aminokwasowe i odwrotnie.

Sekwencje rybosomalne są użyteczne w taksonomii ze względu na ich wysoce konserwatywny charakter. Bez prawidłowego funkcjonowania rybosomów, komórki nie byłyby zdolne do przeprowadzania procesu translacji, a tym samym nie mogłyby wytwarzać białek. Dlatego mutacje w genach kodujących podjednostki rybosomu ograniczone są funkcją rybosomalnego RNA, w przeciwieństwie do mutacji innych genów. Dla przykładu, defekt jednego z enzymów odpowiedzialnych za metabolizowanie źródeł węgla prawdopodobnie spowoduje uruchomienie innego szlaku metabolicznego i wykorzystanie węgla w innej formie. Defekt rybosomów z reguły skazuje daną komórkę na śmierć [5].

Z drugiej strony konserwatywny charakter sekwencji małej podjednostki rybosomu może być także wadą genotypowania, ze względu na ściśle ograniczoną liczbę możliwych mutacji, a przez to ograniczoną liczbę wariantów. Problem ten jest zauważalny zwłaszcza w przypadku blisko spokrewnionych gatunków bakterii, takich jak np. *Streptomyces* i *Kitasatospora*, w przypadku których sama analiza 16S rRNA jest niewystarczająca do ich skutecznego odróżnienia. W wymienionym przykładzie za dodatkowy marker, który umożliwił różnicowanie obu gatunków, uznano wysoce konserwatywne białka z rodziny Ssg odpowiadające za procesy morfogenetyczne związane ze złożonym cyklem rozwojowym promieniowców, w których odbywa się podział komórki i wytwarzanie spor [9].

#### 4. Zmiany w rzędzie *Enterobacterales* ord. nov.

W roku 2016 dokonano znaczących zmian w taksonomii rodziny *Enterobacteriaceae*, a także rzędu *Enterobacteriales*, którego nazwę zmieniono na *Enterobacterales* ord. nov. W pracy Adeolu i wsp. [1] zaprezentowano wyniki kompleksowych badań genomicznych opartych na analizie porównawczej poszczególnych przedstawi-

cieli rzędu *Enterobacteriales*, które doprowadziły do rekonstrukcji filogenetycznej tego rzędu. Działania te polegały na analizie 1548 bakteryjnych białek rdzeniowych (core proteins), 53 białek rybosomalnych oraz analizie MLSA czterech białek (GyrB, RpoB, AtpD i InfB), w zakresie obecnych w nich unikalnych insercji lub delecji (CSI). Te konserwatywne zmiany stanowią ważne markery molekularne pozwalające na dokładne oznaczenie zależności filogenetycznych pomiędzy mikroorganizmami [11]. Dzięki nim można otrzymać szczegółowe mapy filogenetyczne o wyższej rozdzielczości, co zostało dokładnie opisane w pracy Glaeser i Kampfer [10]. Dodatkowo, Adeolu i wsp. [1] wyznaczyli pokrewieństwo między przedstawicielami rzędu *Enterobacteriales*, na podstawie analizy ogólnego podobieństwa ich genomów.

Nowo zaproponowane, przez Adeolu i wsp. [1], zmiany w rzędzie *Enterobacterales* ord. nov. obejmują przekształcenie monotypowego rzędu *Enterobacteriales*, zawierającego tylko jedną rodzinę *Enterobacteriaceae*, w politypowy rząd *Enterobacterales* ord. nov. obejmujący łącznie siedem rodzin, w tym: *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae*, *Pectobacteriaceae*, *Yersiniaceae*, *Hafniaceae*, *Morganellaceae* oraz *Budviciaceae*. Nową taksonomię pałeczek jelitowych z rzędu *Enterobacterales* ord. nov. zestawiono w tabeli I.

Należące do rodziny *Enterobacteriaceae* bakterie posiadają aż 21 specyficznych dla nich konserwatywnych insercji/delecji aminokwasowych w kluczowych białkach, takich jak: NADH zależna oksydoreduktaza ubikwitynowa (podjednostka M), białko ruchliwości drgającej PilT, AMP zależna ligaza 2,3-dihydroksybenzoenu, białko wiążące ATP/GTP, wielofunkcyjny kompleks utleniający kwas tłuszczowy (podjednostka alfa), hydrolaza S-formyloglutanu, dehydrogenaza asparaginianowo-semialdehydowa, epimeraza, białko membranowe, dehydrogenaza mrówczanu (podjednostka 7), transferaza glutationu, mutaza fosfoglukozaminy, hydrolaza glikozylowa, 23 rRNA, metylotransferaza uracylu, kochaperon HscB, amidaza N-acetylmuramilo-L-alaniny, białko transportujące siarczki, białko wiążące ATP (CysA), białko budujące LPS (LptD) [1]. Z kolei, rodzina *Erwiniaceae* obejmuje gatunki bakterii posiadające konserwatywne wzory CSI w 12 białkach: ligazie glutaminowo-cysteinowej, podjednostce B gyrazy DNA, białku formowania LPSu (LptD), prekursorze DsbA, helikazie RNA, syntazie TruD, białku transportującym glicynę/betainę ABC, białku wiążącym ATP, dysmutazie ponadtlenkowej, białkach fazy stacjonarnej czy dwuskładnikowego sensora kinazy histydyliny [1]. Członków rodziny *Pectobacteriaceae* można odróżnić od innych przedstawicieli rzędu *Enterobacterales* ord. nov. z wykorzystaniem czterech konserwatywnych indeli (insercji/delecji) znajdujących się w aktywności transkrypcji białek RhaS, białku motorycznym MotB,

Tabela I  
Nowy podział rodzin wydzielonych z *Enterobacteriaceae* w obrębie rzędu *Enterobacteriales* ord. nov. oraz ich główni przedstawiciele [na podstawie 1]

Rząd	Rodzina	CSI*	Główni przedstawiciele
Enterobacteriales ord. nov.	<i>Enterobacteriaceae</i>	21	<i>Escherichia**</i>
			<i>Salmonella</i>
			<i>Shigella</i>
			<i>Enterobacter</i>
			<i>Klebsiella</i>
			<i>Citrobacter</i>
	<i>Erwiniaceae</i>	12	<i>Erwinia**</i>
			<i>Pantoea</i>
			<i>Phaseolibacter</i>
			<i>Tatumella</i>
			<i>Wigglesworthia</i>
	<i>Pectobacteriaceae</i>	4	<i>Pectobacterium**</i>
			<i>Brenneria</i>
			<i>Dickeya</i>
	<i>Yersiniaceae</i>	3	<i>Yersinia**</i>
			<i>Ewingella</i>
			<i>Serratia</i>
	<i>Hafniaceae</i>	4	<i>Hafnia**</i>
			<i>Edwardsiella</i>
	<i>Morganellaceae</i>	7	<i>Morganella**</i>
			<i>Proteus</i>
<i>Providencia</i>			
<i>Budviciaceae</i>	9	<i>Budvicia**</i>	
		<i>Leminorella</i>	
		<i>Pragia</i>	

\* CSI (conserved signature insertions/deletions)

\*\* nazwa rodzaju bakterii reprezentatywna dla rodzin w obrębie *Enterobacteriales* ord. nov.

dwuskładnikowym białku kinazy histydynowej oraz jednym białku hipotetycznym [1].

W świetle przedstawionych zmian rodzina *Yersiniaceae* charakteryzuje się obecnością trzech charaktery-

stycznych, konserwatywnych sygnatur CSI występujących w białkowym regulatorze transkrypcji z rodziny TetR oraz białku hipotetycznym [1]. Bakterie z rodziny *Hafniaceae* można odróżnić od innych przedstawicieli *Enterobacteriales* ord. nov. na podstawie obecności konserwatywnych insercji/delekcji aminokwasów, w takich białkach jak: dwuskładnikowy regulator odpowiedzi GRR, adenylotransferaza glukozo-1-fosforanowa, aktywator transkrypcyjny NhaR, czy sensor kinazy histydynowej [1]. *Morganellaceae* to z kolei rodzina, którą charakteryzuje obecność siedmiu konserwatywnych CSI znalezionych w białkach: sukcylotransferazy dihydrolipoamidowej, dipeptydazy Xaa-Pro, UDP-zależnej hydrolazy, czynnika sprzężonego z naprawą transkrypcji, dipeptydazy Xaa-Pro, acetylotransferazy fosforanowej, ligazy histydyna-tRNA, amidazy N-acetylomuramilo-L-alaniny [1]. Natomiast bakterie należące do rodziny *Budviciaceae* charakteryzują się insercjami/delekcjami występującymi w dwufunkcyjnej białkowo-disiarczanowej izomerazie/oksydoreduktazie (DsbC), białku transportującym L-metioninę, ligazie D-alanina-D-alanina oraz w sześciu białkach hipotetycznych [1].

## 5. Bazy danych a zmiany w taksonomii rzędu *Enterobacteriales* ord. nov.

Każda zmiana w taksonomii czy nomenklaturze niesie za sobą konieczność aktualizowania informacji w odpowiednich bazach danych. W tabeli II przedstawiono wiodące bazy danych wraz z aktualnymi adresami ich stron internetowych, w których na bieżąco uwzględniane są zmiany taksonomiczne mikroorganizmów. Należy podkreślić, iż trzy największe, międzynarodowe bazy danych (NCBI, UniProt, RDP) wprowadziły zmiany do prezentowanej taksonomii pałeczek jelitowych, w innych podawana jest jeszcze dawna systematyka. W związku z tym aktualnie funkcjonują dwa podziały taksonomiczne dotyczące  $\gamma$ -Proteobacteria, co może powodować pewien chaos informacyjny. Przykładowo w zbiorowej pracy „Bergey’s Manual of

Tabela II  
Internetowe bazy danych, w których uwzględniane są zmiany taksonomiczne mikroorganizmów

Nazwa bazy internetowej	Uwzględnienie nowej taksonomii pałeczek jelitowych*	Adres internetowy bazy
LPSN (List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature)	Nie	bacterio.net
RDP (Ribosomal Database Project)	Tak	rdp.cme.msu.edu
NCBI (National Center for Biotechnology Information)	Tak	ncbi.nlm.nih.gov
BacDive (The Bacterial Diversity Metadatabase)	Nie	bacdive.dsmz.de
DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH)	Nie	dsmz.de
UniProt (The Universal Protein Resource)	Tak	uniprot.org/taxonomy/

\* Zmiany taksonomiczne w konwencji zaproponowanej przez Adeolu i wsp. [1]

Systematics of Archaea and Bacteria”, która ostatnio była aktualizowana w marcu 2017 roku, taksonomia rodziny *Enterobacteriaceae* pozostała bez zmian. Co więcej, mimo starań wciąż brakuje ujednoczonych wytycznych dotyczących „oficjalnego” nazewnictwa i taksonomicznego przyporządkowania drobnoustrojów, które byłyby jednolite i uznane przez całe środowisko naukowe. Wiązałoby się to m.in. z globalnym aktualizowaniem źródeł podających najbardziej aktualne i wiarygodne informacje taksonomiczne. W dostępnych źródłach brakuje zwłaszcza podsumowań rocznych lub dwuletnich informujących o zmianach, które zostały zatwierdzone i właściwie wprowadzone do systemu taksonomicznego w taksonach wyższych niż rodzaj. W tym kontekście na szczególną uwagę zasługuje baza DSMZ, która regularnie publikuje i uaktualnia listę nazw opublikowanych zgodnie z założeniami International Code of Nomenclature of Bacteria [7]. Istnieje także możliwość sprawdzenia, czy nazwa określonego mikroorganizmu została opublikowana zgodnie z zasadami ICSP w internetowej bazie „NamesforLife” [14]

### Podsumowanie

Postępy w diagnostyce mikrobiologicznej powodują, iż taksonomia wielu mikroorganizmów podlega znaczącym zmianom i reklasyfikacjom. Dawniej brane w tym celu pod uwagę cechy fenotypowe, później genotypowe oparte o sekwencje kodujące rRNA czy zsekwencjonowane genomy, są obecnie uzupełniane o informacje pozyskiwane ze struktury aminokwasowej białek pełniących w komórkach kluczowe funkcje. Wyniki uzyskiwane z badań molekularnych z pewnością są pomocne w prawidłowym konstruowaniu drzew filogenetycznych umożliwiającym skuteczniejsze różnicowanie mikroorganizmów. Konieczne wydaje się jednak tworzenie jednolitych i usystematyzowanych zasad wprowadzania zmian w taksonomii, które byłyby uznane przez całe środowisko naukowe.

### Piśmiennictwo

- Adeolu M., Alnajar S., Naushad S., Gupta R.S.: Genome based phylogeny and taxonomy of the “*Enterobacterales*”: proposal for *Enterobacterales* ord. nov. divided into the families *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae* fam. nov., *Pectobacteriaceae* fam. nov., *Yersiniaceae* fam. nov., *Hafniaceae* fam. nov., *Morganellaceae* fam. nov., and *Budviciaceae* fam. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **66**, 5575–5599 (2016)
- Brenner D.J., Farmer J.: *Enterobacteriaceae* (w) *Bergey’s Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 2015, s. 1–24
- Case R.J., Kjelleberg S. i wsp.: Use of 16S rRNA and *rpoB* genes as molecular markers for microbial ecology studies. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**, 278–288 (2007)
- Catlin B.W.: *Gardnerella vaginalis*: Characteristics, clinical considerations, and controversies. *Clin. Microbiol. Rev.* **5**, 213–237 (1992)
- Clarridge J.E., Alerts C.: Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clin. Microbiol. Rev.* **17**, 840–862 (2004)
- Cole J.R., Tiedje J.M.: The Ribosomal Database Project: Improved alignments and new tools for rRNA analysis. *Nucleic Acids Res.* **37**, D141–D145 (2009)
- DSMZ: List of prokaryotic names validly published., 04.2017, [https://www.dsmz.de/fileadmin/Bereiche/ChiefEditors/BacterialNomenclature/DSMZ\\_Bactnames.pdf](https://www.dsmz.de/fileadmin/Bereiche/ChiefEditors/BacterialNomenclature/DSMZ_Bactnames.pdf) (30.06.2017)
- Garrity G.M.: Report on the activities of the International Committee on Systematics of Prokaryotes. (2014)
- Girard G., van Wezel G.P. i wsp.: A novel taxonomic marker that discriminates between morphologically complex actinomycetes. *Open Biol.* **3**, 130073 (2013)
- Glaeser S.P., Kämpfer P.: Multilocus sequence analysis (MLSA) in prokaryotic taxonomy. *Syst. Appl. Microbiol.* **38**, 237–245 (2015)
- Gupta R.S.: Protein phylogenies and signature sequences: A reappraisal of evolutionary relationships among archaeobacteria, eubacteria, and eukaryotes. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **62**, 1435–1491 (1998)
- Jarosik G.P., Chandler R. i wsp.: Acquisition of Iron by *Gardnerella vaginalis*. *Infect. Immun.* **66**, 5041–5047 (1998)
- Klindworth A., Glöckner F.O. i wsp.: Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res.* **41**, 1–11 (2013)
- NamesforLife: NamesforLife technology, <https://www.namesforlife.com/search> (30.06.2017)
- Niestępski S., Harnisz M., Korzeniewska E., Osińska A., Dziuba B.: *Bacterioides* spp. – znaczenie kliniczne, lekooporność i metody jej oznaczania. *Post. Mikrobiol.* **56**, 67–76 (2017)
- Parker C.T., Tindall B.J., Garrity G.M.: International Code of Nomenclature of Prokaryotes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* DOI:10.1099/ijsem.0.000778 (2015)
- Piot P., Van Dyck E., Goodfellow M., Falkow S.: A Taxonomic Study of *Gardnerella vaginalis* (*Waemophilus vaginalis*) Gardner and Dukes 1955. *J. Gen. Microbiol.* **119**, 373–396 (1980)
- Watson J.D., Crick F.H.C.: Molecular structure of nucleic acids. *Nature*, **171**, 737–738 (1953)
- Wilhelm M.J., Dai H.L. i wsp.: Gram’s stain does not cross the bacterial cytoplasmic membrane. *ACS Chem. Biol.* **10**, 1711–1717 (2015)
- Woese C.: A new biology for a new century. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **68**, 173–186 (2004)

