



INSERTO

# lab

- **Biofilm nell'industria alimentare, i mezzi per contrastarli** ..... 72
- ***Pseudomonas aeruginosa*, il batterio che sopravvive nei biofilm anche quando l'ossigeno scarseggia** ..... 76



72

# Biofilm nell'industria alimentare, i mezzi per contrastarli

*I biofilm rappresentano una delle principali problematiche nelle industrie alimentari. Per approfondire l'argomento "LAB" ha intervistato Antonello Paparella, Prof. Ordinario di Microbiologia alimentare e Preside della Facoltà di Bioscienze e Tecnologie agroalimentari e ambientali presso l'Università degli Studi di Teramo, e Chiara Rossi, PhD e Ricercatore del gruppo di lavoro di Antonello Paparella.*

a cura di Giovanni Abramo  
Biologo



**I** microrganismi sono in grado di sviluppare particolari tecniche di sopravvivenza, aderendo alle superfici di lavoro e ricoprendosi di matrice esocellulare polimerica come protezione.

Circa il 90% dei microrganismi noti, infatti, vive in comunità dette biofilm, una forma di colonizzazione che i batteri hanno sviluppato si pensa più di 3 miliardi di anni fa. Non tutti i batteri hanno la stessa capacità di formare biofilm. Questa capacità dipende principalmente da un'attitudine specifica (che può essere elevata, moderata e lieve), dalle condizioni ambientali e dalle caratteristiche delle superfici di lavorazione.

**lab: Cos'è un biofilm? In genere, dove si forma e perché?**

**Antonello Paparella:** Il biofilm è costituito da una comunità di microrganismi adesa a una superficie, biotica o abiotica, immersa in una matrice autoprodotta, composta da sostanze polimeriche extracellulari. L'adesione dei microrganismi e la formazione del biofilm da parte di essi riveste un importante ruolo nella sopravvivenza microbica in condizioni di stress ambientale. Infatti, i microrga-

nismi associati al biofilm possono acquisire protezione fisica, meccanica e chimica, aumentando la loro probabilità di sopravvivenza. I biofilm si possono ritrovare su svariate superfici, dalle industrie alimentari (attrezzature, utensili, alimenti) alle strutture mediche (dispositivi medici, arredi ospedalieri, tessuti e organi umani), fino alle condotte idriche e di ventilazione.

**lab: Nel caso di impianti e strumentazioni impiegati nelle produzioni di alimenti, quali sono i microrganismi maggiormente coinvolti nella formazione di biofilm?**

**Chiara Rossi:** Tra i microrganismi Gram negativi, *Pseudomonas* spp., oltre alla capacità di produrre enzimi e pigmenti, è nota per la forte capacità di aderire e formare biofilm sulle superfici a contatto con gli alimenti. Inoltre, è ampiamente documentata la presenza di microrganismi patogeni, come *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp., in svariati ambienti di lavorazione. Tali microrganismi, grazie alla loro capacità di formare biofilm, resistono a condizioni non favorevoli.

**lab: Quali sono gli strumenti e gli esami di laboratorio per il monitoraggio?**

**Chiara Rossi:** Dopo un'accurata ispezione visiva delle superfici, si procede alla caratterizzazione e quantificazione del biofilm e dei microrganismi presenti, mediante l'utilizzo di diversi metodi. L'applicazione di tecniche microbiologiche richiede spesso il campionamento di una porzione di deposito o il tamponamento della superficie e una successiva analisi mediante osservazione microscopica, conteggio su piastra, analisi di biologia molecolare o saggi biochimici (ad esempio, misurazione dell'ATP mediante luminometro). Altre tecniche prevedono l'utilizzo di particolari sensori per la misurazione delle variazioni di calore, pressione, segnali elettrici e di frequenza, a seguito della formazione del biofilm.

**lab: In base alla sua esperienza, può confermare che nell'industria alimentare una mancata segnalazione o determinazione dell'eventuale formazione di biofilm può generare problemi? Quali?**

**Chiara Rossi:** La presenza di biofilm negli ambienti di trasformazione degli alimenti rappresenta una continua fonte di contaminazione per il



**Antonello Paparella** ha svolto attività di ricerca e manageriali in importanti aziende alimentari ed è attualmente Prof. Ordinario di Microbiologia alimentare presso la Facoltà di Bioscienze e Tecnologie agroalimentari e ambientali presso l'Università degli Studi di Teramo.

In precedenza, ha svolto incarichi governativi di responsabilità, come Commissario straordinario e Componente di importanti commissioni ministeriali.



**Chiara Rossi**, Dottore di Ricerca in Scienze degli Alimenti, lavora nel gruppo di ricerca del Prof. Antonello Paparella presso la Facoltà di Bioscienze e Tecnologie agroalimentari e ambientali dell'Università di Teramo, dove è attualmente ricercatrice.

prodotto, poiché i microrganismi alteranti e patogeni presenti sulle superfici possono contaminare gli alimenti con i quali entrano in contatto, causando problemi di carattere igienico-sanitario. La persistenza di biofilm inoltre, può comportare perdite economiche legate al deterioramento degli alimenti, alla riduzione dell'efficacia operativa di alcuni trattamenti tecnologici e alla corrosione delle apparecchiature.

In alcuni casi, ad esempio nelle macchine confezionatrici e nelle dosatrici, la formazione di biofilm può interessare parti non accessibili o non trattabili con i detergenti e rendere necessaria la sostituzione dell'intera macchina.

**lab: Per contrastare il biofilm, dunque, è fondamentale mettere in atto un adeguato programma di monitoraggio della sua presenza, procedere ai trattamenti straordinari di sanificazione e, non da ultimo, istruire adeguatamente il personale addetto a svolgere le procedure sanificatrici. Quali altri suggerimenti si sente di dare agli operatori del settore?**

**Chiara Rossi:** Sì, un efficace programma di pulizia e sanificazione che rimuove residui alimentari, corpi estranei e microrganismi è la strategia principale per il controllo della contaminazione delle superfici.

Tuttavia, le attrezzature e gli ambienti di lavorazione devono essere progettati tenendo conto di alcuni standard di progettazione igienica che riguardano sia la scelta dei materiali sia la presenza di angoli, fessure, guarnizioni e valvole, che sono i punti maggiormente vulnerabili per l'accumulo

del biofilm. Inoltre, in ogni reparto di produzione, è importante conservare un quadro preciso e aggiornato dei materiali e del tipo di attrezzature presenti e confrontarlo con la valutazione dei microrganismi indesiderati potenzialmente presenti, in modo da sviluppare un piano di sanificazione ordinaria e straordinaria capace di prevenire la formazione del biofilm e di preservare l'integrità dei materiali.

**lab: Cosa bolle in pentola nei laboratori di ricerca per far fronte a un problema come la formazione di biofilm?**

**Antonello Paparella:** Dato che la maggior parte dei microrganismi produttori di biofilm sta diventando sempre più resistente ai classici antimicrobici, nei laboratori di ricerca si stanno studiando alternative per inibire lo sviluppo del biofilm e/o rimuoverlo. Queste includono l'utilizzo di composti antimicrobici naturali, come gli oli essenziali ed estratti vegetali, agenti di biocontrollo, come batteriofagi e batteriocine, molecole in grado di inibire il complesso meccanismo del Quorum-Sensing, nanotecnologie, enzimi, plasma e luce pulsata. Inoltre, anche le modificazioni della morfologia e delle proprietà fisico-chimiche dei materiali attraverso il precondizionamento delle superfici e l'utilizzo di rivestimenti (coatings) sono un mezzo promettente per la prevenzione del biofilm.

Tali alternative stanno fornendo interessanti risultati e le informazioni raccolte potrebbero essere utili per una loro possibile applicazione nelle industrie alimentari.

# ***Pseudomonas aeruginosa*, il batterio che sopravvive nei biofilm anche quando l'ossigeno scarseggia**

*Com'è noto, le comunità batteriche organizzate in biofilm sono estremamente resistenti agli attacchi esterni. Tuttavia, quando tali comunità diventano troppo affollate, i livelli di ossigeno possono diminuire, cosa che rende più difficile la sopravvivenza dei batteri. Ma alcuni di essi, come *Pseudomonas aeruginosa*, un patogeno opportunisto che nell'uomo può essere responsabile anche di infezioni ad esito fatale, hanno sviluppato diverse tecniche per far fronte a simili condizioni avverse. Recentemente, però, è stata individuata la proteina che consente a *P. aeruginosa* di sopravvivere anche in condizioni di ipossia e che, quindi, rappresenta il suo "tallone di Achille", in quanto l'assenza o l'inibizione di tale proteina riduce le sue possibilità di sopravvivenza.*

**Gabriella Carcassola**

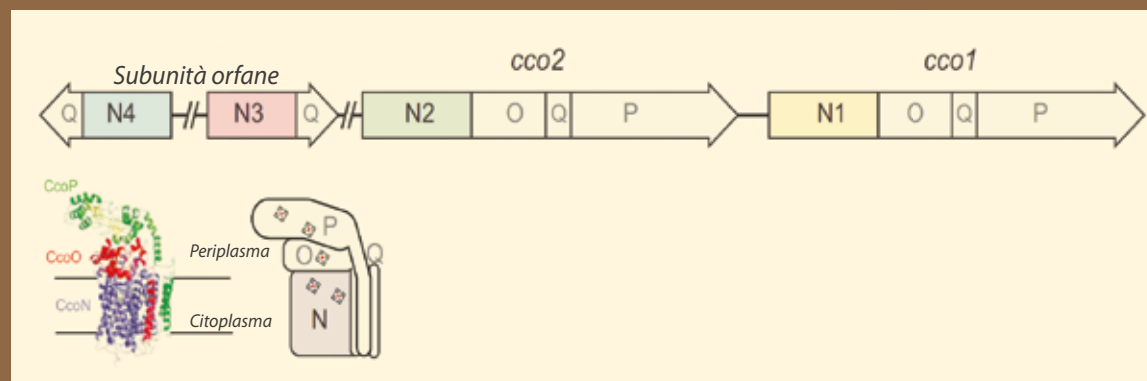
**Q**uando l'ossigeno è presente in quantità ridotta, come ad esempio in un biofilm, alcuni batteri, tra cui *Pseudomonas aeruginosa*, mettono in atto tutta una serie di accorgimenti per riuscire a sopravvivere. Ad esempio, possono avviare la produzione di enzimi in grado di utilizzare l'ossigeno con maggiore efficienza o di enzimi più efficaci nel recuperare il poco ossigeno disponibile.

Quando gli organismi, batteri compresi, producono energia, trasformano i nutrienti in piccole molecole, al fine di estrarne gli elettroni. Questi ultimi, successivamente, vengono trasportati lungo la membrana fino alla loro destinazione finale, una molecola di ossigeno. Studi di laboratorio su colture di *Pseudomonas aeruginosa* hanno dimostrato che, per completare il trasferimento di elettroni, questo patogeno opportunisto utilizza diversi tipi di enzimi, chiamati ossidasi, ma non solo. Infatti, *P. aeruginosa* può produrre alcuni composti, detti fenazine,

in grado di trasportare elettroni e compensare anche bassi livelli di ossigeno. Tuttavia, le condizioni che si creano all'interno di un biofilm possono essere sostanzialmente diverse da quelle di laboratorio e, fino a oggi, non era ben chiaro il ruolo delle diverse ossidasi nelle comunità di biofilm o come le fenazine riescano a far fronte alle condizioni di ipossia.

Per approfondire ulteriormente le conoscenze in tale ambito, i ricercatori del dipartimento di Scienze biologiche della Columbia University hanno studiato il comportamento di *P. aeruginosa* in un biofilm artificiale e nei nematodi<sup>1</sup>. I risultati hanno dimostrato che una parte specifica delle ossidasi che terminano le catene di trasportatori di elettroni (ossidasi terminali), nota come proteina CcoN4, è necessaria affinché *P. aeruginosa* possa sopravvivere in entrambi gli ambienti (biofilm e nematodi). Infatti, i batteri mutanti privi di tale proteina hanno dovuto "lottare" per poter sopravvivere. In più, i ricercatori hanno

Figura 1

Organizzazione dei geni *cco* nel genoma di *Pseudomonas aeruginosa*

La ricostruzione del complesso Cco è basata sulla struttura del Cco di *Pseudomonas stutzeri*.

osservato che in presenza di CcoN4 i batteri con CcoN4 sono in grado di fornire elettroni alle fenazine e che quindi questa proteina influenza il corretto funzionamento di tali molecole.

In questo studio, i ricercatori hanno dimostrato che il blocco delle ossidasi terminali che contengono CcoN4 può indebolire *P. aeruginosa* e, di conseguenza, anche la sua capacità di causare infezioni. Un altro aspetto interessante è che queste ossidasi sono presenti solo nei batteri, per cui possono diventare validi bersagli di eventuali farmaci, che avrebbero effetti collaterali minimi sul metabolismo dell'ospite. Si deve infatti ricordare che le infezioni da *P. aeruginosa* sono tra le principali cause di morte nei pazienti affetti da fibrosi cistica, una condizione genetica che colpisce i polmoni e tratto digerente. Quindi, una migliore comprensione di ciò che rende questo batterio così pericoloso può essere di notevole aiuto nell'individuazione di nuovi trattamenti per questi pazienti.

### **PSEUDOMONAS AERUGINOSA, UN BATTERIO GENETICAMENTE PARTICOLARE**

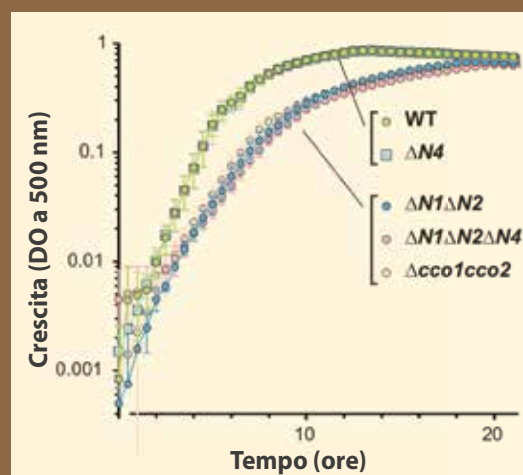
Il patogeno opportunisto *Pseudomonas aeruginosa*, in grado di colonizzare ospiti sia vegetali sia animali, è dotato di una catena respiratoria ramificata che riduce l'ossigeno molecolare ( $O_2$ ) in acqua e che utilizza 5 complessi di ossidasi terminali: 2 chinolo ossidasi - bo3 (Cyo) e *bd-type* Cyanide-Insensitive Oxidase (CIO) - e 3 citocromo-c ossidasi - aa3 (Cox), cbb3-1 (Cco1) e cbb3-2 (Cco2). Più in particolare, *P. aeruginosa* codifica due ossidasi appartenenti alla famiglia cbb3 (Cco1 e Cco2), enzimi noti per la loro

attività catalitica relativamente elevata in presenza di basse concentrazioni di ossigeno.

La maggior parte dei genomi batterici che codificano per le ossidasi cbb3 contengono un solo operone per un simile complesso, che viene indotto specificamente dalle condizioni di ipossia. In particolare, in *P. aeruginosa*, l'induzione dell'operone *cco2* avviene durante la crescita a basse concentrazioni di  $O_2$ , mentre l'operone *cco1* viene

Figura 2

### Crescita media di *Pseudomonas aeruginosa* PA14 WT (Wild Type) e di ceppi mutanti

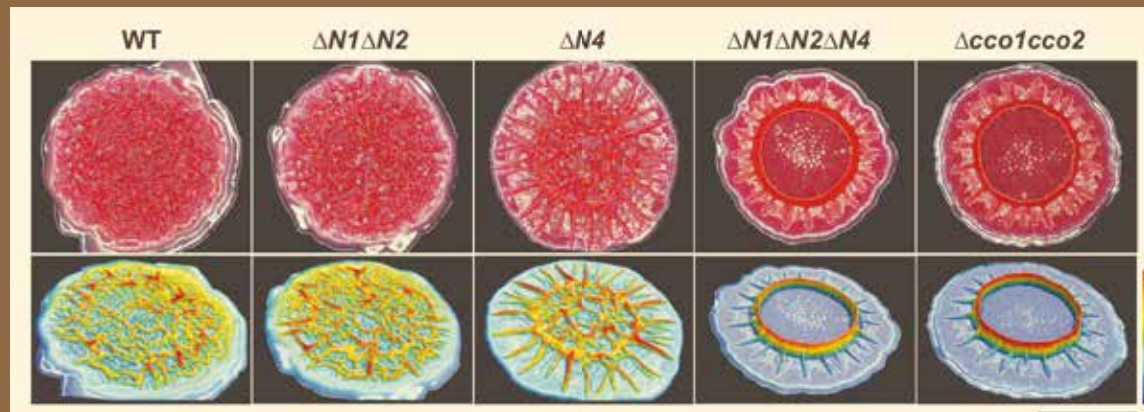


Le barre di errore rappresentano le deviazioni standard dei triplicati biologici.



Figura 3

### Contributo degli eterocomplessi contenenti ccoN4 alla morfogenesi del biofilm e alla respirazione



In alto: serie di immagini di colonie di 5 giorni di PA14 WT (Wild Type) e ceppi mutanti cco. Le immagini sono state generate con un microscopio digitale. La barra della scala è pari a 1 cm.

In basso: serie di immagini delle superfici dei biofilm riportati nel pannello superiore. Le immagini sono state generate con un sistema di misurazione 3D dell'area. Altezza della scala: dal basso (blu) all'alto (rosso) è pari a 0-0,7 mm per WT, ΔN1ΔN2 e ΔN4; 0-1,5 mm per ΔN1ΔN2ΔN4 e Δcco1cco2.

sempre espresso ad alti livelli. Un ulteriore aspetto del complesso delle ossidasi terminali di *P. aeruginosa* è la presenza di geni per le subunità "orfane" di cbb3 in siti cromosomici distinti dagli operoni cco1 e cco2. Mentre questi ultimi, che sono cromosomicamente adiacenti, contengono ciascuno 4 geni che codificano per un complesso Cco costituito dalle subunità N, O, P e Q, i due operoni ccoN3Q3 e ccoN4Q4 contengono ciascuno degli omologhi che codificano solo per Q e le subunità catalitiche N (figura 1).

Recentemente, sono state caratterizzate le proprietà biochimiche delle isoforme cbb3 di *P. aeruginosa* contenenti combinazioni di subunità, tanto canoniche quanto orfane. In un ceppo privo di tutte le ossidasi terminali aerobiche, l'espressione di qualsiasi isoforma conferiva la capacità di crescere utilizzando O<sub>2</sub>, confermando che le isoforme contenenti le subunità N orfane sono funzionali. Inoltre, gli autori hanno scoperto che i prodotti di ccoN3Q3 e ccoN4Q4 hanno contribuito alla resistenza al nitrito e al cianuro, rispettivamente, durante la crescita in colture liquide in condizioni di bassa concentrazione di O<sub>2</sub>.

## LA VITA IN UN BIOFILM

La vita in un biofilm, in cui le cellule crescono in una comunità densa, racchiusa in una matrice autoprodotta, è stata paragonata all'insorgenza e alla persistenza delle infezioni in diversi sistemi. Lo sviluppo del biofilm

promuove la formazione di gradienti di O<sub>2</sub>, tanto che le cellule distanti dalla superficie del biofilm stesso sono soggette a condizioni ipossiche o anossiche. Con un saggio di morfologia delle colonie per studiare il metabolismo e la sua relazione con il comportamento della comunità, i ricercatori hanno dimostrato che la limitazione di O<sub>2</sub> porta a uno squilibrio nello stato redox intracellulare, che può essere compensato con un cambiamento della morfologia della colonia, che si organizza in modo da aumentare il rapporto superficie-volume del biofilm e, quindi, l'accesso all'ossigeno per le cellule residenti.

Nelle cellule di *P. aeruginosa* presenti in un biofilm, l'accumulo intracellulare di potere riducente può essere prevenuto anche con la produzione e la riduzione di antibiotici endogeni, detti fenazine, che mediano il trasferimento extracellulare di elettroni agli ossidanti disponibili a distanza.

Ed è stato dimostrato che la produzione di fenazina all'interno del biofilm contribuisce alla patogenicità di *P. aeruginosa* in un modello murino di infezione polmonare acuta, confermando ulteriormente l'importanza del bilanciamento del potere riducente mediato dalla fenazina per questo batterio quando vive in comunità.

Data la formazione di un gradiente di O<sub>2</sub>, i ricercatori hanno ipotizzato che la diversa regolazione degli operoni cco di *P. aeruginosa* possa influenzare il loro contributo al flusso metabolico di elettroni nelle varie zone del biofilm e hanno valutato l'impatto delle varie isoforme di ossidasi sul

comportamento in comunità e sulla virulenza. I risultati indicano che le isoforme contenenti la subunità orfana CcoN4 possono sopravvivere nei biofilm grazie alla riduzione dell'O<sub>2</sub> e della fenazina e contribuire alla patogenicità di *P. aeruginosa* in ospiti nematodi (*Caenorhabditis elegans*).

## DISCUSSIONE

La formazione di biofilm contribuisce alla patogenicità e alla persistenza di *P. aeruginosa* nel corso di diversi tipi di infezione, comprese le colonizzazioni polmonari croniche osservate nei pazienti con fibrosi cistica. Questo studio, in particolare, si è concentrato sul complesso di geni di *P. aeruginosa* codificanti per le subunità Cco della citocromo ossidasi, testando i contributi di tali subunità al flusso metabolico di elettroni nei biofilm.

Il genoma di *P. aeruginosa* contiene quattro diversi omologhi di ccoN, che codificano la subunità catalitica delle ossidasi cbb3 (Cco1 e Cco2). Nelle colture liquide ben miscelate, i ceppi mutanti privi delle subunità orfane non hanno mostrato difetti di crescita (figura 2). Di conseguenza, i ricercatori sono rimasti sorpresi nello scoprire che il mutante privo di N4 ( $\Delta N4$ ) ha mostrato un morfotipo unico nei test su biofilm (figura 3).

Con una serie di saggi, quindi, gli studiosi hanno caratterizzato gli effetti della delezione di N4 sulla fisiologia del biofilm.

In colture liquide ben miscelate,  $\Delta cco1cco2$  ha mostrato una crescita simile a quella di  $\Delta N1\Delta N2$ . In precedenza, era stato dimostrato che le colture liquide di *P. aeruginosa* WT (Wild Type) formano eterocomplessi di Cco contenenti CcoN4, ma le nuove osservazioni suggeriscono che tali complessi non contribuiscono in modo significativo alla crescita in simili condizioni. Infatti, la delezione di ccoN4 nei ceppi mutanti  $\Delta N1\Delta N2$  non ha avuto alcun effetto sulla crescita in terreno liquido. Al contrario, la delezione di N4 nelle colonie organizzate in biofilm determina la comparsa di un fenotipo morfologico alterato e la medesima delezione in ceppi mutanti  $\Delta N1$  o  $\Delta N1\Delta N2$  influenza profondamente la fisiologia del biofilm. Infatti, la delezione ccoN4 ha determinato una diminuzione significativa dei valori rilevati negli esperimenti di quantificazione dell'attività respiratoria all'interno delle colonie.


I fenotipi mutanti e i profili di espressione genica riportati in questo studio suggeriscono ruoli per la subunità CcoN4 nella riduzione dell'O<sub>2</sub> e della fenazina specificamente nel contesto del biofilm e consentono di trarre conclusioni sui ruoli di altre subunità CcoN. L'espressione di ccoN4Q4 in tutta la profondità del biofilm suggerisce che le isoforme contenenti CcoN4 potrebbero contribuire all'ossidazione del citocromo-c nelle zone sia ossigenate sia ipossiche. E ciò è in contrasto con una precedente osservazione, vale a dire che questi geni sono specificamente indotti in colture liquide ipossiche rispetto a quelli ben aerati. Di conseguenza,

Suggerimenti per...

### IL LABORATORIO DI ANALISI

## 70 URAI 1948-2018

### Software e strumenti per il COLORE




**ColorWorkDesk®**  
è il marchio di URAI che caratterizza l'attività della divisione Apparecchiature da Laboratorio, nell'ambito del controllo colore.

**CWD QC**  
Software per il controllo qualità colore. Semplice all'uso con efficiente struttura dati per la memorizzazione delle misure e grafici multifunzione. Include le scale colore e gli indici maggiormente utilizzati nel settore.

**Spettrofotometri portatili**  
Compatti ed ergonomici, sono dotati di un display touch screen TFT a colori da 3.5 pollici e memoria interna. Geometrie di misura: Riflettanza d/8 o 45/0°. Connessione al software CWD QC.

**Spettrofotometri da banco:**  
Dotati di display touch screen TFT a colori da 7 pollici e memoria interna. Geometrie di misura: trasmittanza e riflettanza d/8 o d/0°. Connessione al software CWD QC.



**URAI S.p.a.**  
Milanofiori, Palazzo E2 | 20090 Assago (MI)  
Tel. +39 02 892399.1 | Fax +39 02 8258020  
[www.urai.it](http://www.urai.it) • [apparecchi@urai.it](mailto:apparecchi@urai.it)

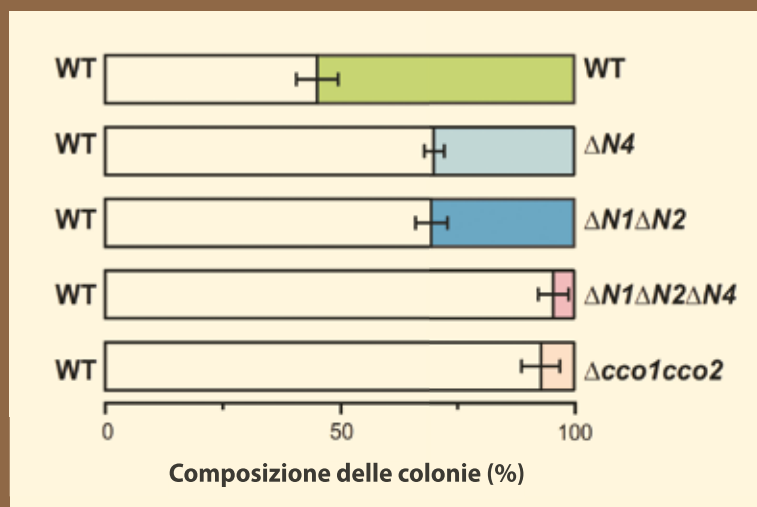
Settore  
**FOOD & BEVERAGES**



l'espressione di ccoN4Q4 osservata nella parte superiore della colonia potrebbe essere specifica dei biofilm. Il ceppo  $\Delta N4$  ha dato vita a una colonia meno sviluppata rispetto al ceppo *wild type* (figure 3 e 4), ma non avendo evidenziato alcun deficit nella riduzione della fenazina i ricercatori attribuiscono la morfologia della colonia al ruolo proposto di N4 nella riduzione dell'O<sub>2</sub>. Analogamente, anche il ceppo  $\Delta N1\Delta N2$  ha dato vita a una colonia meno sviluppata rispetto al ceppo *wild type* (figura 4), ma una pari capacità di riduzione della fenazina, cosa che implica che una o entrambe le subunità contribuiscono alla riduzione dell'O<sub>2</sub> nel biofilm. Tuttavia, la delezione di CcoN4 contemporaneamente a quella di CcoN1 e CcoN2, ha dato origine a un ceppo con un grave deficit nella capacità di riduzione della fenazina, suggerendo un ruolo delle ossidasi cbb3 nella riduzione di questa molecola oltre che nella riduzione dell'O<sub>2</sub> ed ampliando così la comprensione del loro contributo alla fisiologia complessiva e alla vitalità di *P. aeruginosa*. Infine, dato che la formazione di un biofilm è spesso associata alla colonizzazione e alla persistenza di *P. aeruginosa* negli ospiti, i ricercatori hanno voluto verificare se CcoN4 contribuisca o meno alla patogenicità del batterio nel nematode *Caenorhabditis elegans*. Analogamente alle osservazioni relative ai biofilm, i test hanno dimostrato che il mutante  $\Delta cco1cco2$  mostra una maggiore patogenicità rispetto al mutante  $\Delta N1\Delta N2$ , suggerendo che una subunità orfana può sostituire quelle codificate dagli operoni cco1 e cco2. Inoltre, gli studiosi hanno potuto constatare che l'eliminazione di ccoN4 in un ceppo  $\Delta N1\Delta N2$  dà origine a un ceppo con patogenicità sovrapponibile a quella di  $\Delta cco1cco2$ , suggerendo che CcoN4 potrebbe essere la subunità che ricopre questo ruolo. Negli organismi ospiti in cui è disponibile O<sub>2</sub>, i ceppi che producono CcoN4 potrebbero contribuire alla sua riduzione. Inoltre, nelle zone ipossiche, questi stessi ceppi potrebbero facilitare la riduzione delle fenazine, consentendo il bilanciamento del potenziale redox cellulare. Secondo i ricercatori, entrambe queste funzioni potrebbero contribuire alla persistenza del batterio all'interno

Figura 4

**Sviluppo delle colonie di diversi mutanti cco co-cultivati con il ceppo WT in biofilm per 3 giorni**



Le barre di errore rappresentano le deviazioni standard dei triplicati biologici.

dell'ospite. In ultima analisi, quindi, il contributo delle ossidasi cbb3 alla patogenicità di *P. aeruginosa* aumentano la possibilità che i composti in grado di interferire con la funzione degli enzimi Cco possano essere valide soluzioni terapeutiche per il trattamento delle infezioni da *P. aeruginosa*. Tali composti sarebbero inoltre particolarmente interessanti in quanto specifici per le catene respiratorie batteriche e "innocui" per gli enzimi della catena respiratoria dell'ospite.

## IN CONCLUSIONE

La scoperta che una subunità orfana delle ossidasi cbb3 contribuisce alla crescita nei biofilm di *P. aeruginosa* aumenta ulteriormente la flessibilità respiratoria di questo patogeno opportunistico. Inoltre, l'attività della sua catena respiratoria può essere fortemente influenzata dalla sostituzione delle subunità catalitiche cbb3 native con quelle orfane.

La presenza di isoforme che producono CcoN4 promuove la riduzione della fenazina e può influenzare la respirazione aerobica nei biofilm di *P. aeruginosa*. Infine, per i ceppi che producono subunità cbb3 orfane, questo fine livello di controllo potrebbe essere particolarmente vantaggioso durante la crescita e la sopravvivenza in ambienti che offrono un'ampia gamma di disponibilità di accettori di elettroni.

1. Jo J., Cortez K.L., Cornell W.C., Price-Whelan A., Dietrich L.E. An orphan cbb3-type cytochrome oxidase subunit supports *Pseudomonas aeruginosa* biofilm growth and virulence. *Elife*, 2017; doi: 10.7554/eLife.30205. (©Authors, <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).