

Artículo original

Uso de un sistema experto en ambiente web para facilitar la identificación de géneros de bacilos gramnegativos no fermentadores de la glucosa

Ivan Flores^{a,b,*}, Haydemar Núñez^a, Esmeralda Ramos^a,
Juana Vitelli-Flores^b y Vidal Rodríguez Lemoine^{b,c}

^aLaboratorio de Inteligencia Artificial, Centro ISYS, Facultad de Ciencias Universidad Central de Venezuela
^bCentro Venezolano de Colecciones de Microorganismos, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela,
^cAcademia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales
Caracas - Venezuela

Recibido 09 de septiembre de 2007; aceptado 11 de octubre de 2007

Resumen: La identificación de bacilos gramnegativos no fermentadores de la glucosa (BGNNF) es una tarea compleja y laboriosa que exige la participación de expertos. Para facilitar la toma de decisiones se desarrolló y puso a prueba un Sistema Experto (SE) con una base de conocimientos construida aplicando el algoritmo C4.5 modificado, capaz de inducir un árbol de decisión (reglas primarias) para un conjunto de géneros, y la diferenciación entre éstos (reglas complementarias) para la identificación de géneros específicos. La incertidumbre del sistema es tratada mediante el esquema de factores de certeza. En este trabajo se sometió a prueba el SE con una selección de cultivos de BGNNF de diferente origen, identificados y preservados en el Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos (CVCM): géneros *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Brevundimonas*, *Burkholderia*, *Chryseobacterium*, *Comamonas*, *Delftia*, *Moraxella*, *Myroides*, *Ochrobactrum*, *Oligella*, *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Sphingobacterium* y *Stenotrophomonas*. Mediante la aplicación de 11 pruebas (características primarias) se obtuvo una aproximación entre varios de los géneros posibles. Las pruebas complementarias sugeridas (entre 1 y 9), permitieron una mayor aproximación al género posible. Los resultados muestran una coincidencia del 95.8% con los reportados por el CVCM. En base a estos resultados se estudia la ampliación de la base conocimiento para la identificación de especies de BGNNF, y de otros grupos de bacterias.

Palabras clave: sistema experto, web, identificación BGNNF

Use of a web expert system to facilitate the identification of glucose non fermentative gram-negative bacillus

Abstract: The identification of glucose non fermentative gram-negative bacilli (NFGNB) is a complex and laborious task. In order to facilitate genera identification an Expert System (ES) was developed applying a modified C4.5 algorithm able to induce a decision tree (primary rules) for a set of genera, and the differentiation between these (complementary rules) for the identification of specific genera. The uncertainty of the system is treated by means of a certainty factors scheme. In this work the ES was put on approval using a selection of cultures of NFGNB of different origin, identified and preserved in the Venezuelan Center for Microbial Collections (CVCM): genera *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Brevundimonas*, *Burkholderia*, *Chryseobacterium*, *Comamonas*, *Delftia*, *Moraxella*, *Myroides*, *Ochrobactrum*, *Oligella*, *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Sphingobacterium* y *Stenotrophomonas*. By means of the application of 11 tests (primary characteristics) an approach between several of possible genera was obtained. The suggested complementary testes (between 1 to 9) allowed great approach to the possible genera. The results show a coincidence of the 95.8% with the reported ones by the CVCM. An extent of the ES for the identification of other genera is under study.

Keywords: web expert system, GNNFB identification

* Correspondencia:
E-mail: ivanf@cantv.net

Introducción

La identificación de bacilos gramnegativos no fermentadores de la glucosa (BGNNF) es de gran importancia clínica debido a su alta incidencia (12- 16%) como agentes causantes de infecciones nosocomiales [1]. Adicionalmente, son de interés económico porque están presentes en una diversidad de ambientes naturales y contribuyen al mantenimiento del equilibrio biológico de la tierra a través de procesos muy complejos de biotransformación que pueden ser explotados en beneficio del hombre [2].

La identificación de BGNNF es muy exigente y laboriosa, ya que demanda la realización de un número considerable de pruebas de laboratorio referidas en tablas disponibles para la consulta en manuales elaborados con base en la recopilación de los resultados prácticos obtenidos de las experiencias acumuladas en diferentes centros de estudio a nivel mundial [3,4]. Los resultados de estos ensayos son expresados como porcentajes de reacciones positivas (100%) o negativas (0%) de cada una de las pruebas realizadas. En muchos casos se observa ambigüedad (valores comprendidos entre 10% y 90%) en los resultados presentados lo cual dificulta su interpretación. Por otra parte, muchas de las pruebas sugeridas en los manuales no siempre están disponibles, o no son de utilidad para la identificación de algunos de los géneros del grupo, generando incertidumbre al momento de seleccionar y establecer la secuencia en la que deben realizarse las pruebas sugeridas en las tablas de identificación. Debido a la variedad de ensayos bioquímicos requeridos y a la complejidad que representa el análisis de las propiedades comunes a varios géneros, el proceso de identificación resulta muy laborioso, dificultándose aún más en aquellos centros hospitalarios donde es necesario procesar un elevado número de muestras en un tiempo muy corto, y por lo general no se cuenta con personal suficientemente experimentado en la identificación de este complejo grupo de microorganismos. Por las razones antes señaladas, muchos laboratorios clínicos se limitan a reportar sus resultados refiriéndolos como BGNNF no identificados.

Actualmente en el mercado se ofrecen sofisticados sistemas de identificación basados en el uso de galerías (bandejas de prueba que contienen sustratos para evidenciar reacciones bioquímicas enzimáticas o de asimilación) compuestas por 10, 20 hasta 32 pruebas, cuya lectura puede ser visualizada directamente o en lectores automatizados. Los resultados son interpretados mediante el uso de un computador que ejecuta un programa capaz de procesar la información suministrada mediante algoritmos que comparan los resultados con la información contenida en una base de datos interna. Con frecuencia el resultado es dudoso, suministrando varias posibilidades en la selección del taxón con mayor proximidad relativa al perfil de taxones (ID%) contenidos en la base de datos del sistema. Pero, la mayor limitación para el uso de los sistemas automatizados es el alto costo de los equipos y de su mantenimiento, así como la dependencia tecnológica que supone la adquisición de las galerías de identificación producidas

de acuerdo a las especificaciones de las casas comerciales [5].

Tomando en consideración el conjunto de factores que dificultan la identificación de rutina de BGNNF en laboratorios de centros hospitalarios con escasa dotación instrumental, limitados recursos económicos y de la variable tiempo para la evacuación de resultados confiables, nos propusimos desarrollar y poner en práctica el uso de un Sistema Experto (SE) en ambiente web que pudiera servir como apoyo para facilitar la identificación de los géneros que forman parte de este complejo grupo de microorganismos. El SE empleado propone la aplicación de un conjunto reducido de pruebas básicas de manejo rutinario que están disponibles en la mayoría de los laboratorios de microbiología del país.

En este trabajo se evalúa la aplicación de un SE desarrollado en el Laboratorio de Inteligencia Artificial de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela empleando una selección de BGNNF, preservados en el Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos.

Materiales y Métodos

Microorganismos

Los microorganismos empleados en este trabajo provienen de aislados de origen hospitalario y ambiental preservados en el Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos. Los géneros representativos de BGNNF seleccionados para este estudio fueron: *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Brevundimonas*, *Burkholderia*, *Chryseobacterium*, *Comamonas*, *Delftia*, *Moraxella*, *Myroides*, *Ochrobactrum*, *Oligella*, *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Sphingobacterium* y *Stenotrophomonas*.

Identificación fenotípica

Para la identificación de los géneros estudiados se empleó el sistema ATB/Plus (BioMérieux) con las galerías ID32 GN y API 20NE, complementado con otras pruebas para la determinación de propiedades morfológicas y bioquímicas específicas [4].

Sistema Experto en ambiente web

Para facilitar la toma de decisiones durante el proceso de elección de los ensayos mínimos requeridos para la identificación selectiva de BGNNF, y establecer la secuencia de pruebas complementarias que permiten la diferenciación entre los géneros que forman este complejo grupo de microorganismos, se hizo uso de un Sistema Experto (SE) en ambiente web desarrollado en el Laboratorio de Inteligencia Artificial de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela [8]. Para el desarrollo del SE, fue necesario recopilar la información sobre la actividad práctica de expertos en la identificación de BGNNF del Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos y la revisión exhaustiva de publicaciones realizadas sobre el

tema. La base de conocimiento fue construida aplicando el algoritmo de aprendizaje C4.5 [7] a una tabla de datos que resumía las pruebas comunes para un conjunto de géneros. Este algoritmo induce un árbol de decisión, que permite la generación de las reglas primarias. El algoritmo utiliza una medida denominada ganancia de información la cual fue modificada para este contexto. Además, con el apoyo de los expertos se construyeron una serie de árboles de decisión que permitieron generar reglas complementarias para la determinación de los ensayos adicionales, que podrían aplicarse para diferenciar géneros específicos dentro de un grupo. La incertidumbre del sistema es tratada mediante el esquema de factores de certeza [6].

El SE está disponible en el Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos, Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela. cvcm.ciens.ucv.ve.

Identificación por el Sistema Experto para BGNNF

En todos los microorganismos estudiados se determinaron las características denominadas pruebas primarias (Tabla 1). Los resultados de estas pruebas se incorporaron manualmente al SE para su procesamiento de acuerdo a la base de conocimiento disponible en el sistema. Como resultado de este análisis el SE proporciona una primera aproximación sobre la identificación del género posible.

Tabla 1. Pruebas primarias para identificación de BGNNF.

Pruebas seleccionadas	Abreviaciones en SE
Morfología (Gram)	MOR
Crecimiento en agar MacConkey	MACK
Motilidad	MOT
Crecimiento a 42C	42C
Oxidasa	OX
OF Glucosa (vía oxidativa)	GLU
Producción de indol	IND
Coloración de la colonia o pigmento (marrón, verde, amarillo, rosado)	PVR, BRWN, YELW, PINK

Para cada uno de los casos bajo estudio el SE sugiere la aplicación selectiva de algunas de las pruebas complementarias listadas en la Tabla 2. El número y secuencia de las pruebas sugeridas por el SE varía de acuerdo a las características intrínsecas de cada uno de los microorganismos a identificar.

Resultados y discusión

Para la aplicación del SE propuesto se parte de cultivos de microorganismos caracterizados en un paso previo como gramnegativos (coloración de Gram) seguido de la demostración de la incapacidad fermentativa de la glucosa en medio de Kligler (KIA). A partir de este punto se aplica un conjunto de pruebas para la determinación de propiedades morfológicas y bioquímicas (listadas en la Tabla 1) que conducen a una primera diferencia entre los grupos de géneros conocidos como BGNNF. Los estudios sobre morfología celular (MOR) permiten al SE la discriminación entre organismos cocoides (*Acinetobacter*, *Moraxella*, *Psychrobacter*, *Neisseria*) de otras formas morfológicas. La

variabilidad en el crecimiento (MACK) y (42C), la motilidad (MOT) y la reacción de la oxidasa (OX) contribuyen al establecimiento de grupos dentro del SE. La utilización de la glucosa por vía oxidativa (GLU) discrimina entre géneros sacarolíticos y asacarolíticos. La prueba de indol (IND) permite la discriminación de grupos tales como *Chryseobacterium*, *Empedobacter*, *Weeksella* y los del grupo denominado CDC. Finalmente la coloración de las colonias y la producción de pigmento (PVR, BRWN, YELW, PINK) es una característica a considerar para discriminar entre géneros como *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Brevundimonas*, *Burkholderia*, *Agrobacterium*, *Chryseobacterium*.

Tabla 2. Pruebas complementarias para identificación de BGNNF.

Pruebas seleccionadas	Abreviaciones en SE
Resistencia a polimixina	PMX ^R
Producción de sulfuro de hidrógeno (H ₂ S)	H ₂ S
Reducción de nitratos	NIT
Hidrólisis de gelatina	GEL
Hidrólisis de esculina	ESC
Hidrólisis de urea	URE
Hidrólisis de ácido desoxiribonucleico	DNA
Hidrólisis de almidón	ALM
Utilización de citrato (Simmons)	CIT
Arginina dehidrolasa	ADH
Ornitina descarboxilasa	ODC
Lisina descarboxilasa	LSD
Crecimiento en agar Cetrimide	CTRM
Crecimiento en agar NaCl al 6%	NaCl
Fenilalanina deaminasa	FNDL
Catalasa	CAT
OFBM: (ácido vía oxidativa)	
Fructuosa	FRU
Xilosa	XYL
Lactosa	LAC
Sacarosa	SAC
Maltosa	MAL
Manitol	MAN
Adonitol	ADO

Pruebas empleadas de acuerdo a la descripción establecida por KC Chapin y T Lauderdale *Reagents, stains and media: bacteriology*. En: Murray PR., et al. *Manual of Clinical Microbiology*, ASM Press, 8^a ed. Washington D.C. 2003.

Los resultados de la aplicación del conjunto de pruebas primarias referidas en la Tabla 1 fueron suministrados manualmente al SE a los fines de su procesamiento para obtener la evacuación de propuestas individualizadas en las que se establece el número mínimo y la secuencia de pruebas complementarias requeridas en cada caso para la identificación de los géneros contenidos en la base de conocimiento del SE. La aplicación de las pruebas complementarias referidas en la Tabla 2 permitió la confirmación directa de alguno de los géneros sugeridos por las pruebas primarias, o la discriminación entre aquellos adicionales posibles. La Tabla 3 resume los resultados de la identificación de 24 cepas pertenecientes a la colección de BGNNF preservada en el Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos. Se indica en cada caso el número de registro (CVCM) de incorporación al banco de datos y en el catálogo electrónico de la colección. Se comparan los resultados obtenidos mediante la aplicación del SE con

aquellos obtenidos mediante el uso de las galerías API-ID32GN y API-20N del sistema automatizado ATB-plus.

Para el SE se indica en cada caso el número total de pruebas primarias y complementarias sugeridas por el sistema para la determinación del género. La columna que señala la posibilidad en % en el SE se refiere al grado de posibilidad existente entre los géneros sugeridos expresado en porcentaje, mientras que en el sistema ATB plus se estima la proximidad relativa al perfil de los diferentes taxones (ID%) contenidos en la base de datos de ese sistema.

A manera de ilustración se examinan en detalle 2 de las 24 cepas estudiadas (Tabla 3). Como ejemplo se seleccionaron las cepas CVCM 1288 y CVCM 160. Para el caso de la cepa CVCM 1288 la sola aplicación de las pruebas primarias (Tabla 1) permitió al SE sugerir un listado formado por los siguientes géneros: *Burkholderia*, *Pseudomonas* y *Stenotrophomonas*. Para definir el género con mayor posibilidad el SE sugirió, para este caso particular, la realización de sólo 2 de las 24 pruebas complementarias posibles descritas en la Tabla 2. Esto es, resistencia a polimixina (PMX^R) y la lisina descarboxilasa (LSD). A partir de estos resultados el SE determina con una posibilidad de 95,68% que la cepa CVCM 1288 se corresponde con la que posee las propiedades descritas para el género *Stenotrophomonas*. Estos resultados coinciden con los proporcionados por el sistema automatizado ATB/Plus empleando la galería (API-ID32GN) para la misma cepa con 99,90% para *Stenotrophomonas* (Tabla 3), y con los resultados obtenidos previamente en los laboratorios del CVCM durante la identificación de las cepas de la colección de BGNNF.

En el caso de la cepa CVCM 1600 el resultado de las pruebas primarias indicó como posibles los siguientes géneros *Alcaligenes*, *Shewanella*, *Delftia*, *Brevundimonas*, *Comamonas*, *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Rashtonia* y *Burkholderia*. Para definir el género con mayor posibilidad el SE sugirió un total de 6 pruebas complementarias: resistencia a polimixina (PMX^R), producción de sulfuro de hidrógeno (H₂S), reducción de nitratos (NIT), utilización de citrato (CIT), manitol (MAN) y la hidrólisis de ácido desoxirribonucleico (DNA). De acuerdo al análisis de los resultados de estas pruebas el SE señala al género *Delftia*, con la mayor posibilidad (81,08%) seguido de *Achromobacter* (73,81), *Pseudomonas* (58,46%) y *Bordetella* (57,67%). De nuevo, estos resultados coinciden con el género de mayor posibilidad reportado por el sistema ATBplus empleando la galería (API-ID32GN), así como con los registrados en la colección de BGNNF del CVCM.

En la Tabla 3 se observa que en la mayoría de las cepas estudiadas se mantiene la misma coincidencia, a excepción de CVCM 1253 en la cual hay discrepancia entre el SE y las dos galerías API entre sí. Según la selección de géneros indicados por las pruebas primarias, el número mínimo de pruebas complementarias que debería aplicarse varía entre 1 y un máximo de 9. En el sistema ATB/Plus, así como en otros sistemas automatizados, se emplea en forma simultánea un número alto (20 y 32) de pruebas bioquímicas, enzimáticas o de crecimiento, muchas de las cuales no son un requisito de aplicación indispensable para la identifica-

ción de los diferentes géneros de BGNNF. El SE propuesto propone la realización de un número considerablemente menor de pruebas, ya que el sistema selecciona sólo aquellas que son estrictamente necesarias para la identificación de un determinado género de BGNNF.

Resultados parciales de este trabajo fueron presentados en el XVIII Congreso Latinoamericano de Microbiología. Pucón-Chile. Octubre 2006 [9].

El SE empleado es una guía práctica y sencilla que puede ser utilizado con un alto grado de acierto en la identificación de BGNNF a nivel de género. Facilita la escogencia de las pruebas más adecuadas entre las que son de uso rutinario en la mayoría de los laboratorios de microbiología. Los fundamentos teóricos del SE pueden ser aplicados para construir bases de conocimiento que generen árboles de decisión aplicables a la identificación de especie de BGNNF, así como de otros grupos de bacterias.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado con financiamiento parcial de los proyectos FONACIT Lab97000677, y CDCH-UISI 03-00-6162-2005. Se agradece la colaboración del personal técnico y de investigación del Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos (CVCM).

Referencias

- Castillo Machado E. Manual identificación de los bacilos gramnegativos no fermentadores de la glucosa. Coordinación Regional de Laboratorios del Estado Zulia, Laboratorio de Referencias Bacteriológicas para el control sanitario de alimentos y vigilancia epidemiológica (LARBCAVE), octubre 2001.
- Harovath R. Microbial co-metabolism and the degradation of organic compounds in nature. *Bacteriol Rev* 1972; 36:146-55.
- Holt JG., Kreyg NR, Sneath PHA., Staley JT, and Williams ST. Bergeys's Manual of Determinative Bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins Co., Baltimore, USA 2000
- Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, and Tenover FC. Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. ASM Press, Washington D.C. 2003, p719-79.
- O'Hara CM. Manual and automated instrumentation for identification of Enterobacteriaceae and other aerobic gram-negative bacilli. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18:147-62.
- Shortliffe EH and Buchanan BG. A model of inexact reasoning in medicine. *Mathem. Biosci* 1975; 23(3/4) 351-79.
- Quinlan J.R. C4.5: Programs for machine learning. Moran Kaufman, San Mateo CA., 1992.
- Flores Vitelli I. Sistema basado en conocimiento en ambiente web para el apoyo a la identificación de bacilos gram negativos no fermentadores de la glucosa. Tesis de Licenciatura en Computación. Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Julio 2005.
- Flores I, Núñez H, Ramos E, Vitelli-Flores J y Rodríguez-Lemoine V. Sistema experto en ambiente web como soporte para la identificación de bacilos gram-negativos no fermentadores de la glucosa. XVIII Congreso Latinoamericano de Microbiología. Pucón-Chile Octubre 2006.

Tabla 3. Comparación de los resultados de la aplicación de las pruebas complementarias sugeridas por el SE y el sistema ATBplus para la identificación de BGNNF.

CVC Catálogo	CVC género asignado	Sistema Experto		Resultados ATB-Plus				
		Total pruebas	Géneros sugeridos	Posibilidad en %	API-ID32GN	ID %	API-20N	ID %
1081	<i>Ochrobactrum</i>	20	<i>Ochrobactrum</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Achromobacter</i>	76,96 73,38 65,08	<i>Ochrobactrum</i> <i>Pseudomonas</i>	51,00 4,50	<i>Ochrobactrum</i> <i>Pseudomonas</i>	99,90 0,10
1080	<i>Sphingobacterium</i>	12	<i>Sphingobacterium</i>	93,45	<i>Sphingobacterium</i> <i>Sphingomonas</i>	51,00 15,40		
1086	<i>Stenotrophomonas</i>	13	<i>Stenotrophomonas</i>	95,32	<i>Stenotrophomonas</i>	99,50	<i>Stenotrophomonas</i>	99,90
880	<i>Alcaligenes</i>	17	<i>Alcaligenes</i> <i>Ralstonia</i> <i>Bordetella</i> <i>Pseudomonas</i>	93,44 80,00 68,75 52,06			<i>Alcaligenes</i> CDC	99,70 0,20
43	<i>Pseudomonas</i>	14	<i>Pseudomonas</i>	93,92	<i>Pseudomonas</i> <i>Ralstonia</i>	99,90 0,20		
532	<i>Brevundimonas</i>	13	<i>Brevundimonas</i> <i>Ralstonia</i>	97,04 44,56	<i>Brevundimonas</i>	97,50		
1186	<i>Brevundimonas</i>	17	<i>Brevundimonas</i> <i>Bordetella</i> <i>Ralstonia</i> <i>Pseudomonas</i>	77,59 66,08 46,18 24,31	<i>Brevundimonas</i>	98,60	<i>Moraxella</i> <i>Comamonas</i> <i>Pseudomonas</i>	94,30 1,40 1,40
1223	<i>Pseudomonas</i>	12	<i>Pseudomonas</i> <i>Pandoraea</i> <i>Brevundimonas</i>	100,00 100,00 100,00	<i>Pseudomonas</i> <i>Acinetobacter</i> <i>Ralstonia</i>	89,00 4,00 0,10	<i>Pseudomonas</i>	73,00
1225	<i>Acinetobacter</i>	14	<i>Acinetobacter</i>	95,21	<i>Acinetobacter</i> <i>Ralstonia</i>	99,90 0,10		
1253	<i>Pseudomonas</i>	17	<i>Comamonas</i> <i>Bordetella</i> <i>Achromobacter</i> <i>Pseudomonas</i>	63,96 57,67 56,25 52,04	<i>Acinetobacter</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Alcaligenes</i>	94,00 3,00 2,60	<i>Pseudomonas</i> <i>Comamonas</i>	88,00 88,00
1286	<i>Myroides</i>	12	<i>Myroides</i>	91,36	<i>Myroides</i> <i>Moraxella</i> <i>Brevundimonas</i>	90,00 9,90 0,10	<i>Myroides</i> <i>Moraxella</i> <i>Brevundimonas</i>	90,00 9,90 0,10
1287	<i>Burkholderia</i>	12	<i>Burkholderia</i>	92,46	<i>Burkholderia</i> <i>Pseudomonas</i>	99,90 0,10	<i>Burkholderia</i> <i>Pseudomonas</i>	99,90 0,10
1288	<i>Stenotrophomonas</i>	13	<i>Stenotrophomonas</i>	95,68	<i>Stenotrophomonas</i>	99,90		
1289	<i>Achromobacter</i>	20	<i>Achromobacter</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Acidovorax</i>	75,58 70,61 44,44	<i>Achromobacter</i> <i>Pseudomonas</i>	99,30 0,50		
1291	<i>Chryseobacterium</i>	13	<i>Chryseobacterium</i>	96,94	<i>Chryseobacterium</i> <i>Empedobacter</i>	99,90 0,10	<i>Chryseobacterium</i>	PI
1433	<i>Achromobacter</i>	20	<i>Achromobacter</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Acidovorax</i>	75,58 70,61 44,42	<i>Achromobacter</i> <i>Pseudomonas</i>	90,00 0,90	<i>Achromobacter</i> <i>Ralstonia</i>	94,60 3,00
1544	<i>Pseudomonas</i>	14	<i>Pseudomonas</i>	93,92	<i>Pseudomonas</i>	99,00	<i>Pseudomonas</i> <i>Burkholderia</i>	95,00 4,40
1566	<i>Acinetobacter</i>	14	<i>Acinetobacter</i>	95,21	<i>Acinetobacter</i>	99,90		
1600	<i>Delftia</i>	17	<i>Delftia</i> <i>Achromobacter</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Bordetella</i>	81,08 73,81 58,46 57,67	<i>Delftia</i> <i>Comamonas</i>	99,90 0,10		
763	<i>Shewanella</i>	17	<i>Shewanella</i> <i>Bordetella</i> <i>Achromobacter</i>	96,81 57,67 42,39	<i>Shewanella</i> <i>Stenotrophomonas</i>	99,9 0,10	<i>Shewanella</i> <i>Ochrobactrum</i>	99,70 0,20
849	<i>Oligella</i>	14	<i>Oligella</i> <i>Psychrobacter</i>	100,00 100,00	<i>Oligella</i> <i>Pseudomonas</i>	99,4 0,50		
1087	<i>Moraxella</i>	17	<i>Moraxella</i> <i>Psychrobacter</i> <i>Oligella</i>	76,32 75,73 0,00	<i>Moraxella</i> <i>Pseudomonas</i>	94,2 5,40	<i>Moraxella</i> <i>Psychrobacter</i> <i>Bergeyella</i>	38,70 29,40 19,70
348	<i>Comamonas</i>	17	<i>Comamonas</i> <i>Bordetella</i> <i>Achromobacter</i> <i>Pseudomonas</i>	84,96 57,10 48,03 24,32	<i>Comamonas</i> <i>Acinetobacter</i>	99,9 0,10		
857	<i>Pseudomonas</i>	20	<i>Pseudomonas</i> <i>Achromobacter</i> <i>Acidovorax</i> <i>Pandoraea</i>	63,60 53,91 44,44 20,79	<i>Pseudomonas</i>	88,00	<i>Pseudomonas</i> <i>Ralstonia</i>	44,00 24,90