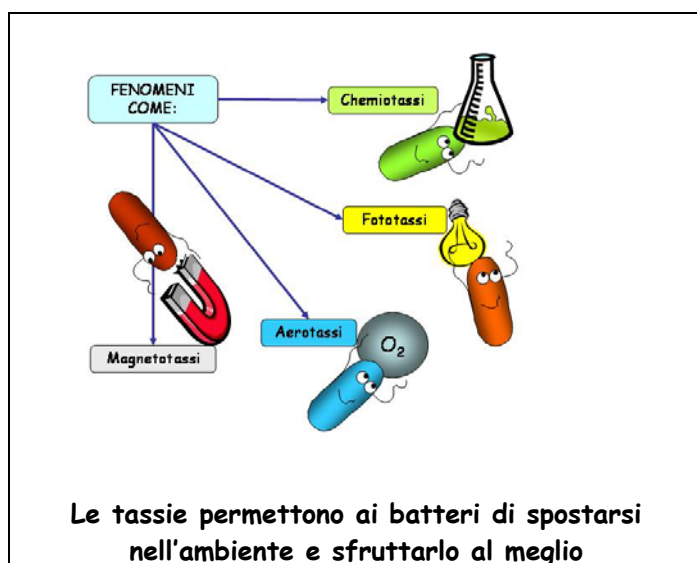


CONDIZIONI AMBIENTALI E MOVIMENTO NELL'AMBIENTE

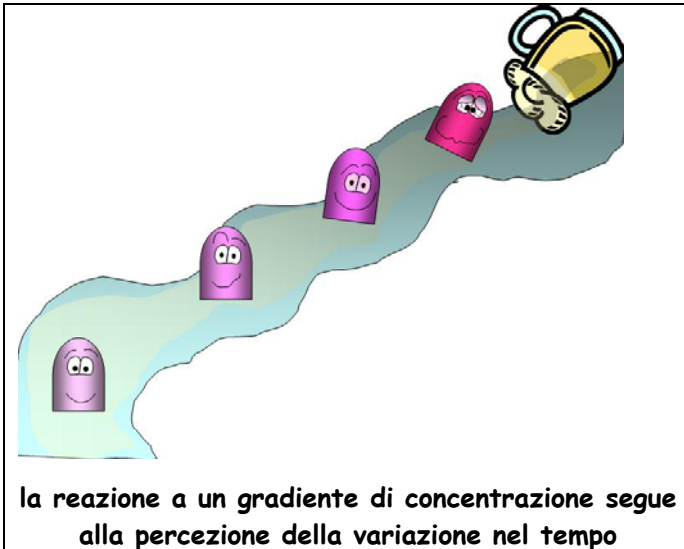
Per sfruttare al meglio le possibilità del proprio ambiente, i microrganismi devono avvertirne le condizioni momento per momento e reagire di conseguenza attraverso i diversi sistemi di regolazione. Le risposte che hanno il proprio effetto sulla direzione del nuoto vengono definite "tassie".

Fenomeni come chemiotassi, fototassi, aerotassi e magnetotassi, permettono al microrganismo



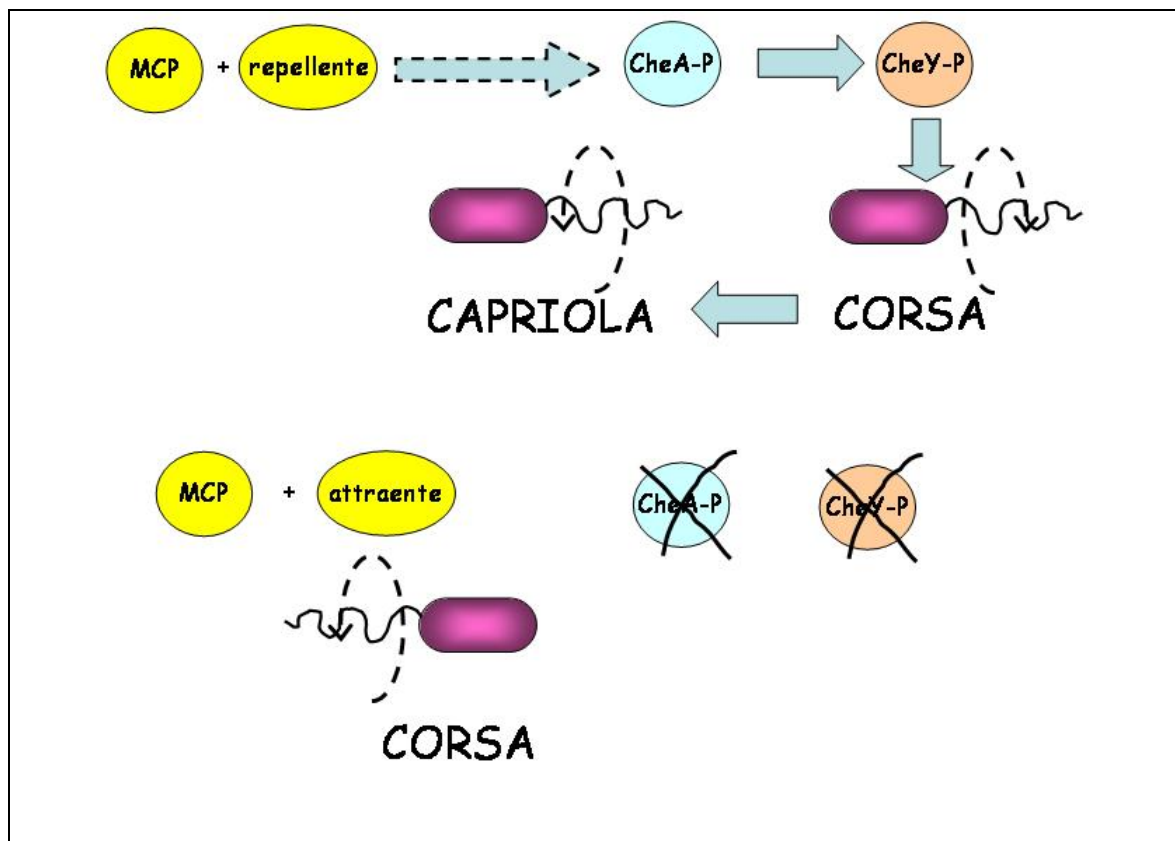
di modificare il proprio moto in risposta a modificazioni di vario tipo dell'ambiente, sfruttandole a proprio vantaggio, e cercando le condizioni ottimali. La grande maggioranza delle specie batteriche affronta di continuo numerosi cambiamenti nell'ambiente circostante; deve quindi poter avvertire una vasta gamma di segnali ambientali, come modificazioni chimiche, differenze di intensità o di lunghezza

d'onda della luce, variazioni nella tensione di ossigeno o nella temperatura. I microrganismi rispondono a questi cambiamenti modulando l'espressione di alcuni geni, o passando a forme di quiescenza (meno vulnerabili) o nuotando verso un posto migliore. Un batterio che si muove grazie a flagelli può allontanarsi di soli pochi mm, che sono però sufficienti a situarsi in condizioni più favorevoli alla moltiplicazione o per allontanarsi da regioni con alti livelli di sostanze tossiche, forse prodotte da altre specie batteriche. Il corredo genetico necessario alla sintesi di un flagello può rappresentare anche fino ad un quarto di un cromosoma batterico e l'energia richiesta per produrre e far funzionare i flagelli è notevole, specialmente in condizioni di crescita limitanti; è molto probabile quindi che la mobilità garantisca, alle specie che ne sono dotate, un vantaggio selettivo. La maggior parte delle specie che vivono abitualmente in ambienti naturali caratterizzati da una scarsa disponibilità di nutrienti, infatti, è mobile.



La capacità dei batteri di muoversi lungo un gradiente è limitata dalle loro dimensioni e dalla natura dell'ambiente che li circonda. La maggior parte dei microrganismi ha dimensioni di circa 1-2 μm : è quindi difficile che una cellula batterica possa sentire un gradiente lungo la propria lunghezza. Di conseguenza un batterio deve saggiare nel tempo le condizioni dell'ambiente in cui vive, confrontare il

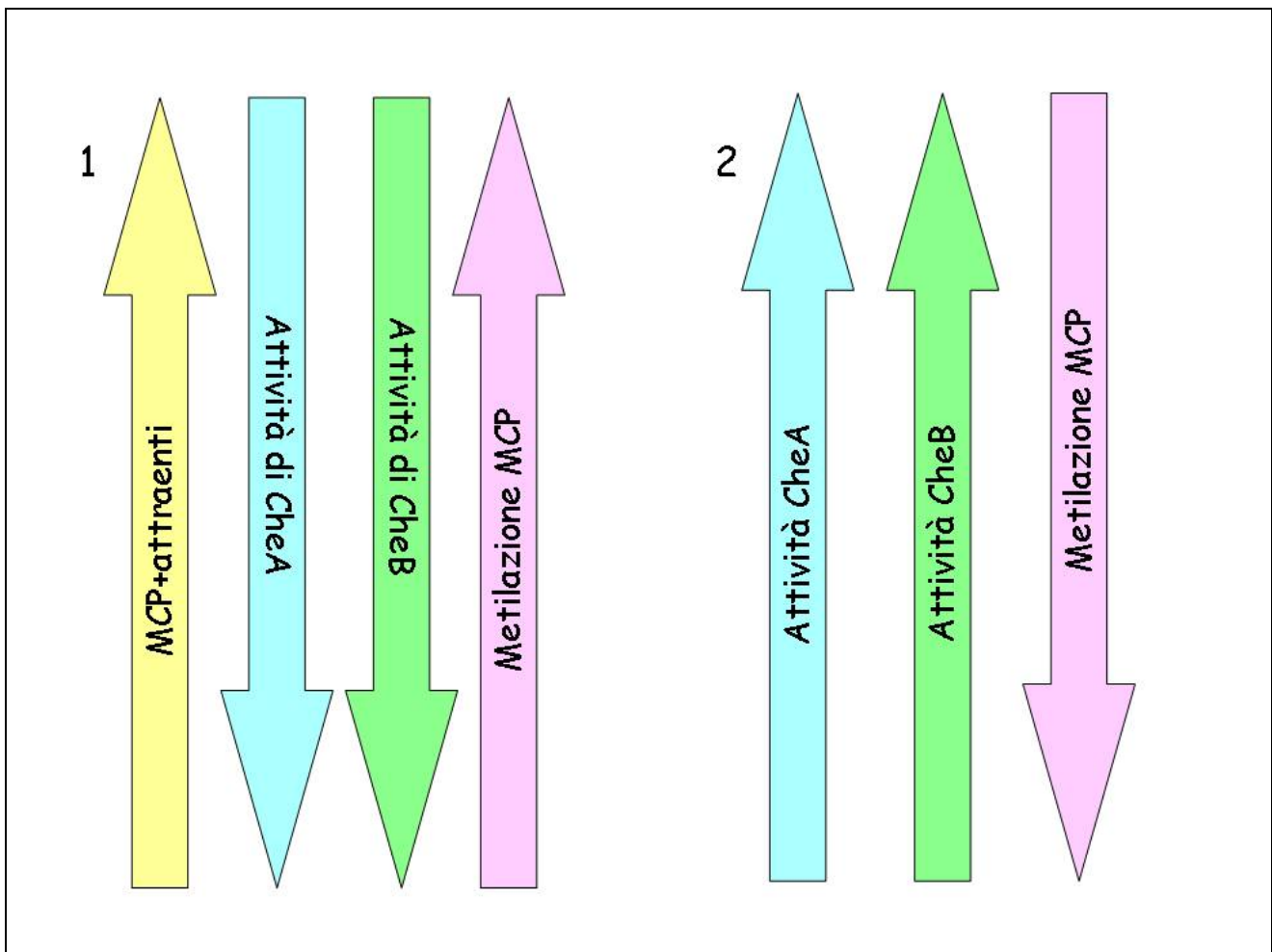
dato "adesso" con il dato "pochi secondi fa" e rispondere alla variazione.



Cellule non stimulate nuotano in maniera casuale, cambiando direzione ogni pochi secondi; la percezione di una variazione influenza il meccanismo del nuoto: il senso (positivo o negativo) della variazione determina il tipo di risposta (avvicinamento attraverso l'allungamento delle fasi "corsa" o allontanamento, attraverso l'aumento della frequenza delle fasi "capriola").

La variazione di concentrazione di una molecola è percepita da sensori proteine chemio-tattiche metilaccettrici (MCP) formate da una porzione (dominio) esterna, nel periplasma, e

da un dominio interno nel citoplasma. Il dominio periplasmico è responsabile del legame (diretto o indiretto) alla sostanza attraente o repellente; il dominio citoplasmatico trasmette il segnale ad altre proteine. Se una MCP lega un repellente, provoca la fosforilazione della chinasi sensore "CheA" che fosforila CheY; CheY-P si lega al flagello facendolo ruotare in senso orario (aumento delle capriole, repulsione). Se invece l'MCP lega un attraente, CheA e CheY restano defosforilate, il flagello ruota in senso antiorario e la cellula allunga le fasi di



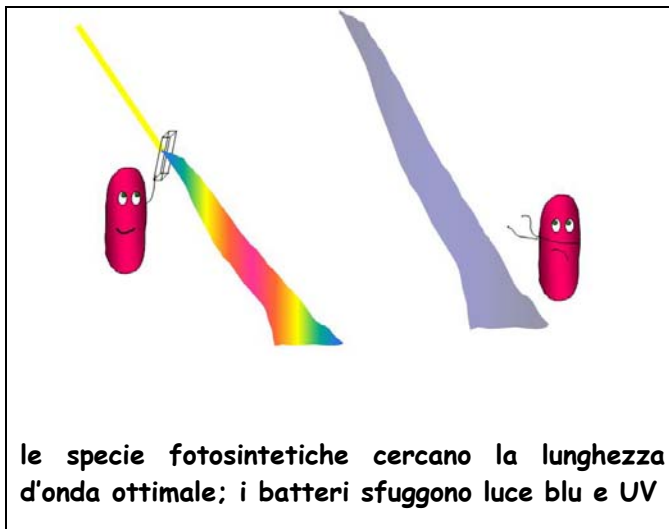
corsa (attrazione). La reattività delle MCP è garantita dalla continua metilazione e demetilazione da parte di proteine specifiche, con velocità variabili che dipendono dalle condizioni ambientali. In particolare, la proteina CheR metila le MCP con un ritmo lento e costante, mentre CheB le demetila, con un ritmo variabile, che dipende dal proprio stato di fosforilazione. Lo stato di fosforilazione di CheB, a sua volta, dipende da "CheA" : se le MCP legano attraenti, CheA (e di conseguenza CheB) non si fosforilano e le MCP arrivano a essere completamente metilate grazie all'azione costante e incontrastata di CheR. Quando le MCP sono completamente metilate, tuttavia, cessano di legare attraenti. A questo punto CheA-P sale, tornando a livelli intermedi e, di conseguenza, sale anche CheB-P, che contrasta l'azione

di Che-R. La risposta quindi cessa poco dopo essersi innescata e riprende solo se lo stimolo attrattivo è ancora presente.

FOTOTASSI

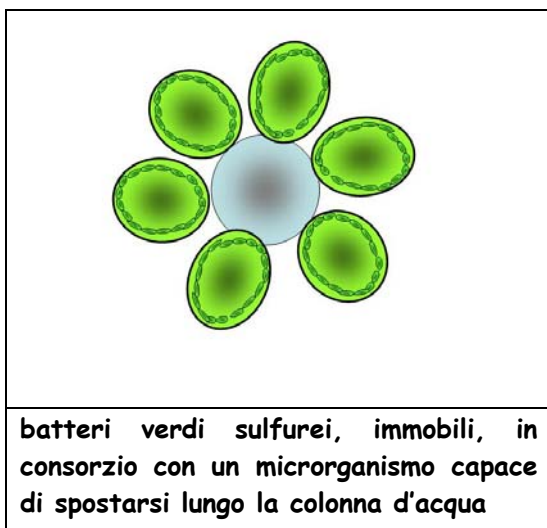
La luce è uno degli stimoli che variano maggiormente per molte specie batteriche. Le radiazioni luminose nel blu o nell'ultravioletto sono dannose per la maggior parte degli organismi viventi, mentre altre lunghezze d'onda, che possono essere assorbite dai fotopigmenti, sono essenziali per la crescita e per il metabolismo delle specie fotosintetiche.

La luce ultravioletta può provocare mutazioni, la luce blu invece può causare la rapida morte



della cellula particolarmente in presenza di ossigeno perché provoca la formazione di singoletti o ioni superossido, estremamente dannosi per il materiale cellulare. I batteri devono perciò allontanarsi dalla luce blu e limitare quanto più possibile la propria esposizione; molte specie batteriche producono anche pigmenti carotenoidi per bloccare i singoletti di ossigeno.

Un meccanismo di fototassi negativa nei confronti della luce blu, è stato descritto e analizzato in E. coli che, se esposto a lampi di luce blu, entra in una fase di capriole. Questa risposta è mediata dalla foto-ossidazione dei precursori porfirinici della molecola dell'eme. Le specie che crescono in modo fotosintetico, invece, hanno l'esigenza di cercare le zone in cui la lunghezza d'onda della luce è quella più facilmente utilizzabile dai propri pigmenti, attraverso



fenomeni di fototassi positiva; nella maggior parte dei casi le specie fotosintetiche sono mobili o possiedono vescicole di galleggiamento. Sono stati descritte associazioni particolari (consorzi) tra cellule fotosintetiche immobili (batteri verdi sulfurei) e un microrganismo ancora non identificato, che probabilmente assicura al consorzio gli spostamenti necessari per collocarsi in corrispondenza della lunghezza d'onda ottimale della

luce.

MAGNETOTASSI

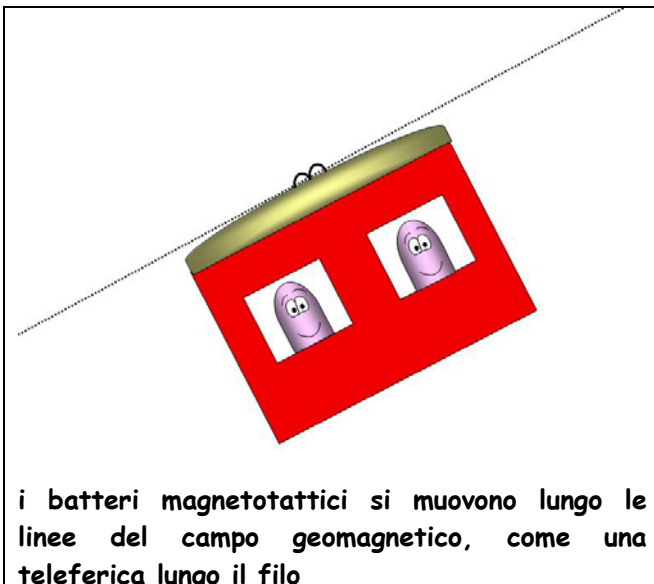
Scoperta circa 20 anni fa, è caratteristica di batteri che nuotano attratti o respinti dai poli di un magnete. La maggior parte dei batteri che possiedono la magnetotassi, usualmente isolati da acque marine o di estuario, appartiene a specie Gram-negative mobili, con una forte aerotassi negativa. La magnetotassi è condivisa da batteri molto diversi (cocchi, vibrio, spirilli, bastoncelli e catene). Sembra probabile che sia un fenomeno diffuso piuttosto che un tratto proprio di un gruppo tassonomico definito. In tutte le specie osservate ci sono magnetosomi di magnetite o di greigite (entrambi minerali ferrimagnetici) legati alla membrana citoplasmica.

I magnetosomi hanno dimensioni comprese tra 35 e 120 nm e, generalmente, sono disposti in catena lungo l'asse maggiore della cellula a formare un dipolo magnetico abbastanza grande perché la forza di gravità geomagnetica possa allineare le cellule lungo le linee dei campi magnetici locali.

Questi batteri usano i magnetosomi per allinearsi lungo le linee del campo geomagnetico e l'aerotassi negativa per muoversi verso la particolare concentrazione di ossigeno a loro più congeniale. A differenza di quanto accade con la chemiotassi, che corregge l'andamento di un nuoto casuale tridimensionale, la magnetotassi permette ai microrganismi di nuotare

direttamente per tornare all'ambiente microaerofilo o anaerobio.

Le specie magnetotattiche trovate nelle acque aperte, al confine tra le acque ossigenate e le acque da cui il solfuro di idrogeno sta diffondendo verso l'alto, rispondono a molti e diversi stimoli per mantenere la propria posizione nella colonna d'acqua, probabilmente attraverso il bilancio tra aerotassi negativa e chemiotassi, mentre



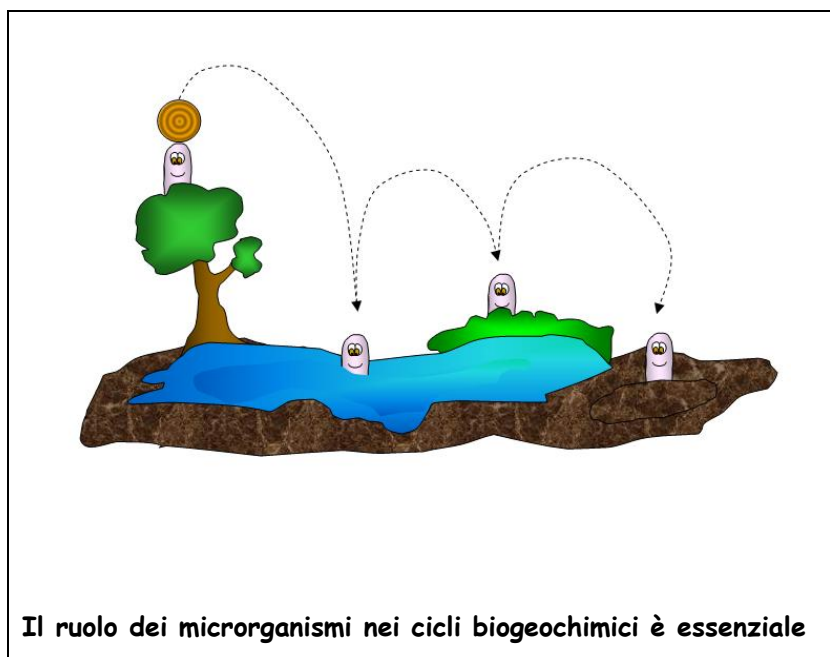
nuotano parallelamente alle linee magnetiche del campo locale. La polarità di questi batteri è determinata dal loro habitat abituale: i batteri che vivono nell'emisfero boreale cercano il nord, mentre quelli che vivono nell'emisfero australe cercano il sud.

Le linee di forza del campo magnetico, a nord e a sud della linea dell'equatore, si dirigono all'interno e verso il polo corrispondente. La catena di magnetosomi, perciò porta i batteri a nuotare verso il basso (lontano dall'ossigeno) in entrambi gli emisferi.

Le tassie (risposte tramite movimento) permettono ai microrganismi di spostarsi nel proprio ambiente alla ricerca del miglior posto in cui vivere, svolgere le proprie attività, intraprendere interazioni con altri organismi.

MICRORGANISMI E CICLI BIOGEOCHIMICI

I microrganismi grazie alla loro ubiquità, alle notevoli capacità metaboliche, alla versatilità,



efficienza e abbondanza delle loro attività enzimatiche, svolgono un ruolo chiave, spesso irrinunciabile, nei processi di ciclizzazione (passaggio dal comparto organico a quello inorganico e viceversa) di molti elementi. Il ciclo biogeochimico di un elemento è l'insieme delle progressive trasformazioni (ossidazioni o riduzioni) che sono

mediate da reazioni biologiche o chimiche. I cicli più importanti sono quelli che riguardano gli elementi essenziali per la vita, ma anche elementi non essenziali o addirittura tossici vanno incontro a ciclizzazione (bioaccumulo di Cesio o Stronzio radioattivi, metilazione microbica del mercurio, del piombo e dell'arsenico).

ASSIMILAZIONE E DISSIMILAZIONE

Nel caso in cui un composto organico sia ridotto per essere usato nei processi anabolici, si parla di "assimilazione" e il processo riduttivo prende il nome di metabolismo assimilativo. Il metabolismo assimilativo è profondamente diverso dai processi metabolici in cui gli stessi composti sono ridotti allo scopo di produrre energia e fungono da accettori di elettroni (metabolismo dissimilativo).

Il metabolismo assimilativo è comune a molti organismi, ma solo i procarioti sono capaci di metabolismo dissimilativo. Per quanto anche nel ciclo del carbonio avvengano reazioni

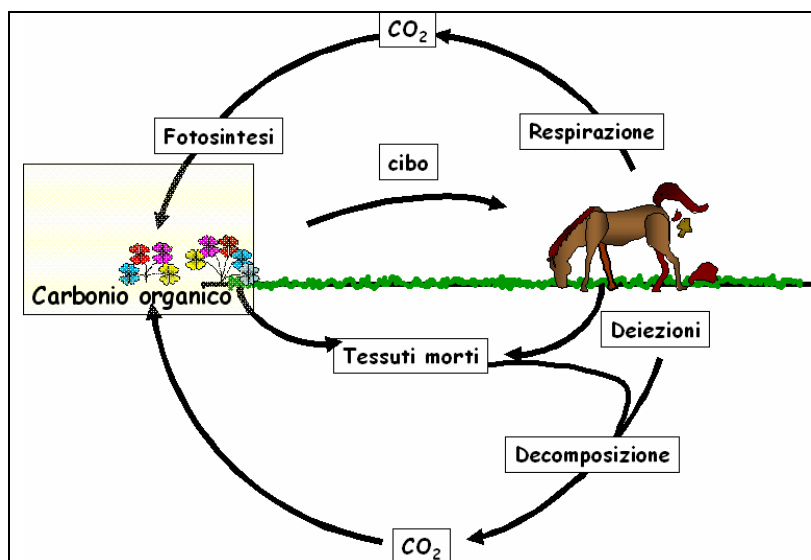
dissimilative (l'anidride carbonica è impiegata come accettore di elettroni dai metanogeni nei processi di produzione di energia) la loro frequenza e importanza è molto più evidente nei cicli dell'azoto e dello zolfo.

Nel corso di un metabolismo dissimilativo, la quantità di composto che si riduce (utilizzato in questo caso come accettore di elettroni) è molto maggiore di quella ridotta nel corso di una reazione di tipo assimilativo e il prodotto di riduzione non è utilizzato dalla cellula ma escreto nell'ambiente esterno.

Nel corso di una reazione finalizzata all'assimilazione, invece, la quantità di composto (NO_3^- , SO_4^{2-} e CO_2) ridotta è quella necessaria e sufficiente a soddisfare l'esigenza di nutrienti per la crescita, e i prodotti della riduzione sono incorporati in macromolecole e convertiti in materiale cellulare.

La velocità dei cicli è varia: i componenti maggiori della vita sono soggetti ad una ciclizzazione molto intensa, mentre gli elementi minori hanno cicli meno rapidi. Dal punto di vista quantitativo il ciclo più importante è quello del carbonio.

IL CICLO DEL CARBONIO



Il carbonio è l'elemento chimico tipico della materia vivente: entra a far parte di composti di fondamentale importanza per la struttura e il metabolismo cellulare (proteine, acidi nucleici, zuccheri, grassi); nel comparto inorganico questo elemento è presente in larghissima quantità sotto forma di carbonati

(litosfera) di bicarbonati (idrosfera) e di CO_2 (atmosfera). Se confrontata con quella degli altri gas dell'aria, la concentrazione di CO_2 nell'atmosfera è esigua (0,03% in media); la maggiore riserva è rappresentata dalle acque marine (0,6%).

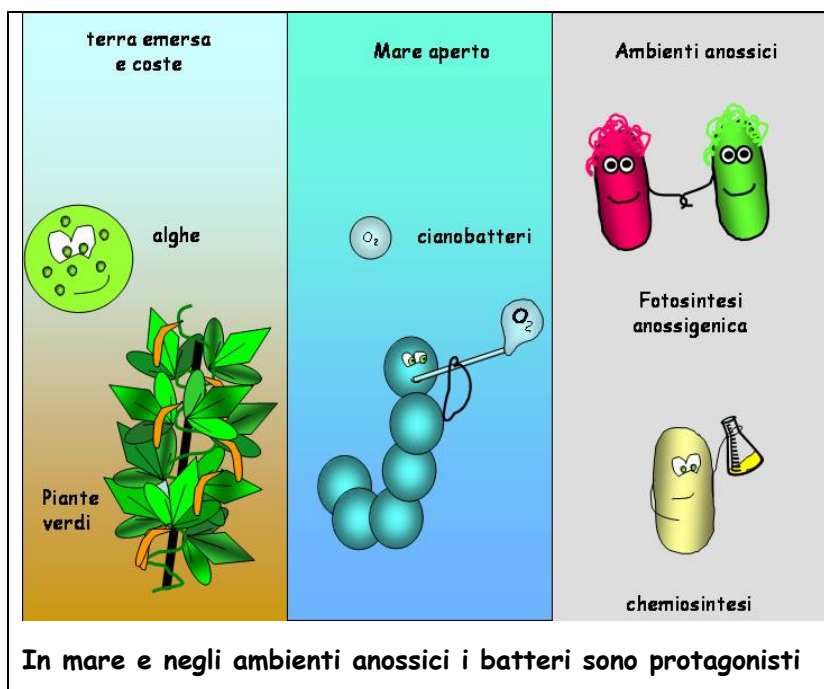
ORGANICAZIONE (RIDUZIONE DI CO_2)

Le piante non sono in grado di utilizzare direttamente i carbonati del terreno, ma possono usare il carbonio che si trova sotto forma di CO_2 . L'anidride carbonica presente nell'aria o

nell'acqua è trasformata in composti organici (zuccheri e altri composti derivati) dagli organismi autotrofi attraverso processi di foto- o di chemio- sintesi. I composti organici ottenuti entrano a far parte della sostanza vivente o vanno a costituire sostanze di riserva e sono utilizzati a loro volta, come alimenti, dagli animali e da tutti gli altri organismi eterotrofi. Nel ciclo del carbonio coesistono due processi: il passaggio da stato inorganico a stato organico (fissazione di CO_2) e il passaggio da stato organico a stato inorganico (produzione di CO_2). Gli organismi eucarioti partecipano alle principali fasi del ciclo del carbonio quando è disponibile l'ossigeno ma, in anaerobiosi, i soli protagonisti sono i procarioti.

FISSAZIONE DI CO_2 (RIDUZIONE: INORGANICO → ORGANICO)

Sulla terraferma e nelle zone marine costiere, la maggior parte della produzione primaria di



carbonio organico è fotosintetica e dovuta a piante verdi e alghe ma, in mare aperto, i principali produttori primari sono i cianobatteri.

In anaerobiosi, l'organizzazione del carbonio può essere ottenuta con procedimenti fotosintetici (batteri rossi e verdi sulfurei) o chemiosintetici, ma è comunque a carico esclusivo dei procarioti.

I batteri chemiosintetici sono

raggruppati secondo il prodotto della reazione di ossidazione svolta e si distinguono in:

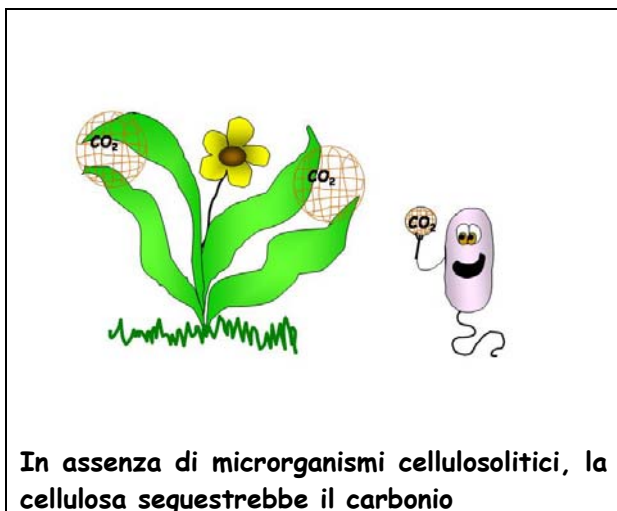
I) Nitrosobatteri, (ossidano ammoniaca ad acido nitroso, che forma nitriti con i minerali presenti nel suolo) **II)** Nitrobatteri (ossidano nitriti a nitrati) **III)** Ferrobatteri, che ossidano i sali ferrosi (Fe^{2+}) a sali ferrici (Fe^{3+}); **IV)** Solfobatteri «bianchi» (da non confondere con i solfobatteri fotosintetici, rossi e verdi), che ossidano H_2S a zolfo elementare e possono ancora ossidare zolfo elementare a solfato.

La chemiosintesi è limitata a pochi gruppi di batteri e quantitativamente modesta in confronto alla fotosintesi. L'attività degli organismi chemiosintetici, tuttavia, riveste un ruolo significativo nell'equilibrio biologico tra le varie forme di viventi; se in un lago dovessero

manca i batteri chemiosintetici, la vita per gli altri organismi diverrebbe rapidamente impossibile. Piante e animali morti (o residui di essi) infatti, si depositano continuamente sul fondo, e sono demoliti dai batteri eterotrofi, con produzione di grandi quantità di ammoniaca e solfuro di idrogeno. Senza l'intervento dei batteri nitrificanti e dei solfobatteri, la concentrazione di questi composti raggiungerebbe valori così elevati da impedire la vita agli altri esseri viventi. Nel fissare il carbonio, questi batteri mineralizzano contemporaneamente azoto e zolfo e li rendono nuovamente disponibili per una nuova utilizzazione da parte di altri organismi viventi (cicli dell'azoto e dello zolfo). Per quanto vengano presi in considerazione separatamente per facilità di studio, i cicli dei principali elementi sono strettamente e indistricabilmente connessi.

MINERALIZZAZIONE (organico → inorganico- ossidazione)

Il carbonio organico (ridotto) può essere degradato da molti organismi che lo ossidano ottenendo CO_2 ; questa ciclicità assicura che la



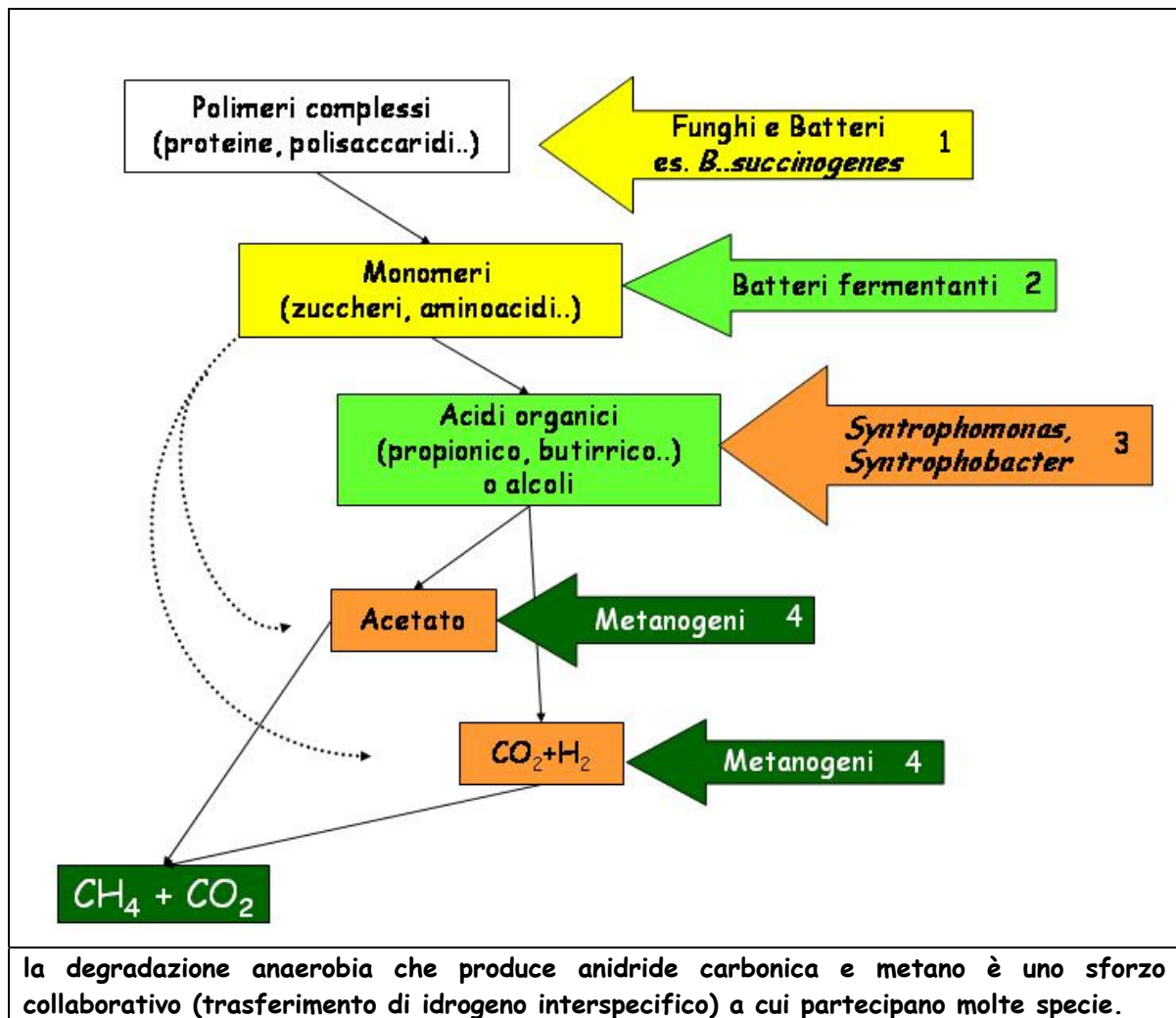
concentrazione di CO_2 nell'aria rimanga relativamente costante. Va sottolineato che, senza l'intervento dei microrganismi, la sintesi di cellulosa da parte delle piante verdi causerebbe una progressiva perdita di CO_2 dall'atmosfera: il 30% circa del carbonio organico dalle piante va a costituire cellulosa: un materiale che può essere degradato (mineralizzato) solo dai

batteri provvisti di enzimi cellulolitici, che lo demoliscono per trarne energia e lo trasformano in CO_2 . Alcuni batteri cellulolitici sono aerobi (es. *Azotobacter*) e ossidano la cellulosa negli strati più superficiali del terreno, fino a ottenere CO_2 e H_2O ; altri (es. *Clostridium pasteurianum*) vivono in anaerobiosi e trasformano la cellulosa in CO_2 e altri prodotti intermedi. Una parte dell'energia ricavata dalla degradazione della cellulosa (non ossidabile dagli organismi superiori) è utilizzata dai batteri cellulolitici per fissare l'azoto molecolare (ciclo dell'azoto).

I processi implicati nella degradazione del carbonio organico sono la respirazione aerobia, la respirazione anaerobia e la fermentazione. Nella fermentazione tuttavia buona parte del carbonio rimane sotto forma di composti organici e la restituzione completa all'atmosfera

sotto forma di CO_2 si ottiene solo con la mineralizzazione successiva di tutti i residui organici nel corso di altre reazioni chimiche.

DEGRADAZIONE IN ANAEROBIOSI



La degradazione anaerobia del carbonio, strettamente limitata ai microrganismi, è responsabile della maggior parte della CO_2 di origine biologica e del metano che vengono rilasciati nell'atmosfera. La decomposizione anaerobia delle sostanze organiche a CO_2 e metano è uno sforzo collaborativo che coinvolge molte reazioni differenti e diverse specie di microrganismi. Viene anche definita trasferimento di idrogeno interspecifico. Le reazioni che ne fanno parte si svolgono nell'intestino (in piccola parte) nei sedimenti, nel suolo, e nel rumine.

Le successive reazioni possono essere schematizzate come segue:

I polimeri complessi vengono scissi in monomeri da funghi e batteri cellulosolitici

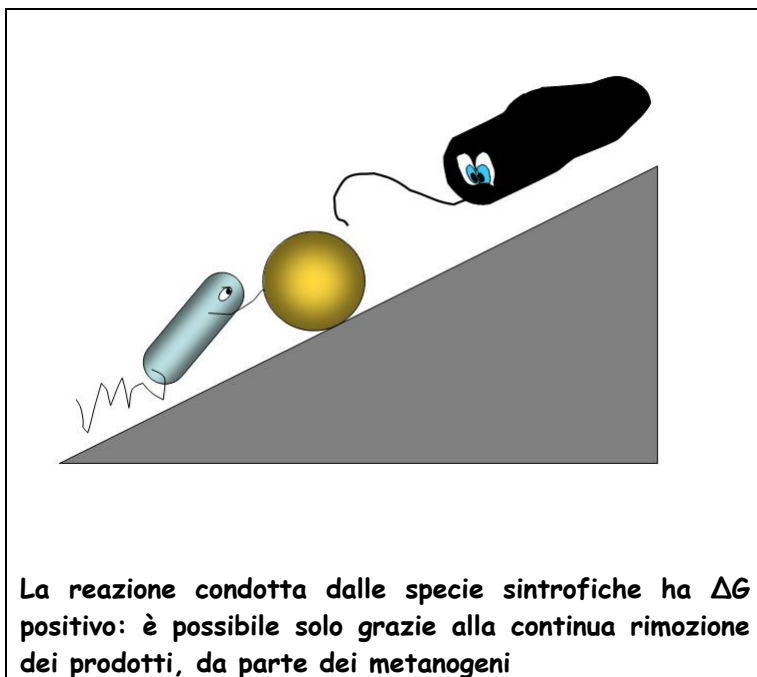
Le unità monomeriche prodotte vengono degradate da batteri fermentanti (es. microrganismi enterici, *Clostridium butyricum*..) con produzione di acidi organici o alcoli, CO_2 e idrogeno.

Le specie sintrofiche (*Syntrophomonas*, *Syntrophobacter*) utilizzano per via fermentativa gli acidi organici, producendo acetato, CO_2 e idrogeno molecolare.

Acetato, anidride carbonica e idrogeno sono utilizzati dai batteri metanogeni per produrre metano (l'anidride carbonica in questo caso è l'accettore di elettroni).

Il fattore limitante nel processo della decomposizione anaerobica del carbonio è la fermentazione degli acidi organici da parte dei batteri che fermentano acidi grassi ed alcoli (specie sintrofiche). Dal punto di vista termodinamico, queste reazioni sono sfavorevoli e sono rese possibili dalla contemporanea presenza di reazioni esoergoniche svolte da altre specie, in modo che il bilancio globale dell'intero processo abbia comunque un ΔG negativo. Sono guidate, infatti, dalla continua rimozione di idrogeno da parte dei metanogeni che usano reazioni termodinamicamente favorevoli.

I batteri sintrofici svolgono un'azione benefica sia nei confronti dei batteri fermentanti che



sarebbero altrimenti intossicati da acidi organici e alcoli prodotti dal proprio metabolismo, sia nei confronti dei metanogeni, i cui nutrienti sono i prodotti del metabolismo delle specie sintrofiche. Per quanto le reazioni di degradazione descritte siano opera di differenti gruppi di microrganismi, esse sono strettamente correlate in quanto il prodotto di scarto del metabolismo di un gruppo rappresenta il cibo per un altro. Di conseguenza, se

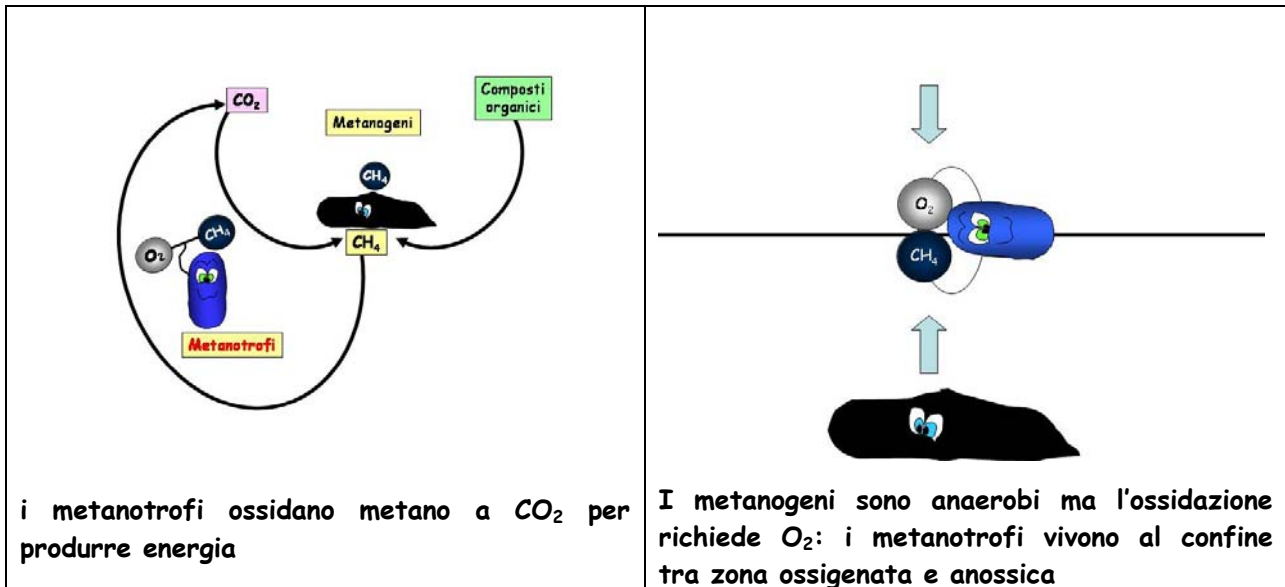
una singola reazione del processo globale si svolgesse con insufficiente o eccessiva efficienza, potrebbe causare la morte di molti microrganismi per carenza di nutrienti o per l'accumulo di prodotti di scarto.

CONSUMO DI METANO

A completare il ciclo, il metano è ossidato (usato come donatore di elettroni nella respirazione

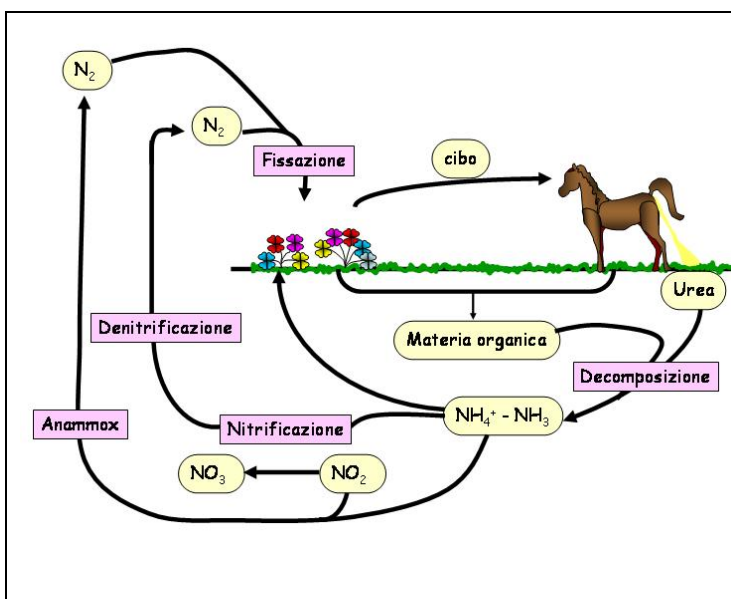
dai microrganismi metanotrofi, che utilizzano l'ossigeno come accettore e lo riducono formando acqua ($\text{CH}_4 + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + \text{energia}$).

I microrganismi che appartengono al gruppo dei "metilotrofi" di cui i metanotrofi rappresentano un sottoinsieme, possono anche ossidare altri substrati. I metanotrofi hanno



bisogno di metano, prodotto dal metabolismo dei metanogeni, e dell'ossigeno necessario ad ossidarlo. I metanogeni tuttavia vivono solo in assenza di ossigeno e questo restringe l'habitat dei metanotrofi al confine tra le zone ossigenate e quelle anossiche, i soli punti dove sia possibile avere a disposizione contemporaneamente ossigeno e metano.

CICLO DELL' AZOTO



L'azoto è uno dei gas più rappresentati nell'atmosfera e i batteri hanno un ruolo molto importante nella sua ciclizzazione. L' azoto organico viene rilasciato nel suolo sotto forma di composti complessi che non possono essere assimilati direttamente dalle piante (proteine, acidi nucleici, aminoacidi, etc.) da diverse matrici (parti di piante, animali morti, scorie animali). È necessario quindi che l'azoto organico venga

mineralizzato dall'azione dei microrganismi per poter essere riutilizzato. Le fasi del ciclo dell'azoto sono: Ammonificazione, Denitrificazione, Fissazione, Nitrificazione.

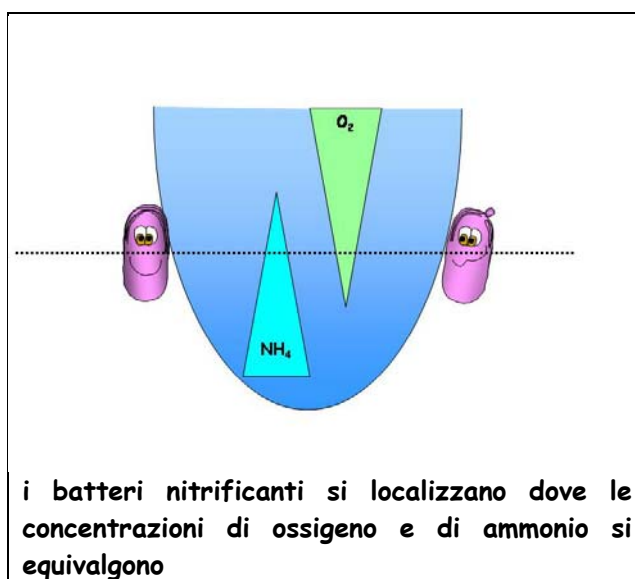
AMMONIFICAZIONE (riduzione di azoto organico)

I microrganismi eterotrofi, che sono i responsabili della degradazione di molecole organiche azotate, favoriscono la liberazione dell'azoto in eccesso sotto forma di sali di ammonio, in particolar modo carbonati. I sali di ammonio possono essere assimilati dalle piante oppure essere ossidati dai microrganismi, con un processo aerobio (nitrificazione, in cui l'accettore di elettroni è ossigeno) o anaerobio (anammox, in cui l'accettore di elettroni sono i nitriti). I nitrati possono a loro volta essere assimilati o usati dai batteri in un processo dissimilativo (denitrificazione).

NITRIFICAZIONE

I sali di ammonio sono in parte assorbiti ed utilizzati dalle piante, e parte ossidati a nitriti (I^a tappa) e poi a nitrati (II^a tappa) da parte di batteri della rizosfera che svolgono un'azione di nitrificazione. Nella prima tappa (*Nitrosomonas*), l'ammonio è ossidato ottenendo acido nitroso, che si combina con calcio o magnesio a formare i corrispondenti nitriti. Alcune specie di *Nitrosomonas* possono iniziare il processo direttamente dall'urea, che degradano in ammoniaca grazie all'enzima "ureasi". Nella tappa successiva (*Nitrobacter*) i nitriti vengono ossidati a nitrati.

Nel processo di nitrificazione i composti



azotati sono usati come donatori di elettroni e l'ossigeno come accettore; i batteri nitrificanti (*Nitrobacter* e *Nitrosomonas*) vivono ovunque sia disponibile ammoniaca: crescono bene nei laghi e nei fiumi che ricevono immissioni di liquami, trattati e non trattati, e si trovano più facilmente in aree con pH neutro o alcalino perché il pH acido inibisce il processo di nitrificazione. Nelle zone anossiche in cui manca l'ossigeno necessario per il processo di nitrificazione, l'ammonio tende ad accumularsi e i batteri nitrificanti quindi si localizzano dove ammonio e ossigeno coesistono.

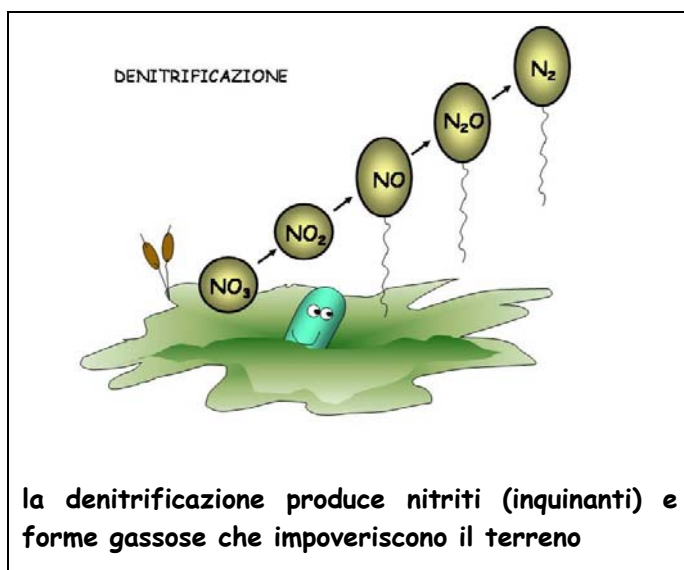
REAZIONE ANAMMOX

Poiché il processo di nitrificazione dipende strettamente dalla presenza di ossigeno, la scomparsa di ammonio dalle zone sub-ossiche delle acque marine ha rappresentato un interrogativo risolto solo recentemente con la scoperta dell'esistenza di batteri capaci di convertire l'ammonio in azoto gassoso anche in assenza di ossigeno.

Il microrganismo responsabile della reazione (*Brocadia anammoxidans*) è correlato ai *Planctomycetes* (procarioti dotati di una struttura molto organizzata) e ha un comparto specializzato dove si svolge la reazione ANAMMOX (ANAerobic AMmonium OXidation), che converte l'ammonio a azoto molecolare usando, come accettori di elettroni, i nitriti (più solubili dell'ossigeno e di conseguenza disponibili anche a profondità più elevate).

DENITRIFICAZIONE

Nei terreni poco aerati, i nitrati formati con la nitrificazione sono in parte utilizzati da



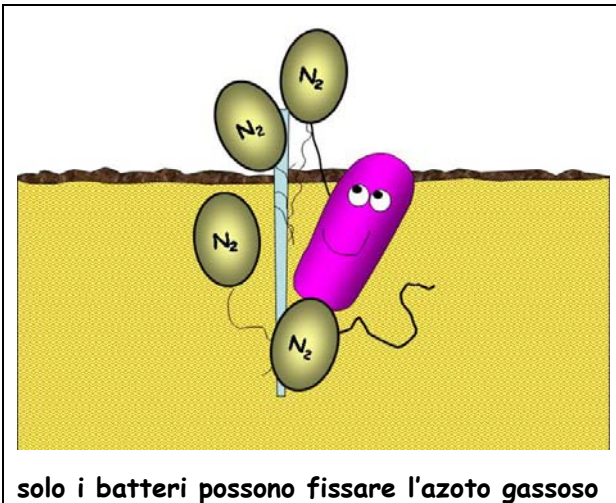
microrganismi che, con un processo inverso, li riducono a nitriti, ammoniaca, e poi specie gassose che si disperdono nell'atmosfera: monossido (NO) e biossido (N_2O) di azoto e, infine, azoto molecolare. Alcune specie batteriche molto comuni nel terreno e nell'intestino di uomo e animali possono effettuare solo il primo passo della denitrificazione (Nitrati $\rightarrow$ nitriti- es. *Enterobacteriaceae*) ma altri microrganismi

proseguono la riduzione fino all'azoto molecolare.

I batteri denitrificanti sono anaerobi che utilizzano nitrati, al posto dell'ossigeno, come accettori finali degli elettroni (dissimilazione) e appartengono a un numero limitato di specie: la più comune è *Bacterium denitrificans*. Il processo di denitrificazione sottrae azoto al suolo, restituendolo all'atmosfera.

L'equilibrio del ciclo viene garantito dall'attività di quei microrganismi che fissano l'azoto elementare presente nell'atmosfera (il 78% dei gas atmosferici): i batteri azotofissatori.

AZOTO-FISSAZIONE

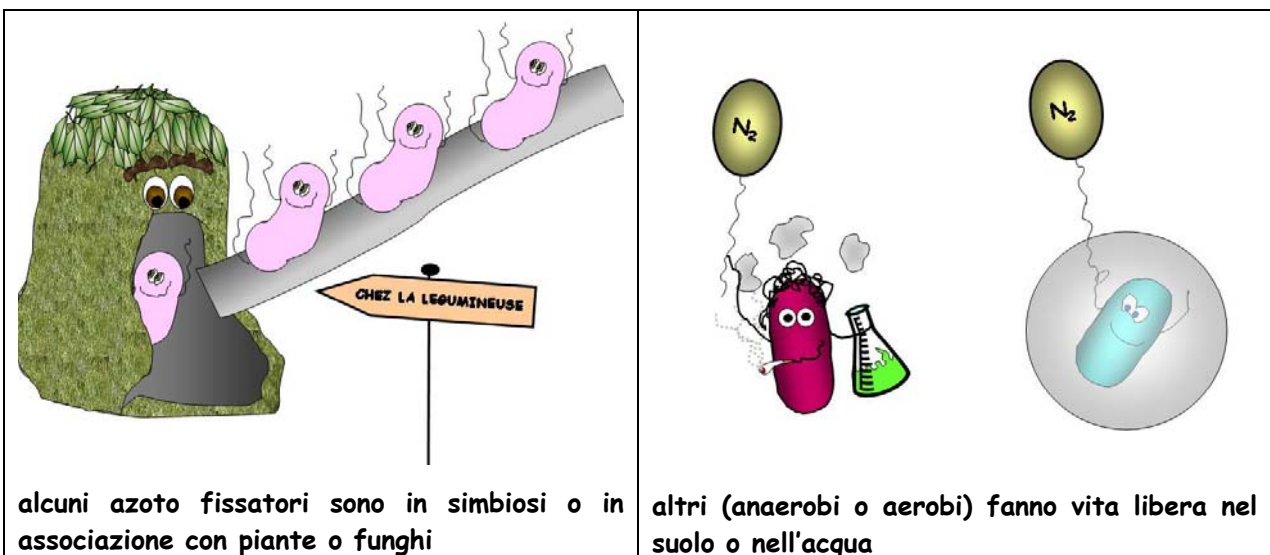


La forma in cui l'azoto è maggiormente diffuso è quella gassosa, che possiede un triplo legame molto stabile e difficile da spezzare. La riduzione dell'azoto gassoso (**fissazione**) è quindi un processo dispendioso dal punto di vista energetico e solo pochi procarioti sono in grado di svolgerlo, producendo sali azotati organici che arricchiscono il suolo. L'enzima che permette il processo di fissazione è la

nitrogenasi, particolarmente sensibile all'ossigeno. In qualche caso il gene che codifica una nitrogenasi (*nif*) si trova su plasmidi e può essere trasferito orizzontalmente.

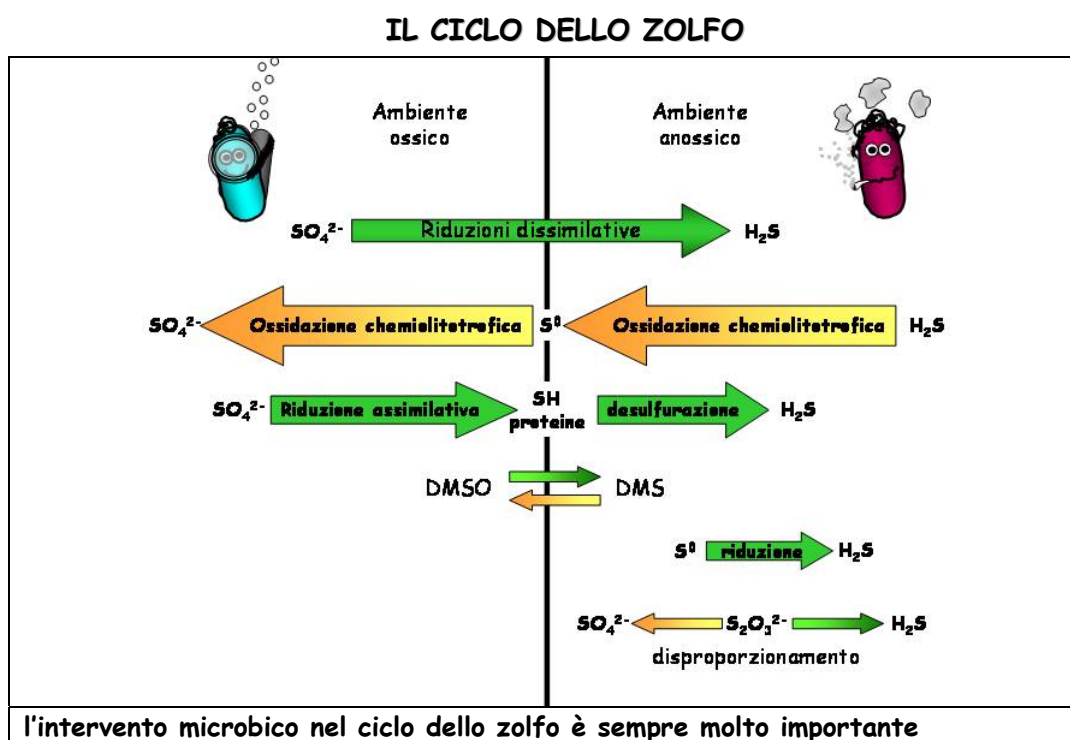
I batteri azotofissatori appartengono principalmente a tre categorie:

1) batteri tipo *Rhizobium* che vivono in un rapporto di simbiosi con leguminose o altre piante superiori. Si trovano come forme trasformate (batterioidi) nei tubercoli radicali delle piante, dove viene mantenuta una bassa tensione di ossigeno, e fissano l'azoto atmosferico. I *Rhizobium* possiedono un plasmide (*Sym*) che può occasionalmente essere trasferito ad altre specie della rizosfera, conferendo loro capacità di azoto-fissazione.



2) batteri anaerobi liberi come *Clostridium pasteurianum* e *Bacterium amylobacter* che producono l'energia necessaria per fissare l'azoto attraverso la fermentazione butirrica;

3) batteri aerobi liberi come *Azotobacter* e alcuni cianobatteri, che svolgono la fissazione dell'azoto in presenza di aria. Questi microrganismi devono proteggere la nitrogenasi dall'azione dell'ossigeno di cui però hanno bisogno per vivere. I cianobatteri, nella maggior parte dei casi, ottengono questo scopo con la formazione delle eterocisti, cellule differenziate in cui manca PS-II; *Azotobacter* si circonda di una spessa capsula che limita la diffusione dell'ossigeno e fa giungere alla cellula solo la quantità che può essere rapidamente utilizzata.



Lo zolfo va incontro a reazioni fotochimiche spontanee con una certa rapidità, specialmente a pH neutro. Questo è il motivo per cui alcuni microrganismi che utilizzano composti dello zolfo (ad. es. solfuro) crescono bene solo a pH acido (sono acidofili obbligati): a pH neutro, infatti, il loro substrato scompare spontaneamente. L'apporto dei microrganismi al ciclo dello zolfo, tuttavia, è importante e si verifica in aerobiosi e in anaerobiosi, con la partecipazione sia di batteri fotosintetici sia di batteri chemiosintetici. Lo zolfo si trova, in natura, in diversi stati di ossidazione: zolfo elementare (S^0), solfuri e tiosolfati ($^{-2}$) e solfati ($^{+6}$).

RIDUZIONE DEI SOLFATI

I solfati possono essere ridotti a solfuro per via dissimilativa o nel corso di processi assimilativi da molti microrganismi che lo incorporano nei composti organici come R-SH.

OSSIDAZIONE DEL SOLFURO

In anaerobiosi e in presenza di luce, il solfuro può essere ossidato dai batteri fotosintetici anossigenici; ma in ambienti aerobici, a pH neutro, può ossidarsi spontaneamente o essere ossidato dai solfobatteri bianchi.

OSSIDAZIONE DELLO ZOLFO ELEMENTARE

Alcuni di questi batteri riescono a ossidare anche lo zolfo elementare che, a differenza del solfuro, è stabile anche in presenza di ossigeno. Lo zolfo elementare è insolubile e i batteri che lo ossidano si trovano adesi ai cristalli. Accanto ai solfobatteri bianchi come *Beggiatoa*, *Thiothrix* e *Thiobacillus* un ruolo importante in questa reazione è svolto dall'archibatterio *Sulfolobus* (termo-acidofilo e aerobio). Lo zolfo elementare può anche essere ridotto con produzione di solfuro: questa reazione, che si svolge solo in ambienti anossici, è tipica di pochi batteri (*Desulfuromonas*) e degli archibatteri ipertermofili.

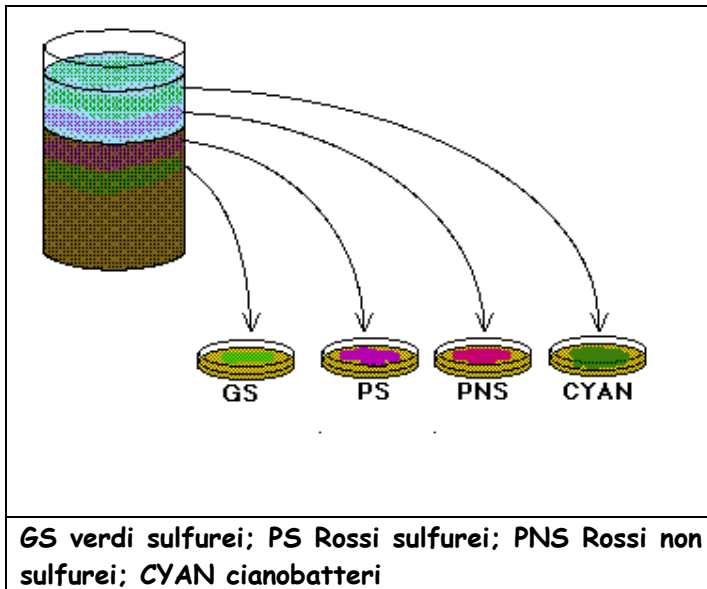
COMPOSTI ORGANICI DELLO ZOLFO

Anche molti composti organici dello zolfo, sintetizzati da organismi viventi, entrano nella ciclizzazione. Il composto più abbondante in natura è il dimetilsolfuro (DMS), prodotto in particolar modo negli ambienti marini come risultato della degradazione del composto osmoregolatore principale delle alghe, il dimetilsolfonpropionato, che rappresenta una fonte di energia e carbonio per molti microrganismi. Dai composti organici, lo zolfo viene nuovamente liberato durante i processi degradativi (putrefazione e desolfurazione). La partecipazione ai cicli biogeochimici è una diretta conseguenza della versatilità metabolica dei microrganismi, che si trovano praticamente ovunque: tutte le condizioni compatibili con la vita di organismi eucarioti lo sono anche con la vita dei procarioti che, in aggiunta, sono in grado di sfruttare le risorse di ambienti nei quali la vita degli eucarioti non è possibile a causa di condizioni fisiche o chimiche estreme.

COLONNA DI VINOGRADSKJI

Effetti visibili delle attività metaboliche dei microrganismi, della loro capacità di cooperare e di collocarsi nei punti più adatti alle proprie esigenze, si possono osservare nelle "colonne di Vinogradskji", sistemi completi, autosufficienti ed autorigeneranti, sostenuti dall' energia luminosa. Lo studio di sistemi di questo tipo ha permesso di capire come i microrganismi svolgano ruoli interdipendenti e come l'attività di una specie permetta la crescita di un'altra. Una colonna di Vinogradskji si costruisce in un contenitore trasparente, riempito per due terzi con suolo o sedimento (sedimenti lacustri, fluviali, marini, estuarini, di stagni, suolo

saturo di acqua..). Al sedimento si aggiungono: una fonte di cellulosa (segatura, trucioli di legno, erba secca, carta spezzettata..), una fonte di zolfo (solfato di calcio o di magnesio, tuorlo di uovo sodo) e guscio d'uovo sminuzzato (carbonato di calcio). Nella parte superiore della colonna si stratifica acqua proveniente dallo stesso sito da cui è stato prelevato il campione di sedimento, lasciando qualche centimetro di aria in superficie. Si espone poi la colonna alla luce e si esamina periodicamente.



I processi che avvengono all'interno della colonna sono i seguenti:

1) La cellulosa provoca una crescita microbica abbondante, che consuma molto rapidamente l'ossigeno presente. Una zona ossigenata rimane solo sulla cima della colonna, perché l'ossigeno diffonde dall'aria nell'acqua con estrema lentezza.

2) Quando l'ossigeno è stato completamente consumato, le spore di

alcune specie di *Clostridium* cellulosolitici (sporigeni anaerobi stretti) germinano e le forme vegetative degradano la cellulosa a glucosio e poi fermentano il glucosio per ottenere energia, liberando composti organici semplici (etanolo, acido acetico, acido succinico) come prodotti finali della fermentazione.

3) Batteri che riducono lo zolfo (es. *Desulfovibrio*) utilizzano i prodotti finali della fermentazione come substrato per la respirazione anaerobia, impiegando ioni solfato o tiosolfati come accettori terminali. Nel corso di questo processo si produce una notevole quantità di H_2S che, reagendo con sali di ferro, forma solfuro di ferro e conferisce al sedimento una colorazione tipica nerastra

4) parte dell' H_2S diffonde verso l'alto, nella colonna d'acqua, e permette la crescita dei microrganismi fotosintetici anaerobi, che si rende evidente grazie all'apparire di due strette zone, vivacemente colorate, immediatamente al disopra del sedimento, una verde (batteri verdi sulfurei, *Chlorobiaceae*) e una rossa (batteri rossi sulfurei, *Chromatiaceae*). Lo zolfo prodotto dai batteri fotosintetici e i solfati che ne originano, ritornano al sedimento, dove possono essere riciclati (parte del ciclo dello zolfo che si svolge naturalmente nelle acque).

5) più in alto, nella colonna d'acqua, dove la concentrazione di H_2S è minore, si stratificano i batteri rossi non sulfurei (*Rhodospirillaceae*) che crescono in anaerobiosi e impiegano la luce per produrre energia ma, a differenza dei batteri sulfurei (che organicano CO_2), utilizzano acidi organici come fonte di carbonio e sono quindi fotoeterotrofi.

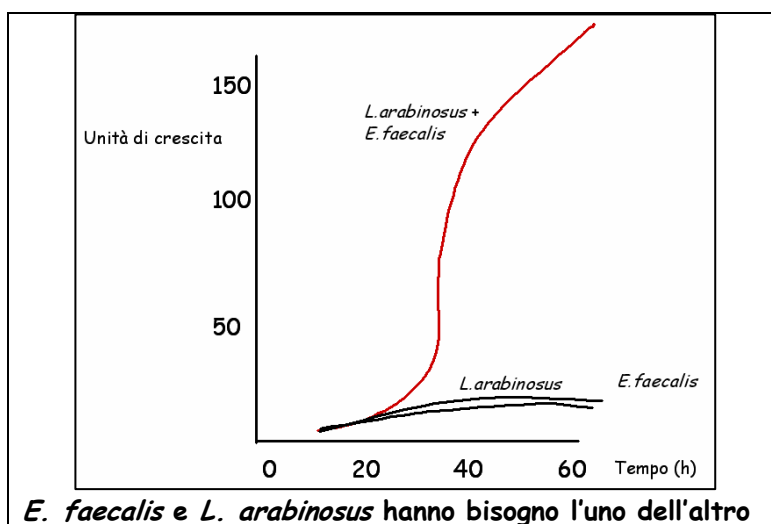
6) Nella zona superiore, ossigenata, possono crescere moltissimi microrganismi, tra cui molto importanti i cianobatteri, che dopo essersi moltiplicati possono riuscire ad ossigenare la maggior parte della massa d'acqua, e i batteri bianchi sulfurei, chemoautotrofi che ossidano l' H_2S che dal basso diffonde verso la zona aerobia, eliminandolo.

INTERAZIONI CON ALTRI ORGANISMI (SIMBIOSI)

Con il termine simbiosi (vita insieme) si definiscono le interazioni che un organismo contrae con altre forme di vita. Le interazioni possono essere **POSITIVE** (mutualismo entrambi i partner ne hanno vantaggio) **NEGATIVE**: parassitismo, competizione, antagonismo o predazione (uno dei partner trae beneficio a danno dell'altro) **NEUTRE** (commensalismo: uno dei partner trae vantaggio dalla presenza dell'altro, che non ne è avvantaggiato né danneggiato).

INTERAZIONI TRA MICRORGANISMI

Nelle interazioni tra microrganismi il vantaggio, reciproco o meno, è in genere collegato alla



nutrizione.

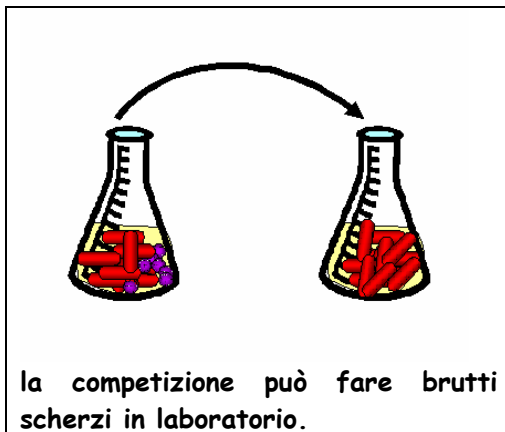
MUTUALISMO: Un esempio classico è quello fornito da *Enterococcus faecalis* e *Lactobacillus arabinosus*: le due specie crescono in coltura axenica senza problemi quando vengono coltivati in un terreno di coltura ricco, ma non crescono in terreno minimo. Per ottenere una

crescita abbondante è necessario coltivarle insieme: entrambe, infatti, hanno bisogno di un fattore di accrescimento che non è presente nel terreno minimo (*E. faecalis* di acido folico; *L. arabinosus* di fenilalanina) ma che viene secreto dall'altra specie.

COMMENSALISMO: Un esempio di commensalismo tra microrganismi è quello del satellitismo, che si osserva tra *Haemophilus influenzae* (che ha bisogno di eme e di NAD come fattori di accrescimento) e *Staphylococcus aureus*. *H. influenzae* non cresce su terreno con aggiunta di

sangue, perché in questo tipo di terreno non è disponibile sufficiente NAD; *S. aureus* produce NAD e lo secerne nel terreno: in una coltura mista su piastra, quindi, le piccole colonie di *H. influenzae* si trovano solo intorno a quelle di *S. aureus*.

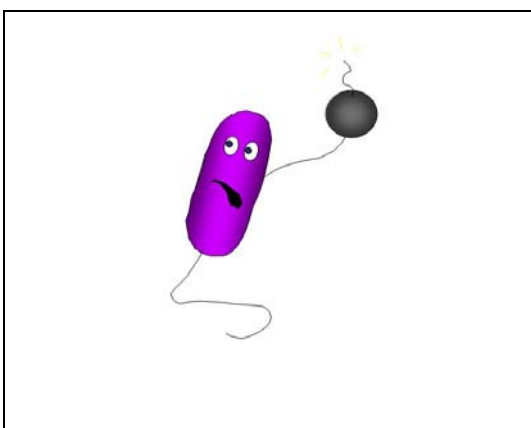
COMPETIZIONE: La competizione si instaura tra popolazioni che utilizzano gli stessi nutrienti; il vantaggio in questo caso deriva dalla velocità di moltiplicazione, dall'affinità degli enzimi per



il substrato, dalla velocità delle reazioni enzimatiche e, in qualche caso, dalla capacità di creare riserve. Una specie che compete con un'altra interferisce con le sue possibilità di sfruttare liberamente i nutrienti. La competizione è un'interazione molto comune tra microrganismi, e ha risvolti pratici che riguardano la necessità di lavorare sterilmente e su colture axeniche in laboratorio. Coltivando *S. aureus* e *Escherichia coli*

nella stessa coltura liquida, *E. coli*, che ha un tempo generazionale minore di quello di *S. aureus*, aumenterà in proporzione maggiormente il numero delle sue cellule. Partendo da una situazione in cui ogni specie rappresenti il 50% dei batteri presenti, nel giro di due o tre successivi passaggi *S. aureus* sarà praticamente sparito dalla coltura (quando la competizione arriva a questo livello estremo si parla di amensalismo).

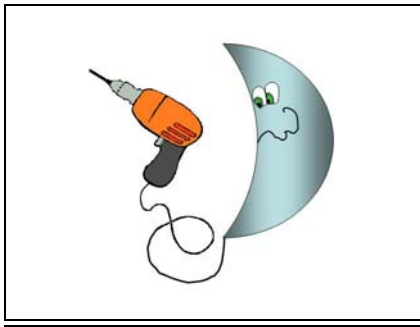
ANTAGONISMO: l'antagonismo è una forma di avanzata di competizione, in cui uno dei partner



ostacola attivamente la crescita dell'altro. Un tipico esempio di interazione di antagonismo è quello della produzione di antibiotici o di batteriocine (sostanze tossiche nei confronti di altri microrganismi). Nella maggior parte dei casi gli antibiotici sono prodotti durante la fase stazionaria della crescita, quando i nutrienti cominciano a scarseggiare, e i prodotti di scarto si accumulano.

Spesso la regolazione dei geni responsabili della sintesi dei fattori dell'antagonismo tra microrganismi è del tipo "Quorum Sensing" e talvolta il fattore di antagonismo è prodotto in risposta alla presenza di un'altra specie (probabilmente una specie in grado di competere).

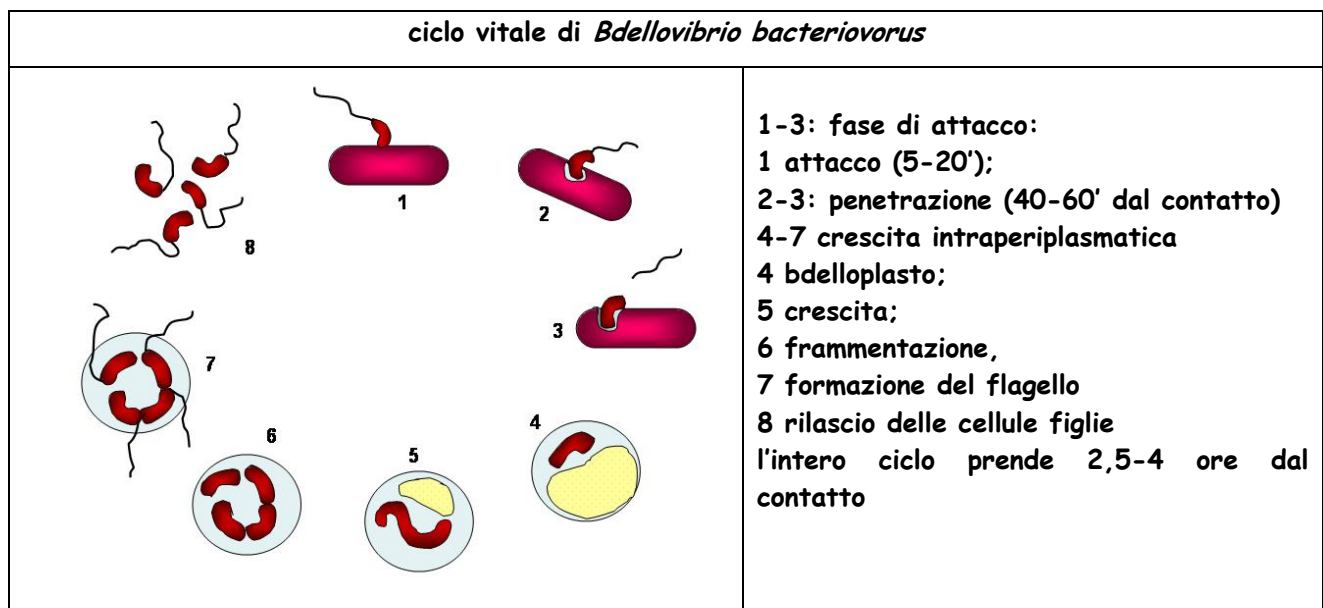
PREDAZIONE



La predazione non è un'interazione molto diffusa tra i batteri, ma esiste: uno degli esempi più noti e studiati è quello di *Bdellovibrio bacteriovorus*, nel cui ciclo di crescita si distinguono due fasi: una di attacco e una di crescita. Nella fase di attacco le cellule (circa 1,5 μm) hanno una forma incurvata e sono dotate di un flagello inguainato, che

ruota con un movimento a cavatappi e sposta la cellula con velocità molto elevata (circa 70-100 lunghezze/sec). La direzione del nuoto è casuale e la probabilità di incontrare una preda dipende dalla densità delle possibili prede presenti.

Quando entra in contatto con la preda, (qualunque Gram-negativo), *Bdellovibrio* continua a ruotare, scavandosi una via attraverso la parete, fino a penetrare nel periplasma; a questo punto la cellula predata muore e perde la propria forma trasformandosi in un corpo sferico che prende il nome di "bdelloplasto".



Bdellovibrio perde il flagello e inizia la fase di crescita periplasmica, allungandosi in un filamento; una volta esaurite le fonti di nutrimento (proteine, lipidi, polimeri strutturali, RNA, DNA), il filamento si divide in cellule figlie (le cellule della fase di attacco) che si liberano nell'ambiente.

La morte pressoché istantanea della preda, e la capacità di *Bdellovibrio* di crescere nel periplasma pur nutrendosi dei componenti citoplasmatici della preda, hanno suscitato

interesse nei confronti dei meccanismi implicati. Nella membrana citoplasmica della preda attaccata da *Bdellovibrio* è stata trovata una proteina che mostra omologie con la porina OmpF (membrana esterna). Si ritiene che *Bdellovibrio* agisca impiantando una propria porina nella membrana citoplasmica della preda, oppure traslocando una porina dalla membrana esterna della preda alla membrana citoplasmica. Questo risulterebbe in un collasso immediato e completo del potenziale di membrana, che ucciderebbe la preda e permetterebbe alle sostanze del citoplasma di diffondere nel periplasma per nutrire la cellula di *Bdellovibrio* che cresce. Aggiungendo al terreno un estratto ottenuto dalla preda, è possibile coltivare *Bdellovibrio* in laboratorio in coltura pura; altri predatori non crescono se non sono in presenza di preda viva (*Vampirovibrio chlorellavorus*, che preda l'alga *Chlorella*) o non si replicano se non sono attaccati alla cellula della preda (*Micavibrio aeruginosavorum*, che preda *Pseudomonas aeruginosa*).

INTERAZIONI MICRORGANISMI-PIANTE

I microrganismi interagiscono con la vita delle piante in molti modi, già con i processi che si verificano nel corso del ciclo dell'azoto. Ci sono esempi di mutualismo, di parassitismo, e un caso molto particolare di commensalismo (*Agrobacterium*) in cui si assiste ad un processo di coniugazione, con trasferimento di DNA, tra microrganismo e piante.

LICHENI

I licheni sono associazioni tra un fungo e un'alga o un cianobatterio. Il fungo (micobionte) ottiene fotosintato dal partner (ficobionte) a cui fornisce supporto, umidità e nutrienti inorganici.

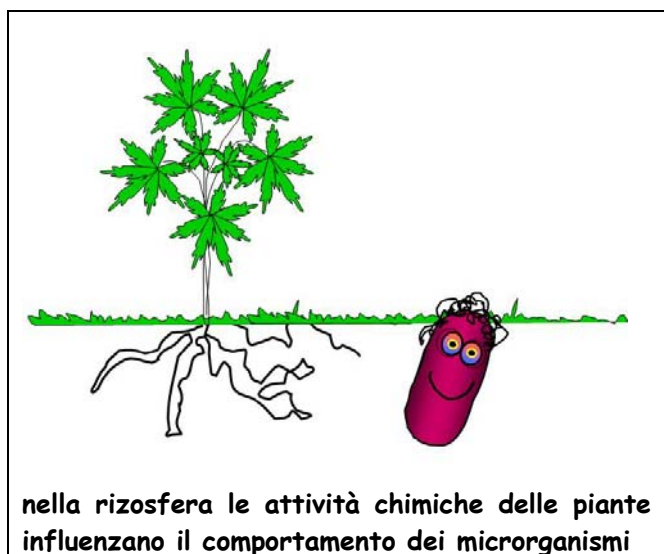
I licheni crescono lentamente e si trovano anche in ambienti con Aw relativamente bassa.

In ambienti desertici a clima freddo la loro presenza è essenziale per l'istaurarsi della "crosta microbica" che tiene insieme la sabbia evitando che venga asportata al vento e che svolga un'azione di erosione sulle aree circostanti, e inizia il processo di pedogenesi (formazione del suolo) permettendo così il successivo sviluppo di piante superiori. In queste situazioni, in particolare, il ficobionte è rappresentato spesso dal cianobatterio *Microcoleus*.

RHIZOBIUM-LEGUMINOSE

Il modello di simbiosi più conosciuto è quello che si instaura tra le leguminose ed i microrganismi del genere *Rhizobium*, che effettuano la fissazione biologica dell'azoto all'interno della pianta stessa.

I *Rhizobium* si trovano nella rizosfera: la regione del suolo dove si trovano le radici delle piante, che influenzano con le loro attività anche i microrganismi. La simbiosi tra *Rhizobium* e



le leguminose è il risultato di una "conversazione molecolare" tra batterio e pianta. Quando conduce vita libera nel suolo, *Rhizobium* è aerobio e microaerofilo, mobile e incapace di effettuare la fissazione dell'azoto: compie questa funzione essenziale solo quando è in simbiosi con una leguminosa. L'associazione pianta-*Rhizobium* è un processo specifico: ogni specie di *Rhizobium* entra in simbiosi con una particolare specie

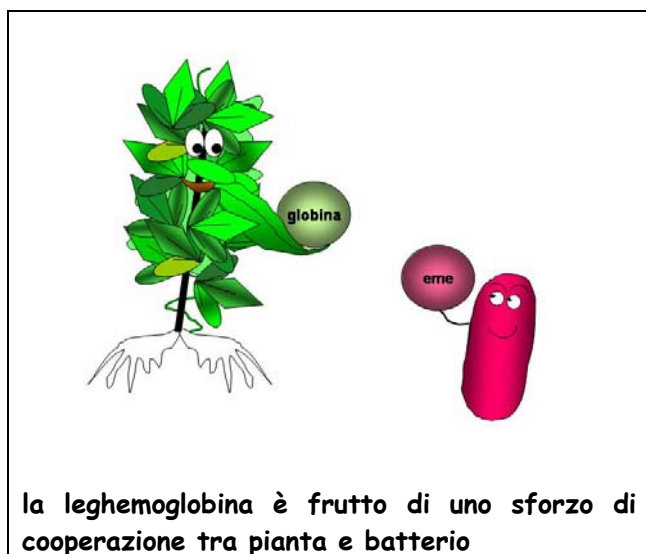
vegetale. In questa associazione mutualistica i microrganismi forniscono all'ospite una forma di azoto facilmente assimilabile (arginina) mentre la pianta rifornisce i batteri di cibo (carboidrati). Si calcola che quasi il 40% del fotosintato della pianta sia ceduto ai microrganismi come sorgente energetica per scindere il triplo legame della molecola di azoto. In sintesi il processo consta di tre eventi principali, che si svolgono in diverse fasi:

1) riconoscimento pianta-batterio:	a) risposta del batterio al segnale chimico della pianta b) invasione attraverso il filamento di infezione c) penetrazione fino alla radice principale
2) sviluppo del nodulo radicale	a) modificazione dei batteri in batterioidi all'interno delle cellule della radice b) risposta della pianta con formazione del nodulo per proliferazione delle cellule tetraploidi
3) azotofissazione	la pianta fornisce fotosintato ai batterioidi e ne riceve azoto organico sotto forma di aminoacidi

Ognuno di questi eventi è caratterizzato dall'espressione simultanea di geni della pianta e geni del batterio e richiede un processo di differenziamento concertato del microrganismo e della cellula vegetale. La «conversazione» molecolare comincia ancora prima che i due organismi entrino in contatto tra loro. La pianta emette un metabolita ciclico (flavonoide) che richiama solo i *Rhizobium* specifici per quella simbiosi.

Il flavonoide penetra nelle cellule batteriche e stimola una proteina (NodD) che attiva diversi geni. I geni attivati da NodD servono a sintetizzare, modificare e secernere il "fattore Nod", che agisce a distanza come un ormone, inducendo il re-inizio delle divisioni cellulari in cellule corticali tetraploidi della radice che si trovavano in uno stato quiescente. I batteri, attratti dai segnali biochimici inviati dalla pianta, si legano ai peli radicali e producono sostanze che stimolano la crescita asimmetrica del pelo stesso provocandone l'arrotolamento. Nei peli radicali si formano passaggi simili a gallerie, i canali di infezione, in cui i batteri avanzano per divisione cellulare. I canali d'infezione procedono verso il centro della radice e si ramificano liberando nel citoplasma delle cellule dei noduli radicali i batteri che subiscono cambiamenti spettacolari di forma e dimensione, diventando "batteriodi" (fino a 20.000 per cellula vegetale).

Una volta raggiunta la concentrazione critica le divisioni cellulari cessano e i batteriodi aumentano di volume arrivando ad oltre 30 volte il volume dei batteri liberi nel suolo. La reazione di riduzione $N_2 \rightarrow NH_4$ avviene grazie all'azione catalitica della nitrogenasi, la cui



attività è strettamente dipendente dalla pressione di ossigeno presente nel nodulo. Nella zona di fissazione è presente una molecola molto simile, per struttura e per ruolo, all'emoglobina umana, che prende il nome di "leghemoglobina".

La leghemoglobina, responsabile del colore rosato che assume il nodulo nella zona di fissazione, è formata da un gruppo eme (che contiene il ferro responsabile del legame con

O_2) sintetizzato dal batterioide, e da una regione globulare prodotta dalla cellula vegetale

La leghemoglobina tiene sotto controllo la concentrazione di ossigeno, bilanciando la necessità di O_2 per la respirazione mitocondriale con la necessità di evitare l'inibizione della nitrogenasi. La tensione di ossigeno ha anche un ruolo regolativo contribuendo ad abbassare la trascrizione dei geni che codificano la nitrogenasi.

AGROBACTERIUM

Agrobacterium tumefaciens è l'agente etiologico del tumore del colletto, malattia che colpisce un gran numero di dicotiledoni a foglia larga, e che prende il nome dal grosso rigonfiamento, simile ad un tumore (galla) che si forma al colletto della pianta, subito al disopra del suolo. Per quanto riduca il valore commerciale delle piantine nei vivai, la malattia non causa seri danni alle piante più vecchie. Ciò nonostante è una delle malattie vegetali più note, grazie alle peculiarità del meccanismo biologico.

Il batterio trasferisce alla pianta parte del proprio DNA che si integra nel genoma della



cellula ospite, provocando l'esocrescita delle galle e le modificazioni metaboliche che l'accompagnano. Questo meccanismo d'azione ha fatto di *A. tumefaciens* uno strumento prezioso

non solo per l'ibridazione, ma anche per la creazione di piante geneticamente modificate. *A. tumefaciens* è comune sulle superfici delle radici e nei loro dintorni (la rizosfera) dove vive utilizzando nutrienti

rilasciati dalle radici stesse e infetta solo in presenza di ferite (naturali o causate da procedimenti di coltivazione). La maggior parte dei geni coinvolti nella formazione del tumore risiede su un grande plasmide (plasmide Ti, tumour-inducing). *A. tumefaciens* è attratto verso i siti delle ferite da un processo di chemiotassi provocata da un particolare composto fenolico (acetosiringone) rilasciato dalla radice ferita. I ceppi con il plasmide Ti riconoscono l'acetosiringone anche a basse concentrazioni (10^{-7} Molare) ma, se la concentrazione è più elevata (10^{-5} e 10^{-4} Molare), il composto attiva i geni di virulenza (vir) che sono sul plasmide e che coordinano il processo di infezione. Una porzione del plasmide Ti (T-DNA= Transferred DNA) si excide dal batterio, entra nella cellula vegetale grazie a un sistema di secrezione di tipo IV [cnfr: interazioni con i patogeni] e ne guida il funzionamento, provocando la formazione del tumore e la produzione di composti (opine e agrocinopine) che solo *Agrobacterium* è in grado di utilizzare come nutrienti.

INTERAZIONI MICRORGANISMI-INVERTEBRATI

Le interazioni tra microrganismi e invertebrati sono moltissime; ne discuteremo in dettaglio due, una positiva (*Euprymna scolopes/Vibrio fischeri*) e una negativa per gli invertebrati (*Bacillus thuringiensis*/larve di lepidotteri).

VIBRIO-CALAMARO

Una delle simbiosi più note tra un batterio e un organismo invertebrato, è quella tra il calamaro *Euprymna scolopes* che vive in acque basse nei mari delle Hawaii e caccia di notte.



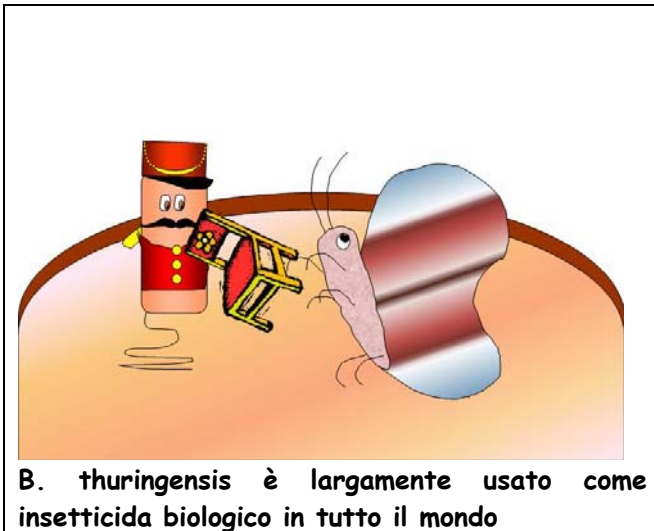
La sua sagoma scura sarebbe un indizio sicuro per i predatori, ma *Euprymna* ospita in un organo particolare (organo luminoso) un batterio simbiote luminescente: *Vibrio fischeri*.

Il debole chiarore emesso dal *Vibrio* mimetizza il calamaro, facendolo apparire simile alla luce che filtra nell'acqua dal cielo stellato. Nell'organo luminoso, *V. fischeri* si trova in coltura pura: viene infatti "selezionato" dal calamaro per mezzo dell'affinità per un gel mucoso che solo *V. fischeri* e poche altre specie riescono ad attraversare. All'interno dell'organo luminoso il calamaro secerne poi una mieloperossidasi (simile all'enzima che uccide i patogeni all'interno dei globuli bianchi umani) fatale per la maggior parte dei batteri ma non per *V. fischeri* che è il solo "ammesso" nell'organo luminoso. *V. fischeri* è in grado di svolgere vita libera (ma in questo caso non è luminescente), e i vantaggi che trae dall'associazione con il calamaro stanno probabilmente nella amplificazione indisturbata della popolazione e nella possibilità di trasporto offerti dal calamaro.

Le cellule batteriche producono luce solo quando si trovano all'interno dell'organo luminoso, dove possono raggiungere una elevata concentrazione. Questo accade perché il gene della luciferasi è regolato da un sistema di tipo "Quorum sensing" (la risposta QS è stata scoperta

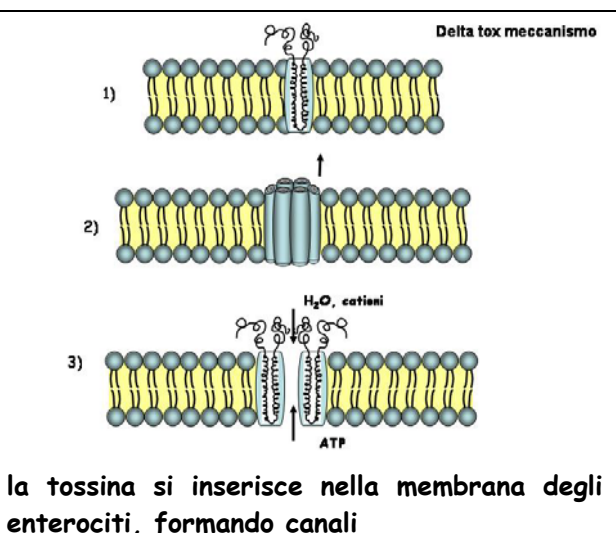
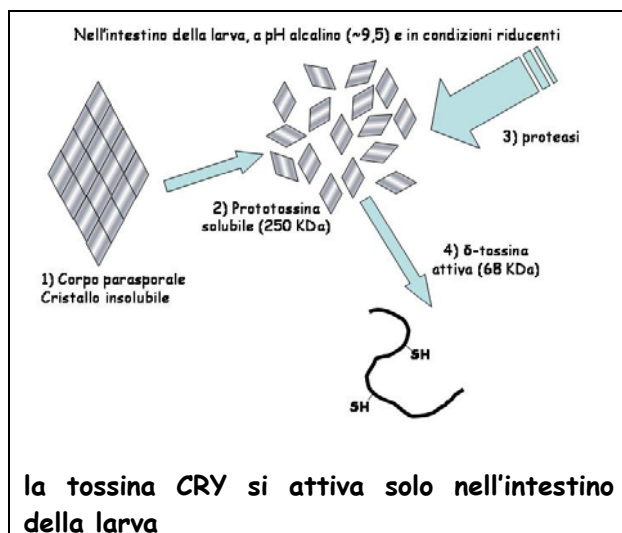
proprio grazie al fenomeno della chemiluminescenza di *V. fischeri*). La densità della popolazione di *Vibrio* all'interno dell'organo luminoso è regolata attivamente dal calamaro, che espelle regolarmente aliquote di batteri, durante il giorno, mediante contrazioni dell'organo luminoso.

BACILLUS THURINGENSIS - LARVE DI LEPIDOTTERI



Scoperto nel 1911 come patogeno della tignola della farina in Turingia (Germania), *Bacillus thuringiensis* è alla base di insetticidi microbici, usati in tutto il mondo per il controllo di parassiti delle piante, in particolar modo larve di lepidotteri. Nelle cellule, oltre alla spora (il genere *Bacillus* è composto di specie aerobie, capaci di formare endospore), sono presenti cristalli

(corpi parasporali). I cristalli sono aggregati di una prototossina (che deve essere attivata per



acquistare attività biologica e diventare tossina). La proteina cristallizzata è fortemente insolubile in condizioni normali, così da essere sicura per l'uomo, gli animali superiori e la maggior parte degli insetti. Viene tuttavia solubilizzata in condizioni riducenti (anaerobiosi) a pH elevato (sopra 9,5) - queste condizioni sono quelle normalmente presenti nell'intestino delle larve dei Lepidotteri; per questo motivo *B. thuringiensis* è altamente specifico. Una volta solubilizzata, la proteina viene tagliata da una proteasi dell'ospite e dà origine ad una tossina di circa 60kD, chiamata delta-tossina.

La tossina si lega alle cellule epiteliali intestinali e determina la formazione di pori nelle membrane cellulari; di conseguenza la concentrazione ionica all'esterno si equilibra con quella all'interno dell'intestino. L'intestino si immobilizza ed il pH interno si abbassa, raggiungendo valori pari a quelli del sangue. In questa nuova situazione le spore germinano e le forme vegetative invadono la larva, provocando una setticemia fatale.

La delta-tossina ha tre domini: il dominio I (un fascio di alfa eliche) ha la funzione di inserirsi nella membrana delle cellule intestinali, formando dei pori che permettono il passaggio libero di ioni. Il dominio II, costituito da tre foglietti beta, è deputato a legarsi al recettore, mentre il dominio III è formato da foglietti beta, strettamente impaccati, che proteggono l'estremità carbossiterminale della tossina attiva da ulteriori azioni delle proteasi intestinali. Le tossine Cry sono codificate da geni plasmidici e in un singolo ceppo possono coesistere anche 5 o 6 plasmidi differenti, che codificano tipi di tossina diversi e possono essere scambiati per coniugazione. Le possibili combinazioni di varietà di tossina sono quindi molto ampie, e la presenza di trasposoni nel genoma aumenta ancora le possibilità di ricombinazione.

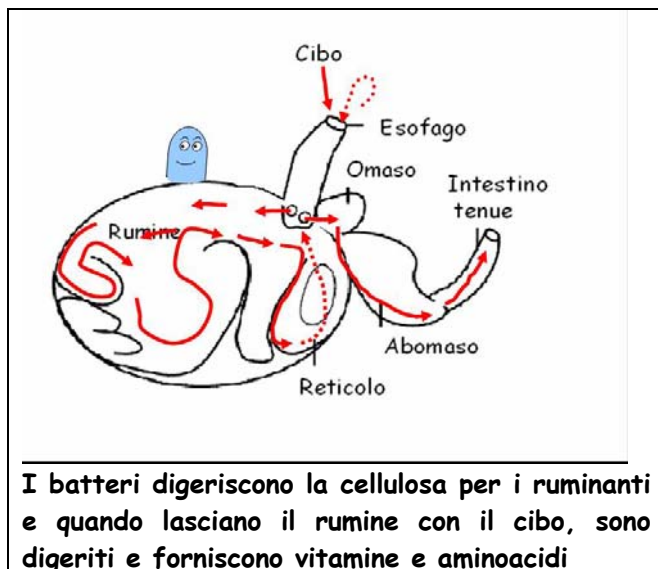
ASSOCIAZIONE MICRORGANISMI-VERTEBRATI

L'associazione eucariota-procariota che possiamo osservare oggi, è frutto di una lunga evoluzione. I batteri erano già evoluti nella loro complessità metabolica nel momento in cui piante ed animali cominciarono ad apparire e hanno quindi colonizzato gli eucarioti nel corso di tutta la storia evolutiva di questi ultimi. Le capacità peculiari dei batteri che possono venire utilizzate dagli eucarioti, sono soprattutto due: l'azoto fissazione e l'idrolisi della cellulosa. La prima capacità è utilizzata soprattutto dalle piante, con cui gli azoto-fissatori entrano in relazione come ecto o endo-simbionti. Gli animali non traggono vantaggio in genere da questa proprietà, tanto che fenomeni di azoto-fissazione sono stati osservati solo nell'intestino delle termiti e di umani la cui dieta sia molto ricca in carboidrati. La capacità di idrolizzare la cellulosa manca negli animali evolutivamente superiori ai molluschi (con l'unica eccezione del *Lepisma lineata*) e quindi si sono instaurate simbiosi mutualistiche con batteri e protozoi cellulosolitici, a causa dell'abbondante contenuto in cellulosa di molti alimenti.

Negli erbivori, sia vertebrati sia invertebrati, il tratto intestinale è modificato (allungato), rispetto a quello degli omnivori e dei carnivori, per favorire l'insediamento dei microrganismi, provvedendo così ad una specie di "contenitore" per le fermentazioni procariotiche.

LA SIMBIOSI NEL RUMINE

I ruminanti, come gli altri mammiferi, non sono in grado di digerire la cellulosa, hanno sviluppato quindi una ectosimbiosi con dei microrganismi, che permette loro di vivere con una dieta in cui la fonte principale di carboidrati è la cellulosa. Il tratto digerente di un ruminante

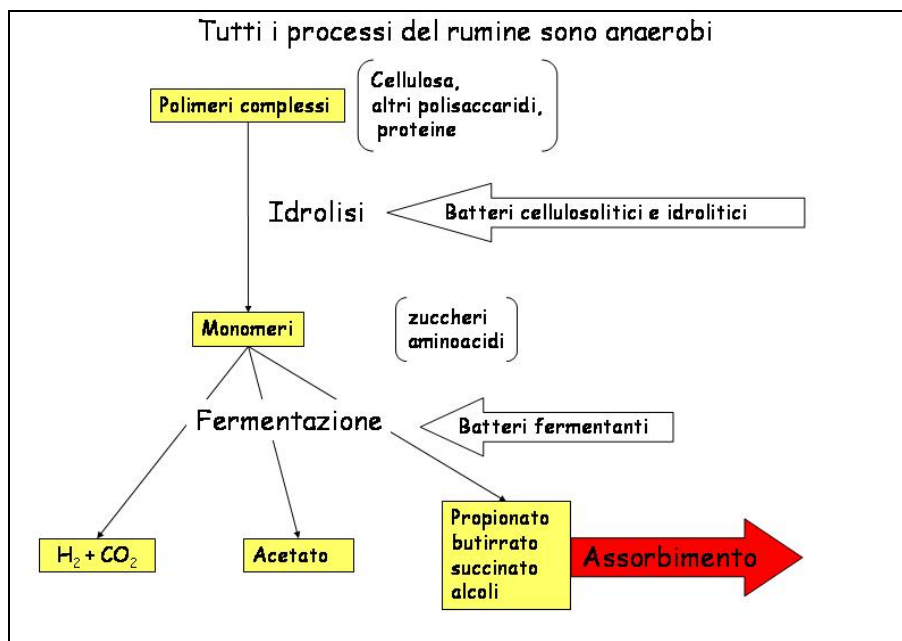


contiene quattro stomaci successivi: i primi due formano il rumine e sono ampie camere di fermentazione. Il materiale vegetale ingerito si mescola con la saliva e passa nel rumine dove è rapidamente attaccato da batteri e protozoi (10^{10} cellule/ml). I protozoi (per la maggior parte ciliati) hanno un ruolo importante non solo per la degradazione dei prodotti della cellulosa, ma anche come predatori dei batteri, di cui mantengono

controllata la popolazione. La saliva non contiene enzimi digestivi; si tratta semplicemente di una soluzione diluita di sali (carbonato e fosfato di sodio) che provvede una buona base nutritiva per i microrganismi del rumine. In ogni millilitro del contenuto del rumine sono presenti circa $1-5 \times 10^{10}$ batteri, 1 milione di protozoi ed un numero variabile di lieviti e funghi.

L'ambiente del rumine è anaerobio; i microbi fermentanti interagiscono l'un l'altro e si supportano in una complessa rete trofica in cui i prodotti di scarto di una specie possono servire come nutrienti per altre specie.

Classificandoli i microrganismi in gruppi a seconda dell'utilità nel rumine, si trovano: batteri cellulosolitici; emicellulosolitici (degradano la emicellulosa); amilolitici (digeriscono amido), proteolitici; saccarolitici (che utilizzano zuccheri-mono e disaccaridi); batteri che utilizzano come substrati gli acidi lattico, succinico, malico (prodotti di altre fermentazioni); batteri che producono ammoniaca, batteri che sintetizzano vitamine, e microrganismi metanogeni.

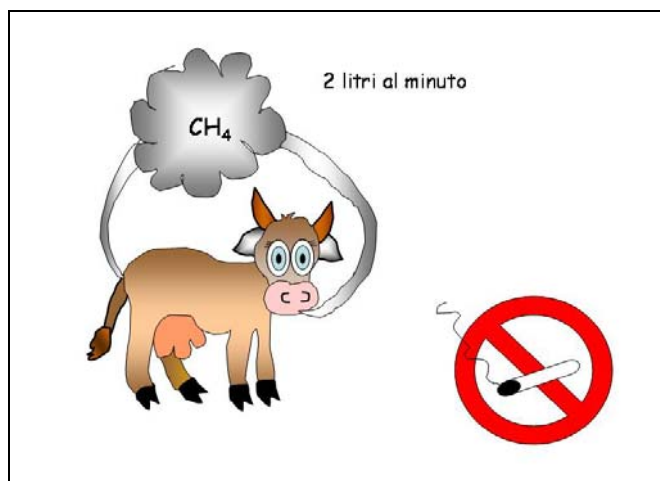


Tutti i processi che avvengono nel rumine sono anaerobi. Il materiale vegetale è costituito soprattutto da cellulosa, pectina e amido, insieme a peptidi e lipidi. La percentuale di batteri cellulolitici nel rumine è compresa tra 1 e 5%; e le specie più rappresentate

sono *Bacteroides succinogenes* e *Ruminococcus*, entrambe anaerobie. Il processo digestivo inizia con la degradazione delle macromolecole polimeriche, e l'idrolisi della cellulosa è svolta da cellulasi extracellulari che la degradano a cellobiosio e glucosio..

Altri microrganismi fermentano rapidamente sia il glucosio che il cellobiosio, producendo acetato, acidi grassi (propionico, butirrico) e gas (idrogeno e CO_2).

Gli acidi grassi vengono assorbiti attraverso le pareti del rumine e passano nel sangue giungendo ai vari organi, dove vengono utilizzati nella respirazione cellulare; solo una piccola percentuale viene riconvertita in idrogeno, anidride carbonica e acetato dalle specie sintrofiche. La popolazione microbica del rumine aumenta rapidamente e le cellule microbiche passano nelle regioni inferiori dell'apparato digerente insieme al materiale vegetale ancora indigerito. Il rumine non produce enzimi digestivi, ma nel tratto inferiore dello stomaco



vengono prodotte proteasi che uccidono e digeriscono i microrganismi che vi giungono con il cibo. I composti azotati e le vitamine che ne derivano vengono assorbiti dal ruminante.

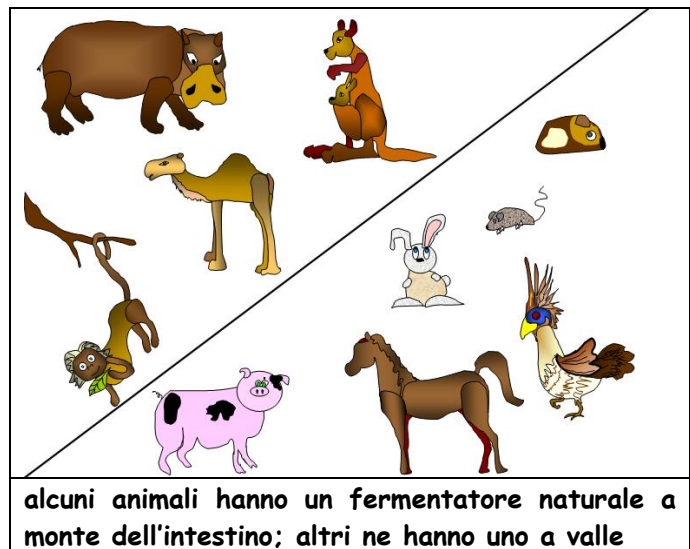
Nel rumine idrogeno, acetato e CO_2 sono trasformati in CH_4 dalle specie metanogene (*Methanobrevibacter ruminantium*).

Secondo alcuni studi, l'alito e le flatulenze

del bestiame producono un quarto delle emissioni globali di metano, uno dei gas responsabili dell'effetto serra.

E' stato proposto di limitare questo problema, senza far ricorso a farmaci, correggendo la dieta degli animali con il batterio *Brevibacillus parabrevis*, che può convertire il metano prodotto nel rumine, dove avviene il processo digestivo, in CO_2 , 21 volte meno dannosa del metano e più facilmente riutilizzabile da altri microrganismi. Test preliminari hanno dimostrato che l'aggiunta di 10 grammi di *B. parabrevis* alla dieta regolare di tre pecore, ha ridotto di circa $\frac{1}{4}$ l'emissione di metano.

Una struttura simile al rumen-reticolo, con il "fermentatore naturale" posto a monte dell'intestino si trova nei camelidi, negli ippopotami, nei canguri, nelle scimmie che si nutrono di foglie. In altri casi invece la fermentazione ha luogo a valle dell'intestino, in allungamenti o sacche cieche presso la fine del tratto intestinale. Questa disposizione si trova, in cavalli, maiali, ratti, conigli e cavia e in un uccello che si nutre di foglie ("hoazim") e la resa energetica è meno efficiente.



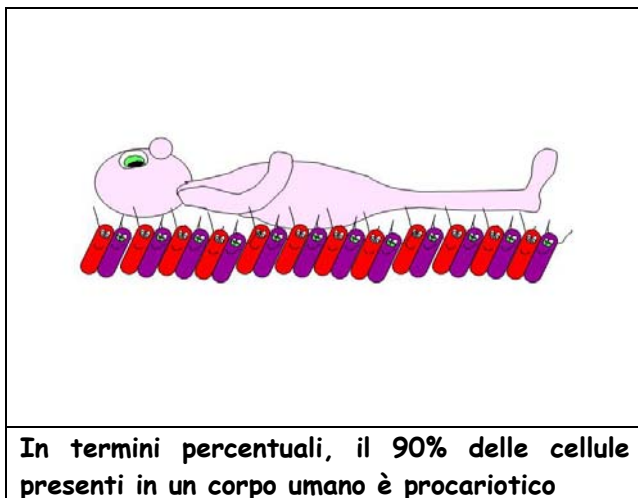
IL MICROBIOTA NORMALE DEL CORPO UMANO

Gli eucarioti forniscono ai microrganismi una notevole varietà di possibili ambienti, tanto che, nel corso dell'evoluzione, si sono create relazioni più o meno strette tra eucarioti e batteri.

	numero di microrganismi/ grammo di tessuto o cm ² di superficie
	1) cuoio capelluto 10^5 - 10^6
	2) occhi (protetti) <10 - 10^3
	3) cavo orale 10^9
	4) intestino tenue 10^5 - 10^6 (lattobacilli enterococchi)
	5) intestino crasso 10^9 - 10^{11} (pH alcalino, Gram-negativi)
	6) cute secca 10^3
	7) cute umida 10^6 - 10^7

Queste interazioni sono in genere di commensalismo o in qualche caso mutualismo. Nei casi di mutualismo il vantaggio per l'eucariota è evidente; in altri casi può non essere apparente ma è reale se si considera che i microrganismi colonizzatori rappresentano una protezione nei confronti di specie patogene di cui ostacolano l'attecchimento. Un esempio di batteri commensali può essere quello delle specie saprofite che risiedono nell'orecchio o sui genitali. Un esempio di una relazione simbiotica positiva è quella della comunità microbica che riceve nutrimento e riparo nell'intestino e che produce vitamina K e vitamine del complesso B, che vengono assorbite e fanno parte della nutrizione umana. In qualche caso alcuni microrganismi possono diventare pericolosi in situazioni particolari: si definiscono specie opportuniste. *Staphylococcus aureus* può essere indicato come un esempio di opportuniste: normalmente presente nel naso e nella gola di più del 50% della popolazione, può approfittare di altre malattie, di interventi chirurgici o di depressione delle difese immunitarie, per invadere i tessuti e comportarsi da patogeno.

La quantità di microrganismi presenti sul corpo umano è sbalorditiva: una persona "media" ha circa 10^{13} cellule proprie, 10^{14} cellule batteriche nell'intestino e 10^{11} cellule batteriche sulla pelle. Aree colonizzate da specie saprofite sono: il tratto respiratorio superiore (stafilococchi, streptococchi alfa-emolitici, micrococchi, *Neisserie* saprofite..), il primo tratto



dell'uretra, la vagina (lattobacilli, che ne mantengono il pH acido), il meato uditivo esterno; alcuni microrganismi sono normalmente presenti anche sulla congiuntiva, dove il loro numero viene tenuto sotto controllo dalle lacrime che contengono lisozima (ad azione antibatterica) e svolgono un'azione costante di detersione meccanica. Le aree più densamente colonizzate sono intestino e cute.

INTESTINO: Il tratto gastro-enterico umano comprende: il cavo orale, l'esofago, lo stomaco, l'intestino tenue, il ceco, il crasso. Ognuno di questi segmenti può essere ulteriormente suddiviso in ecosistemi differenti (es epiteli, lume, cripte).

Nel cavo orale e si trovano molte specie sia aerobie che anaerobie; lo stomaco, a causa del pH acido non è popolato da microrganismi colonizzatori. Nell'intestino superiore, i microrganismi

sono pochi (soprattutto lattobacilli e enterococchi) ma man mano che il pH del contenuto intestinale si alcalinizza aumentano fino a raggiungere una densità di 10^{11} per grammo di feci e sono soprattutto Gram-negativi. *E. coli* rappresenta circa l'1% della popolazione che è costituita prevalentemente da anaerobi (*Bacteroides* e altri). Il processo di colonizzazione del tratto intestinale avviene mediante una normale successione di specie e nell'età infantile, anche in correlazione al tipo di alimentazione; i microrganismi stanziali mantengono livelli di colonizzazione più o meno costanti e possono essere intimamente associati alle cellule epiteliali nell'area colonizzata.

Le osservazioni sull'effetto protettivo della flora intestinale contro i patogeni è stato all'origine degli studi sull'impiego di microrganismi probiotici (bifidobatteri e lattobacilli) come additivi per gli alimenti.

CUTE: la cute umana è un ambiente omogeneo rispetto alla temperatura ma il tasso di umidità è variabile e definisce ambienti differenti dove si trovano specie diverse. L'acqua disponibile, infatti, rappresenta il fattore abiotico più importante nel limitare la quantità di flora presente. Se si occlude un'area della cute dell'avambraccio (secca) con un cerotto a tenuta, nel giro di 4 giorni la popolazione microbica passa da 3×10^3 a 3×10^8 cellule batteriche /cm². Le densità microbiche più alte si hanno nel cavo ascellare, che è la zona maggiormente umida. Tra le specie stanziali si possono citare micrococchi, stafilococchi streptococchi, difteroidi e micobatteri saprofiti. Il nutrimento per i batteri è fornito dal sebo. I microrganismi che risiedono nelle ghiandole sebacee e nei follicoli di peli e capelli non possono essere raggiunti con la normale pulizia, e provvedono al rapido ripopolamento delle aree, immediatamente dopo la detersione.

ANIMALI GERM-FREE

Molte informazioni sull'importanza e sul significato della comunità microbica si sono potute ottenere facendo nascere animali in sterilità (con parto cesareo o sterilizzando il guscio dell'uovo prima della schiusa) in modo che non fossero colonizzati alla nascita, e facendoli crescere in camere sterili, con cibo sterilizzato. Animali nati e allevati con questa tecnica si dicono "germ free". E' stato possibile osservare che hanno difese immunitarie meno efficienti, stati di avitaminosi che devono essere bilanciati con la dieta, processi digestivi più lenti e meno efficienti.

Animali germ-free possono essere fatti colonizzare sperimentalmente con una specie batterica, in modo da studiare le interazioni senza interferenze da parte di altre specie microbiche; in questo caso vengono definiti GNOTOBIOTICI. Lo studio su animali gnotobiotici, per esempio, ha permesso di dimostrare l'importanza di *Streptococcus mutans* e di una dieta a elevato tenore zuccherino nel causare la carie dentaria.

L' INTERAZIONE PATOGENO-OSPITE

Definire in modo chiaro e univoco in cosa consista il potere patogeno di un microrganismo è sempre stato difficile e questo argomento è stato oggetto di lunghi dibattiti.

Le prime definizioni della patogenicità la consideravano attributo esclusivo del microrganismo. Ci si basava sull'assunto che il potere patogeno fosse l'espressione di caratteristiche intrinseche del ceppo batterico, anche se si riconosceva che esso potesse essere variabile o modulato.

Il primo tentativo sistematico di stabilire delle regole che servissero a definire il ruolo di un microrganismo come causa di malattia risale ai celeberrimi "postulati di Koch" enunciati nel corso di una presentazione al 10° Congresso Internazionale di Medicina di Berlino nel 1890.

I "POSTULATI DI KOCH"
1. Il parassita si ritrova in tutti i casi di una determinata malattia, in circostanze tali da far ritenere che esso sia responsabile delle alterazioni patologiche e del decorso clinico della malattia.
2. Il parassita non si ritrova in altre malattie come parassita non patogeno.
3. Dopo il suo isolamento dal malato e ripetuti passaggi in vitro, il parassita deve riprodurre la malattia, se inoculato.

Se tali condizioni vengono soddisfatte, diceva Koch, "la presenza del parassita nel corso della malattia non può essere più ritenuta accidentale e non si può riconoscere altra relazione tra microrganismo e malattia che non quella che il parassita è la causa della malattia". Esiste anche un quarto "postulato" (circa la necessità di isolare nuovamente il microrganismo dall'animale infettato sperimentalmente) che sembra tuttavia essere stato aggiunto in seguito da altri ricercatori. Per malattie come la tubercolosi questi criteri rigidi furono molto utili, ma lo stesso Koch constatò che alcuni casi non rientravano nelle regole enunciate. Colera e lebbra, per esempio, sono causati da microrganismi specifici facilmente individuabili ma V.

cholerae può essere isolato anche da soggetti sani, venendo meno al secondo postulato, e *M. leprae*, ancor oggi non coltivabile in vitro, non soddisfa il terzo.

Anche teorie più recenti hanno continuato a focalizzarsi sulla capacità di un ceppo a causare malattie, supportate in questo anche dalla constatazione, ottenuta attraverso il sequenziamento sistematico dei genomi, che i microrganismi patogeni possiedono fattori di virulenza unici, che permettono loro di stabilirsi nell'ospite, a differenza di quelli non patogeni. L'idea della responsabilità unica del batterio viene rafforzata dall'esistenza delle "isole di patogenicità" segmenti discreti del cromosoma che racchiudono molti geni necessari alla virulenza. Per quanto i dati molecolari mettano in evidenza l'indubbia esistenza di diverse potenzialità e gradi nel potere patogeno dei batteri, è necessario tuttavia completare la definizione del potere patogeno sulla base di altre considerazioni. In aree del mondo caratterizzate da condizioni sanitarie carenti, sovraffollamento, miseria e limitato o inesistente accesso alle cure mediche, le malattie infettive continuano a provocare morbidità e mortalità in individui con uno stato immunitario "normale". Al contrario, nei paesi industrializzati, la mortalità provocata da malattie infettive è molto diminuita grazie al miglioramento dell'igiene, alle campagne di vaccinazione, alle cure mediche disponibili. Sfortunatamente alcuni progressi medici hanno anche provocato nuovi problemi: i trapianti di organo, la chirurgia invasiva, l'impianto di protesi e l'uso di terapie immunosoppressive hanno prolungato la sopravvivenza per alcune malattie ma hanno anche creato categorie di individui con un sistema immunitario compromesso, facilmente aggredibili anche da parte di microrganismi precedentemente considerati saprofiti. Il progresso medico e il virus HIV hanno provocato un marcato aumento delle infezioni da parte di microrganismi normalmente inoffensivi per ospiti con un normale stato immunitario. Al giorno d'oggi, microrganismi commensali sono causa frequente di malattia e morte in individui con una vasta gamma di anomalie nella risposta immune. Queste infezioni, causate da microrganismi "saprofiti" si conciliano male con la teoria della patogenesi microbo-centrica. È stata quindi proposta una nuova definizione, basata sul risultato dell'interazione tra patogeno e ospite, espresso come danno provocato.

LA TEORIA DEL "DANNO"

Le interazioni ospite-patogeno sono riconducibili a due categorie: quelle in cui l'ospite subisce un danno e quelle in cui questo non succede. Il termine danno comprende sia i danni a livello

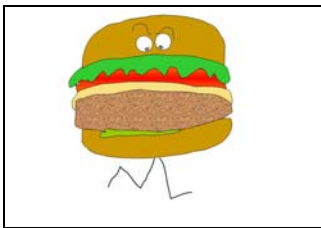
cellulare e tissutale (necrosi, apoptosi, trasformazioni maligne) sia i danni d'organo (infiammazione granulomatosa, fibrosi provocata da un'infiammazione prolungata, tumori). Il danno può essere mediato dalle attività del patogeno e/o dalle risposte dell'ospite e, in molte malattie infettive, la natura e l'estensione del danno subito dall'ospite dipendono dallo stato immunitario dell'ospite stesso. In individui con un sistema immunitario debole il danno è causato principalmente dal patogeno; in individui con risposte immunitarie molto forti il danno è provocato soprattutto dall'ospite. In molte interazioni patogeno-ospite che si verificano in individui con risposte immunitarie "normali" c'è un continuum tra il danno mediato dal patogeno e quello mediato dall'ospite e la malattia si verifica solo quando l'entità del danno altera le normali funzioni dell'individuo.

Sulla base di queste considerazioni è possibile dividere i patogeni in sei distinte categorie, rappresentate attraverso grafici in cui l'entità del danno si colloca sull'asse delle ascisse e lo stato immunitario su quello delle ordinate.

CLASSE 1: microrganismi dotati di scarso potere patogeno intrinseco, che causano danno solo se le risposte immunitarie dell'ospite sono deboli. I microrganismi di classe 1, di solito considerati opportunisti o commensali, sono associati a malattie solo in individui con funzioni immunitarie insufficienti e non provocano infezioni sintomatiche in individui con uno stato immunitario normale. Un esempio è quello di *Legionella pneumophila*, che provoca la malattia del legionario solo in individui compromessi.

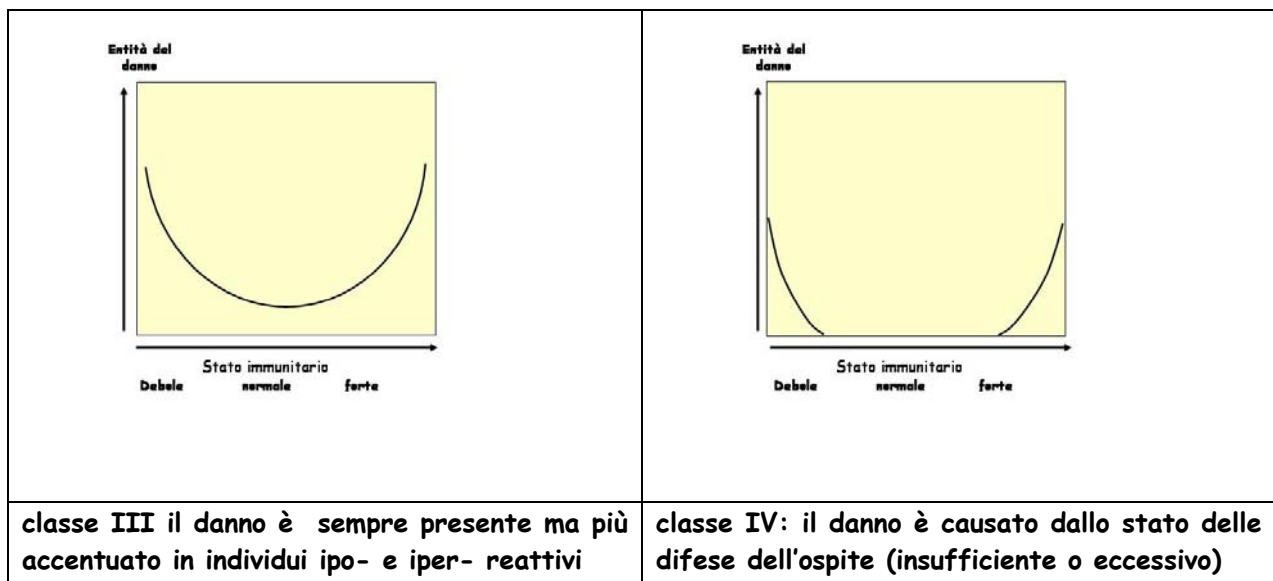
CLASSE 2: provocano danno in individui con immunità debole o normale ma non superano difese immunitarie forti. Questi microrganismi possono provocare malattie serie in individui normali, ma la gravità della patologia è maggiore per individui con difese insufficienti. La capacità di provocare malattia in individui normali è indice di una predisposizione intrinseca a evadere le difese immunitarie. Un esempio di questa categoria è *Streptococcus pneumoniae*, agente di polmoniti gravi in individui normali e di infezioni ad alta percentuale di mortalità in bambini, anziani o persone con disordini del sistema immunitario. Un sottoinsieme che può essere collocato in questa categoria è quello dei batteri tossigenici come, ad esempio, *Corynebacterium diphtheriae*, o *Clostridium tetani*. Il danno, in questi casi, è provocato dalle tossine; a differenza di quanto accade con gli altri microrganismi di classe 2, la curva che descrive il danno è piatta, perché le quantità di tossina sono così basse e l'azione tanto rapida, da non provocare praticamente reazione da parte del sistema immunitario.

CLASSE 3: provocano danno in individui normali, ma un danno più pronunciato agli estremi dello stato immunitario. Il danno provocato dai microrganismi della classe tre può essere mediato



dal patogeno (in individui con immunità debole o normale) o dalla violenta reazione infiammatoria dell'ospite se la risposta immunitaria è imponente. A questa classe appartiene il sierotipo O157:H7 di *Escherichia coli*, che provoca diarrea in individui normali, diarrea grave in individui con immunità insufficiente e la sindrome uremico-emolitica (HUS) se al danno provocato dal patogeno si associa quello provocato da una forte reazione dell'ospite.

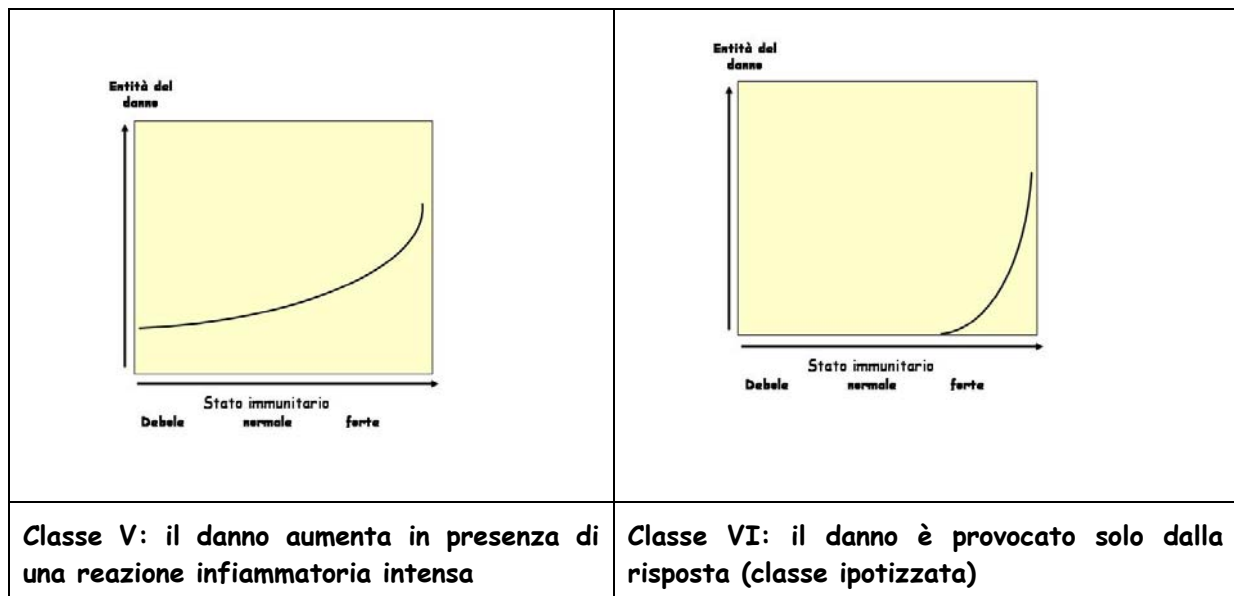
CLASSE 4: questi microrganismi provocano danno solo ai due estremi dello stato immunitario. Si tratta di poche specie, con una bassa virulenza intrinseca, che li rende capaci di aggredire solo ospiti con immunità compromessa, ma che possono provocare una violenta reazione infiammatoria (che provoca danno) in individui con risposta immunitaria molto pronunciata.



Un esempio può essere quello di *Aspergillus fumigatus* che causa l'aspergillosi invasiva (danno causato dal patogeno) in pazienti neutropenici (carenti in leucociti neutrofili) o con insufficiente funzionalità dei granulociti ma che può provocare invece sinusiti allergiche o aspergillosi broncopulmonari in individui reattivi (in questo caso il danno è causato dalla risposta immune dell'ospite).

CLASSE 5: sono patogeni capaci di causare danno comunque, ma la cui azione è favorita da una risposta immune intensa.

I microrganismi inclusi in questa classe provocano infezioni in cui il danno è causato dal patogeno, ma che sono associate con un danno protratto o addirittura cronico, se la risposta immune è eccessiva o inappropriata. Tra i microrganismi di questa classe si possono elencare patogeni enterici come *Shigella* o *Campylobacter*, che di norma provocano malattie gastroenteriche autolimitanti, causate dal danneggiamento della mucosa intestinale ad opera di fattori batterici, o da infiammazione intestinale provocata dalla risposta dell'ospite in stimolata dal patogeno. Per quanto queste infezioni possano essere di notevole gravità in individui con difese immunitarie insufficienti, la maggior parte di esse si risolve senza danni permanenti per il tratto intestinale o altri tessuti. Tuttavia, individui con un particolare background genetico (es quelli con antigene di istocompatibilità HLA-B27) sono esposti ad un elevato rischio di sviluppare una forma di poliartrite.



CLASSE 6: microrganismi che causano danno solo in presenza di una risposta immune pronunciata. Si tratta di una categoria pressoché virtuale, che non definisce in pieno nessuno dei patogeni noti. É stata definita per includere una crescente lista di malattie, che si ritiene probabile siano causate da una risposta immunitaria abnorme alla presenza di qualche microrganismo. *Helicobacter pylori* potrebbe corrispondere ai requisiti di questa categoria: l'infezione che causa è spesso asintomatica, ma alcuni individui sviluppano una forma di gastrite cronica o un'ulcera peptica. Dal momento che nessuna delle due affezioni è associata con uno stato immunitario insufficiente, si ritiene che sia in realtà la risposta infiammatoria di ospiti predisposti a determinare lo sviluppo dell'ulcera.