

# Descrição de novas espécies de bactérias: o gênero *Mycobacterium* como exemplo\*

## The new bacterial species description: the genus *Mycobacterium* as an example

Enrico Tortoli

IRCCS Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, Italia

A descrição de uma nova espécie bacteriana é um caminho longo e oneroso; ainda assim, continua sendo uma importante aspiração para muitos microbiologistas.

A base do processo depende de uma abordagem polifásica<sup>1</sup>, combinando uma série de investigações fenotípicas e genotípicas, realizadas pelo proponente, para apoiar a diversidade do organismo a partir dos táxons mais estreitamente conhecidos. Embora existam regras mínimas para tais identificações, nem todas são seguidas; entretanto, a determinação da sequência do rRNA 16S é praticamente o único requisito que permanece obrigatório. O *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* é o periódico oficial de registro de novos procariontes.

Devido à ausência de uma posição explícita contra a descrição formal de uma nova espécie baseada na identificação de uma única linhagem, o número de tais casos aumenta constantemente. O conceito de espécie, para procariontes em particular, dificilmente é definido, mas pode ser considerado como um 'grupo'. A descrição de uma espécie, baseada em um único isolado, na verdade é apenas uma descrição desse isolado, praticamente sendo excluída a biodiversidade. Isso é indiretamente confirmado pela alta porcentagem desses táxons, relatada na literatura, sem qualquer isolamento posterior. Para a maioria das espécies, as cepas depositadas na *World Federation for Culture Collections* continuam sendo a única prova de sua existência. Foi calculado que, são necessárias 25 cepas para a descrição precisa de uma espécie, e o limite mais baixo tolerável é 10<sup>2</sup>, mas tais números raramente são alcançados. A espera para encontrar tantas cepas pode ser interminável e frustrante. Uma concessão razoável para a descrição confiável de uma nova espécie não pode ser inferior a dois, desde que cada um seja provado espacial e temporariamente independente.

Outro fator importante para propor uma nova espécie é a certeza de que ela não se sobrepõe a um táxon já aceito. O teste de Hibridização DNA-DNA

(DDH)<sup>3</sup> é referência para a circunscrição de espécies. Para verificar se duas cepas pertencem a espécies diferentes, a mistura de seus DNAs desnaturados é usada para reassociar moléculas híbridas (heteroduplex) em condições adequadas. O grau de similaridade é analisado comparando os resultados obtidos com os DNAs mistos àqueles com DNA puro (formando apenas homoduplex). O DDH fornece um limite numérico claro e objetivo: valores < 70% garantem a atribuição das duas cepas a espécies diferentes. O teste DDH é difícil e suscetível a erros<sup>4</sup>, portanto, limitando a implementação de poucos casos para a descrição de novas espécies. Atualmente, estão disponíveis algoritmos na bioinformática, validados por vários estudos, que podem ser usados para inferir o DDH a partir de dados genômicos; os mais conhecidos são a Identidade Média de Nucleotídeos (ANI)<sup>5</sup> e a *Genome to Genome Distance* (GGD)<sup>6,7</sup>. O ANI representa um meio de identidade entre as regiões genômicas homólogas compartilhadas por dois genomas. Duas cepas caracterizadas pelo ANI com valor < 95% pertencem a espécies diferentes, quando o valor é > 96%, elas são membros de uma única espécie; uma atribuição confiável não é possível para valores entre 95% e 96%. O algoritmo do GGD é o equivalente ao DDH *in silico* e produz valores diretamente conversíveis em DDH%, consequentemente sujeito ao limite de 70% para demarcação de espécies.

Em um estudo recente, investigou-se todo o genoma de 144 das 180 espécies incluídas no gênero *Mycobacterium*. Nas análises realizadas com ANI e GGD foram detectadas 10 espécies ilegítimas, e criadas: quatro subespécies de *M. intracellulare*; três de *M. farcinogenes* e de *M. abscessus*; e dois de *M. austroafricanum*, *M. marinum* e de *M. pyrenivorans* (Tabela 1).

A necessidade de dados genômicos reunidos tem dificultado, até o momento, a exploração de ANI e GGD na descrição de novas espécies. Nos últimos anos, no entanto, a disponibilidade de dados genômicos

\* Artigo de opinião escrito por Palestrante do II Encontro Científico Internacional do Instituto Evandro Chagas, com realização no período de 25 a 27 de outubro de 2017, em Ananindeua, Pará, Brasil. Todos os artigos dessa modalidade foram analisados pela Comissão Científica do Evento e, posteriormente, pelos Editores da RPAS.

### Correspondência / Correspondence:

Enrico Tortoli

San Raffaele Scientific Institute

San Michele Building, via Olgettina 60, 20132 – Milan, Italy – Phone #: +39 02 26435684

E-mail: tortoli.enrico@hsr.it

confiáveis tornou-se cada vez mais fácil e econômica e, a taxonomia moderna deve seu crescimento à importante contribuição da informação genômica. Portanto, a determinação de todo o genoma, de cada espécie recém-descrita, é um requisito primário. Se ainda não estiver disponível em repositório público, a sequência 16S rRNA, mais próxima em semelhança com a espécie proposta, deve ser determinada. O ANI ou do GGD mais intimamente relacionado ao genoma deve ser calculado para evitar o risco de duplicação de uma

espécie já existente. A disponibilidade de uma exaustiva caracterização genômica reduzirá a necessidade de caracterização detalhada das limitadas propriedades informativas, como características fenotípicas. A disponibilidade de genomas da maioria das espécies de *Mycobacterium* no GenBank poderia estabelecer, potencialmente, uma árvore baseada em genomas inteiros<sup>8</sup>, além das árvores filogenéticas tradicionais, baseadas em rRNA 16S ou em genes de manutenção concatenados.

**Tabela 1** – Espécies do gênero *Mycobacterium*\*

			ANI%	GGD <sup>†</sup>	
<i>M. conceptionense</i>	<b><i>M. farcinogenes</i></b>	<i>M. senegalense</i>	98.3–99.4	83–86	
<b><i>M. abscessus</i></b>	<i>M. bolletii</i>	<i>M. massiliense</i>	97.2–97.4	85–88	
<i>M. chimaera</i>	<b><i>M. intracellulare</i></b>	<i>M. paraintracellulare</i>	<i>M. yongonense</i>	97.6–98.7	77–90
<b><i>M. austroafricanum</i></b>	<i>M. vanbaalenii</i>		98.7	80	
<b><i>M. marinum</i></b>	<i>M. pseudoshottsii</i>		98.2	82	
<i>M. monacense</i>	<b><i>M. pyrenivorans</i></b>		97.5	84	

\* Em cada linha, o nome anterior, com base no ano de publicação, fica em negrito e passa a ser o nome da nova espécie. Os outros tornam-se nomes de subespécies e seguem o nome da nova espécie; <sup>†</sup> DDH% equivalente aos valores GGD.



## REFERÊNCIAS

- Vandamme P, Pot B, Gillis M, De Vos P, Kersters K, Swings J. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol Rev.* 1996 Jun;60(2):407-38.
- Sneath PHA. The maintenance of large numbers of strains of microorganisms, and the implications for culture collections. *FEMS Microbiol Lett.* 1977 Jun;1(6):333-4.
- Wayne LG, Brenner DJ, Colwell RR, Grimont PAD, Kandler O, Krichevsky MI, et al. Report of the Ad Hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *Int J Syst Bacteriol.* 1987 Oct;37(4):463-4.
- Rosselló-Mora R, Amann R. The species concept for prokaryotes. *FEMS Microbiol Rev.* 2001 Jan;25(1):39-67.
- Kim M, Oh HS, Park SC, Chun J. Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2014 Feb;64(Pt 2):346-51.
- Auch AF, von Jan M, Klenk HP, Goker M. Digital DNA-DNA hybridization for microbial species delineation by means of genome-to-genome sequence comparison. *Stand Genomic Sci.* 2010 Jan;2(1):117-34.
- Meier-Kolthoff JP, Auch AF, Klenk HP, Goker M. Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions. *BMC Bioinformatics.* 2013 Feb;14:60.
- Fedrizzi T, Meehan CJ, Grottola A, Giacobazzi E, Serpini GF, Tagliazucchi S, et al. Genomic characterization of nontuberculous mycobacteria. *Sci Rep.* 2017 Mar;7:45258.

Recebido em / Received: 20/9/2017  
Aceito em / Accepted: 11/10/2017

Se refere ao doi: 10.5123/S2176-62232017000400002, publicado originalmente em inglês.

**Traduzido por:** Patrícia Campelo Haick