

Dental biofilm에 대하여



이준희
부산대학교 약학대학

■ 서론

구강질환은 크게 충치와 그 외 구강 질환으로 나눌 수 있다. 충치(dental caries)는 일반적인 생각과는 달리 감염성 세균에 의해 일어나는 대표적인 감염성 질환중의 하나로, 치아에 형성되는 바이오필름인 plaque에서 자라는 세균의 작용에 의해 차츰이 탈회되는 병이다. 일반적으로 세균이 당분을 분해하여 산을 분비하고, 이 산에 의해 치아 표면의 에나멜질에 demineralization이 일어나 충치가 된다. 성인의 35% 이상이 고통 받고 있다고 추정되는 치은염, 치주염 등도 역시 세균감염에 의한 질병이며, 구강 내 바이오필름이 중요한 역할을 한다.

충치가 세균에 의한 것이라는 사실은 germ-free animal 실험으로 확인되었다. 충치의 큰 원인이 되는 설탕을 많이 주어도 germ-free animal은 충치가 생기지 않기 때문이다 (Titora, 2007). 구강 내에는 약 1000여종의 세균이 존재한다고 알려져 있으나, 일반적으로 가장 중요한 초기 충치 유발 세균은 *Streptococcus spp*로 알려져 있다. 이 중 mutans streptococcus가 치아 표면에 부착하면서 충치 발생의 원인이 되는 바이오필름 형성이 시작되는데, 일반적으로 *Streptococcus mutans*가 초기바이오필름 형성에 가장 중요하고, 다른 streptococci는 상대적으로 덜 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다 (ten Cate, 2006). 이들은 깨끗한 치아 표면에 바로 붙는 것이 아니며, 먼저 타액 속의 여러 단백질에 의해 치아 표면에 pellicle이 형성되고 난 후, 여기에 한 두 시간 이내에 부착하는 것으로 보인다 (그림 1). 치아 표면 부착 후 *S. mutans*는 sucrose (sugar)를 당당류로 분해하여 glucose와 fructose를 생성하고, glucosyltransferase를 분비하여 glucose의 gummy polysaccharide형태인 dextran을 만든다. 이 dextran과 세균이 함께 침착된 것이 구강 바이오필름인 plaque이다. Plaque는 3~4일이 지나면 칼슘이 침착하여 단단해지면서 치석 (calcium phosphates;

dental calculus or tartar)으로 변하는데, 이는 세균을 고정하는 매트릭스 역할을 한다. 한편 Fructose는 *S. mutans*에 의해 fermentation이 되어 lactic acid를 생성하고, 이 때문에 pH가 낮아져 치아의 demineralization이 일어나게 된다.

바이오필름은 충치의 진행과정에서 매우 중요한 역할을 한다. 그 이유는 다음과 같은 여러 가지 면에서 바이오필름이 충치 진행을 도울 수 있기 때문이다.

1. 초기 충치, 즉 에나멜층의 demineralization과 함께 시작되는 충치는 산소가 풍부히 존재하는 환경에서 일어나므로 호기조건에서도 lactic acid fermentation을 할 수 있는 *Streptococcus spp.*에 의해 주도되는 반면 (특히 *S. mutans*), 에나멜층이 약화되어 세균이 에나멜 층 안으로 들어가게 되면 충치가 dentin 영역까지 퍼지게 되는데 (2단계 dentin층 충치), 이때부터는 산소 분압 낮아지면서 세균의 조성이 처음 치아 표면에서 충치를 시작하는 세균의 조성과는 완전히 달라지게 된다. 이때 치아 표면에 형성된 바이오필름은 산소 투과를 저해시켜 이러한 균집의 전이를 촉진시킨다.
2. lactobacilli들은 충치의 시작에는 큰 역할을 하지 않으나, lactic acid를 많이 내기 때문에 충치의 확산단계에서는 매우 중요하다고 생각된다. 그런데 바이오필름이 형성되어 산소투과가 잘 되지 않으면, 바이오필름 안에서 fermentation이 더욱 활발하게 일어날 수 있으므로 acid에 의한 demineralization이 더욱 촉진될 수 있다.
3. 보통 침이나 crevicular exudate는 macrophage같은 면역세포나 lysozyme 같은 방어 물질을 함유하기 때문에 초기 단계에서 세균의 작용을 방어할 수 있다. 그러나 바이오필름은 이러한 방어로부터 세균을 보호한다. 또한 형성된 lactic acid가 잘 희석되거나 중화되지 않게 하는 역할도 한다. 충치 이외에도 치은염 (gingivitis), 치주염

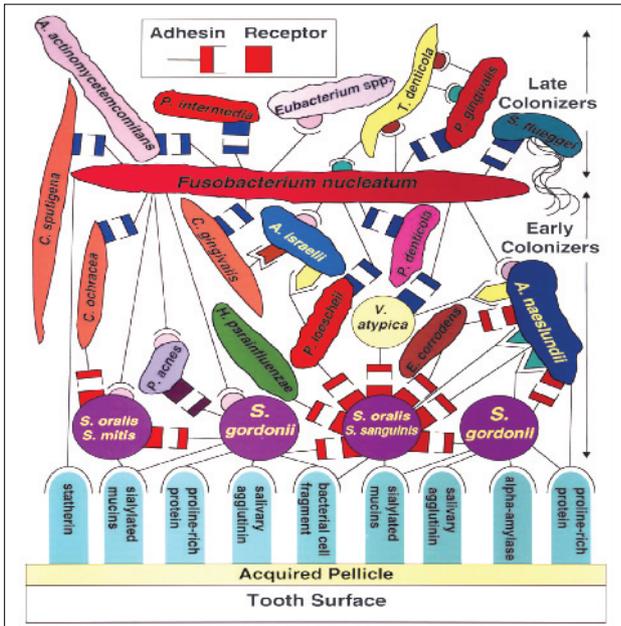


그림 1. 구강 바이오필름의 구조 (Kolenbrander et al., 2006)

(periodontitis), acute necrotizing ulcerative gingivitis 등의 구강 질환들이 빈번히 발생하는데, 이때 치은염에서는 streptococci와 혐기성 그람 음성균이, 치주염에서는 *Porphyromonas spp.*가, acute necrotizing ulcerative gingivitis에서는 *Prevotella intermedia* 등의 세균이 많이 발견되며, 역시 바이오필름을 형성하고 있는 경우가 대부분이다.

■ 본론

따라서 효과적인 충치 예방을 위해서는 구강 세균과, 그 세균이 형성하는 바이오필름을 제어해야만 한다. 그런데 바이오필름속의 세균은 물리적 힘이나 침 혹은 crevicular fluid 등에 포함된 항생 성분에 대해 큰 저항성을 가지기 때문에 처리하기가 매우 힘들다. 충치 발생의 범위와 빈도에 있어 의미있는 감소는 불소의 도입에 의해 이루어진 바 있다. 그러나 불소는 현대생활의 과도한 충치 유발성 식단 (많은 양의 fermentable carbohydrates + 하루중 많은 횟수의 음식 섭취)에는 충분히 대체해 주지 못한다. 이러한 식단은 구강 바이오필름 형성을 극단적으로 촉진시키는 면이 있기 때문에, 보다 효과적인 대처를 위해서는 단순히 구강 세균을 죽이거나 제거하는 것 보다 바이오필름을 효과적으로 제어하는 것이 반드시 필요하다. 실제로 최근 치약이나 구강 세척제에는 바이오필름 형성을 억제한다는 광고가 자주 보이기도 한다. 하지만 아직까지는 충분히 효과적인 바이

오필름 제어법이 나와있는 것으로 보이지 않는다. 여기서는 구강 바이오필름에 대한 최근의 연구 내용과 주된 연구 방향에 대해 알아보기로 하겠다.

1. 구강 환경의 특징과 Dental plaque 연구

과거에는 세균들을 균집내 무리들이나 경쟁종으로부터 유리된 상태에서 항상 고정된 배양액에 단일 배양된 상태로 연구하여 왔다. 그러나 실제 natural habitat에서의 세균을 연구하려는 지난 수십 년 간의 노력을 통해, 현재는 구강에서 복합균집으로 함께 자라는 실제 바이오필름을 근접하게 모방하려는 시도가 시작되고 있다. 특히 배양 배지와 조건을 구강내 치석과 침의 조성과 특성에 유사하게 만들고, 고체 표면에서의 부착과 표면 위에서의 성장, 그리고 구강 내에서 겪게 되는 물리적 shearing force 등을 모방해 나가고 있다. 이러한 최근의 연구결과는 구강 바이오필름과 관련해 다음과 같은 중요한 사실들을 보여주었는데, 이는 구강이라는 특수한 환경과 밀접한 관계를 가진다 (Haffajee and Socransky, 2006; Kolenbrander et al., 2006; ten Cate, 2006).

- 이빨은 아무것도 분비하지 않는 딱딱한 표면이 침과 수백종의 박테리아로 덮여있는 상태이다.
- 바이오필름 중 조성은 smooth surface (치아 표면), fissures (치아 사이 갈라진 틈), periodontal sulcus (치주와 잇몸 사이의 틈) 등에서 차이가 나며, 침샘 분비 장소에 가깝거나, redox potential이나 nutrient availability의 차이에 따라 달라진다.
- 구강의 바이오필름은 크게 표면, 치아 사이, 치아와 잇몸 사이, mucosal surface에 생기는 것으로 나눌 수 있는데, 보통 plaque이 mucosal surface위에 생긴 바이오필름보다 안정하다.
- 바이오필름 세균들은 이가 난 직후에 colonize 하기 시작해서 이가 빠지고 나면 사라진다. 즉 딱딱한 치아 표면의 존재가 매우 중요함을 알 수 있다.
- 또한 이들은 다른 사람으로부터 전염되어 구강내에 colonization 하는데, 유아기의 어떤 특정 시기가 이러한 colonization에 매우 중요하며, 세균 감염의 순서가 plaque의 조성을 결정하는 것으로 보인다.
- 바이오필름내 살아있는 세균과 죽은 세균의 비도 시간에 따라, 사람에 따라 다양하게 변한다. 평균적으로는 35~55% 정도이다 (live/dead).
- 구강 바이오필름이 특이한 환경조건에서 형성되는 바이오필름이긴 하지만 그 구조적 생리적 특징은 자연계의 다른 바이오필름에서 보이는 일반적인 특징과 연관되어 있다.

• 바이오필름은 일정 정도 이상의 두께에서는 erosion, detaching, sloughing에 의해 닳아 없어진다. 바이오필름이 두꺼워짐에 따라 내부에는 영양분과 산소공급이 제한되고 혐기성 세균이 서식할 기회가 높아진다.

이러한 연구들은 Genome sequence data base를 통해 많은 바이오필름내 세균종들이 밝혀지고, 배양 불가능한 종에 대해서도 분자유전학적 분석이 가능해짐에 따라 이루어질 수 있었다 (Davey and Costerton, 2006).

2. 구강 바이오필름 연구의 주요 논점.

최근 구강 바이오필름 연구의 주요 논점들은 다음과 같다.

2-1. 왜 바이오필름내에서는 항생제 저항성이 증가하는가?

바이오필름에서는 항생제 저항성이 약 1,000배 가량 증가한다. 따라서 최근에는 일반적인 세균배양에서 사용하는 항생제 저항성 정도인 MIC (minimal inhibitory concentration) 대신 바이오필름에 특이적으로 적용되는 MBEC (minimal biofilm eradication concentration) 사용하기도 한다 (ten Cate, 2006).

이러한 바이오필름에서 항생제 저항증가에 대한 가설로는 1) 항생물질 투과성의 감소, 2) 바이오필름내 adaptive stress response의 활성화, 3) 바이오필름내 종 혹은 생리적 다양성, 4) 바이오필름내 “persisters” (phenotypical variant의) 존재, 5) 항생물질이 바이오필름 기질속의 exopolysaccharide (EPS)에 의해 chelation된 등의 가설이 제기되고 있는데, 아직 정확한 결론은 내려지지 않은 상태이다. 아마도 모든 것이 복합적으로 일어날 것으로 추측된다

2-2. 바이오필름 구조 - empty or filled?

현재 바이오필름 구조에 대한 컨셉은 Bozeman Montana Center for Biofilm Engineering의 연구 그룹에 의해 제안된 것이다 (ten Cate, 2006). 그러나 이러한 구조 역시 실험실 조건에서 형성된 전형적인 것이며, 실제로는 구강 바이오필름을 많이 형성하는 사람과 적게 형성하는 사람, 또는 식습관의 차이에 따라 바이오필름 구조와, 종 구성, 종 다양성, 생명력에 뚜렷한 차이가 관찰된다 (Kilian et al., 2006; Paster et al., 2006). 구강 생물막을 많이 형성하는 그룹에서는 6시간이 지나면 이미 두꺼운 layer가 형성되지만, 적게 형성하는 그룹에서는 동일시간에 세균이 단지 드문드문 부착되어 있을 뿐이었다. 48시간 정도에서 평균적으로 바이오필름의 두께는 11~65 μm 정도인데, 이러한 두께는 보통 24시간 정도에서 이루어지고, 그 이후에는 다시 특징적인 구조변화가 일어난다. 보통 초기에는 상대적으로 open structure 이던 것이 dense structure로 변한다 (ten Cate,

2006). 초기 open structure에서는 channel이 형성될 수 있는데, 이 channel이 비어있는지, exopolysaccharide에 의해 채워져 있는지는 여전히 논란이 있다. Extracellular matrix를 형성하는데 가장 중요하다고 알려진 효소인 glucyltransferase C가 결핍된 *S. mutans*는 고분자량의 dextran를 16배 더 빠른 속도로 통과시킨다는 실험결과가 있었는데, 이는 glucyltransferase C가 결핍된 돌연변이주는 이 channel이 빈 공간으로 있지만 야생형에서는 뭔가 채워져 있음을 뜻하는 것이다. 아마도 이는 exopolysaccharide라고 생각된다 (ten Cate, 2006). 이러한 구조의 규명은 영양분과 노폐물의 통로라는 점에서 바이오필름내 미생물 생리의 분석에도 중요하지만, 항생물질의 투과성을 규명한다는 점에서도 매우 중요하다. 또한 가장 흔히 사용되고 있는 충치억제제인 불소가 바이오필름을 투과하여 작용장소인 에나멜 층이나 dentine surface에 도달할 수 있느냐도 바이오필름의 구조와 관련된 중요한 문제이다.

한편 *Pseudomonas aeruginosa*에서는 DNA가 기질의 구성성분으로 중요한 역할을 한다는 것이 보고된 바 있다 (Spoering and Gilmore, 2006). 그러나 구강 세균에서는 아직 많은 연구가 되어 있지 않다.

2-3. 먼저 aggregation이 형성된 후 표면에 부착하는가, 아니면 개별적으로 부착하는가?

구강내 early, intermediate, late colonizer의 대표균주로 *S. gordonii*, *F. nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*를 써서 바이오필름 형성을 조사했을 때, individual cell들 (주로 *S. gordonii*)이 표면에 붙는 만큼이나, planktonic cell들이 먼저 aggregation된 다음 이 aggregates들이 substratum에 붙는 것이 관찰되었다. 약 24시간이 지나면 전체 표면의 65%가 이러한 aggregate로 덮여버렸다 (ten Cate, 2006). 이러한 aggregate는 느슨하게 부분적으로 표면에 붙어있으면서 지나가는 다른 aggregate들을 계속 붙여나가는 것으로 관찰되었다. 이는 세균이 개별적으로 표면에 초기 부착한다는 종래의 주장에 반하는 것으로, 먼저 planktonic cell 상태에서 세균들간의 상호작용이 먼저 일어나고, 이에 의해 aggregate가 형성된 후에 표면에 안착한다는 것으로, 이는 세균이 표면을 만나기 전에 이미 바이오필름 형성을 위한 생리적 변화가 시작됨을 암시하는 결과이다. 실제로 *S. gordonii*와 *Actinomyces naeslundii* 사이의 상호작용이 초기 바이오필름에서 관찰되기도 하였다 (Kolenbrander et al., 2006). 그러나 초기 바이오필름에서 혼합종 보다는 단일종이 타액에 의해 coating된 표면에 더 강하게 붙는다는 결과로부터 이러한 coadhesion이 필수적이라는 것에 의문이 제기되기도 하였다 (Guggenheim et al., 2001). 혹은 이러한 것이 시간적, 공간적으로

변할 수 있다고 생각되기도 한다.

2-4. 어떤 세균의 제어가 가장 중요한가?

1,000종 정도의 세균이 현재까지 구강에서 확인되었다. 그 중 많은 것이 배양 불가능하지만, 분자생물학적인 방법으로 종의 확인과 분류는 가능한데, 구강 바이오필름 내에서의 종의 조성은 시간적 추이와 구강 내 공간에 따라 달라진다. 구강에 존재하는 충치 유발 세균은 주로 *Lactobacilli*와 *mutans streptococci* 라고 언급되나 이러한 명칭은 하나의 종을 의미하는 것이 아니다. *mutans streptococci*의 경우는 주로 *S. mutans*와 *Streptococcus sobrinus*로 구성된다. 이들은 공통적으로 유아의 입에서 발견되며, 3개월 된 이빨이 나기 전 유아의 30%, 24개월 된 것 이빨이 난 유아의 80%에서 발견된다. 일반적으로 구강 질환과 더 밀접한 관련을 가지는 것은 오래된 바이오필름이며, late colonizer라고 생각되고 있다. 그러나 바이오필름을 제어하기 위해서는 초기 부착과 성장에 관련된 early colonizer의 제어가 중요하다고 판단된다.

양치질이나 전문적인 처치를 받아서 깨끗해진 표면은 처음 타액 pellicle에 의해 coating되고 거기에 박테리아가 colonization 하기 시작한다. 따라서 타액속의 인자 (eg, praline-rich proteins; PRP)들이 초기 결합에 중요하다. 세균들은 surface adhesion factor들에 의해 표면이나 다른 세균과 물리적으로 단단하게 결합한다. 초기 colonizer들에 의해 형성된 바이오필름은 second or late colonizer들에게 노출되며, 조성에 있어 gradient가 형성되게 된다. 이때 초기 바이오필름에는 *Streptococcus spp*가 우점종 (60~90%)이므로, 초기 바이오필름을 제어에는 이 세균이 주된 타겟이 된다. 건강한 구강의 경우 바이오필름 형성 2시간 이후에는 *Actinomyces spp*가 우점을 차지하며, 6시간 이후에는 *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis* 등이 퍼지게 되나, 충치 바이오필름에는 *S. mutans*가 가장 많다.

치주염 환자의 경우도 제한된 숫자의 박테리아만이 질환과 관련된다고 알려져 있다. 치주염에는 그람 음성 혐기성 세균 (eg, *Prevotella intermedia*)이 많은데, 치주 근처 잇몸에 형성된 바이오필름이 염증을 일으켜 pocket을 형성하고 여기서 혐기성 세균이 자라면서 증상을 유발한다.

2-5. 구강 질환의 발생 - Specific or non-specific?

Specific plaque theory (by Loesche)에서는 주로 소수의 specific pathogen에 의해 구강 질환이 생긴다고 생각한다 (ten Cate, 2006). 앞서서도 여러 번 언급했듯이 *S. mutans*와 *Lactobacillus spp*를 충치의 원인균으로 생각하는데, 이 이론대로라면 충치를 억제하기 위해서 특정 세균만을 타겟으로 할 수 있다. 그러나 Non-specific plaque

theory (by Theilade)에서는 단순히 plaque이 존재하는 것만으로도 질병을 일으킨다고 생각한다 (ten Cate, 2006). 이 이론에 의하면 구강 바이오필름의 형성 자체를 막아야 한다.

두개의 이론을 연결하는 것이 ecological plaque hypothesis (by Marsh)이다 (ten Cate, 2006). 여기서는 구강 바이오필름 중 구성의 변화 발생이 질환 발생의 원인이라 생각하기 때문에, 환경의 변화 (특히 fermentable carbohydrate의 대량 유입)에 기인한 특정 미생물의 overgrowth가 질환의 원인이라고 생각한다. 엄밀히는 이렇게 overgrowth한 종이 내는 waste (eg, 유기산)가 demineralization과 inflammation의 주 원인이라고 생각하는 것이다. 지금까지는 이 가설이 충치와 치주염에 대한 원인론에 많이 적용되어 왔다.

2-6. 복합 군집 - mutual stabilization and antagonism

*Actinomyces spp*는 *Lactobacillus spp*와 혼합 바이오필름을 형성할 수 있는데 반해, *Lactobacillus*는 단독으로는 바이오필름을 잘 형성하지 못한다. 이러한 박테리아들은 surface adhesion factor들에 의해 표면과, 혹은 다른 박테리아들과 물리적으로 단단하게 상호작용을 하는 것으로 보인다. 타액속의 인자들도 이러한 결합에 매우 중요하다고 생각된다. 비슷하게 *Fusobacterium nucleatum*은 early colonizer와 late colonizer 사이에 bridge 역할을 한다 (그림 1). 또한 *S. mutans*와 *Veillonella parvula*의 경우 각각의 바이오필름에서의 항생제 (chlorohexidine) sensitivity 보다 함께 바이오필름을 형성했을 때의 sensitivity가 극히 낮은데, 바이오필름내 종 다양성이 더 커지면 이러한 효과도 더 커질 것으로 생각된다. 이러한 연구결과들은 구강 바이오필름을 구성하는 종의 조성에 따라 바이오필름 형성 정도나 항생제 내성이 크게 차이가 날 수 있음을 시사하는 것이다.

반대로 *S. mutans*와 *Streptococcus sanguinis*의 경우 bacteriocin 생성이나 hydrogen peroxide 생성으로 서로를 antagonize할 수 있다는 것이 보고되었다 (Kreth et al., 2005). 이런 연구결과로부터 A-virulent한 박테리아를 이용한 replacement therapy 아이디어가 나오게 되었다. 즉, 건강한 치아에서는 주로 *S. sanguinis*가, 충치에서는 주로 *Actinomyces gerencseriae*, *Bifidobacterium spp*, *S. mutans*, *Veillonella spp*, *S. salivarius*, *S. constellatus*, *S. parasanguinis*, *Lactobacillus fermentum* 등이 발견된다는 점과, *S. mutans*가 있는 경우에는 *Atopobium*, *Propionibacterium*, *Lactobacillus*가, 없는 경우에는 *Lactobacilli*, *Bifidobacterium dentium*, non-mutans streptococci들이 많이 발견된다는 점으로부터, 구강 바이오필름의 종 구성을 인위적으로 건강한 치아에서 발견되는 세균종에 가깝게 바꿔줌으로써 충치를 예방하려는 것이다.

■ 결론

위에서 고찰해 본 바 대로 구강 바이오필름 형성을 제어하기 위한 여러 가지 타겟들이 꾸준히 연구되어 왔고, 많은 부분에서 상당한 진전이 있었다고 판단된다. 꼭 바이오필름의 형성을 완전히 제어하지 못하더라도, 일상 생활에서 대부분의 사람들이 정기적으로 구강을 세척하기 때문에, 그 시간 간격 내에서 의미 있게 바이오필름의 형성을 저해할 수 있다면 큰 효과를 볼 수 있을 것이다.

그러나 여러 가지 방법을 논하기에 앞서 충치가 대표적인 감염성 질환임에도 불구하고, 17세기 이전 서양사회에서는 충치가 드물었다는 것을 상기할 필요가 있다. 당시에는 성인의 약 10%만 충치가 있었다고 한다 (Totoro, 2007). 그런데 설탕이 도입된 이후에 급속도로 충치가 증가했다고 한다. glucose와 fructose로 구성된 이당류인 설탕은, glucose, fructose 각각만을 주는 경우 보다 훨씬 강하게 충치를 유발한다. 더 긴 polymer인 전분만을 섭취하는 경우에도 충치가 잘 생기지 않는다. 또한 설사 설탕을 먹더라도 식사 시간에만 섭취하면 몸의 방어 기전에 의해 충치가 억제될 수 있으나, 식사와 식사 사이에 설탕을 섭취하는 것은 매우 좋지 않은 결과를 유발한다.

따라서 음식을 섭취하는 습관과 음식물의 내용을 잘 조절하는 것이 무엇보다 중요하다. 좋은 식습관을 가지고 있을 경우 충치를 유발하지 않는 sugar alcohol (ex, xylitol)의 사용이나, demineralization은 방지하고 remineralization은 촉진하는 것으로 잘 알려진 불소의 사용만 가지고도 상당 수준으로 충치의 예방이 가능하다.

※감사의 말 : 이 논문은 부산대학교 신약개발연구소 간접연구경비 연구과제에 의하여 연구되었음.

References

- Davey, M.E., and Costerton, J.W. (2006) Molecular genetics analyses of biofilm formation in oral isolates. *Periodontol 2000* 42: 13-26.
- Guggenheim, M., Shapiro, S., Gmur, R., and Guggenheim, B. (2001) Spatial arrangements and associative behavior of species in an in vitro oral biofilm model. *Appl Environ Microbiol* 67: 1343-1350.
- Haffajee, A.D., and Socransky, S.S. (2006) Introduction to microbial aspects of periodontal biofilm communities, development and treatment. *Periodontol 2000* 42: 7-12.
- Kilian, M., Frandsen, E.V., Haubek, D., and Poulsen, K. (2006) The etiology of periodontal disease revisited by population genetic analysis. *Periodontol 2000* 42: 158-179.
- Kolenbrander, P.E., Palmer, R.J., Jr., Rickard, A.H., Jakubovics, N.S., Chalmers, N.I., and Diaz, P.I. (2006) Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontol 2000* 42: 47-79.
- Kreth, J., Merritt, J., Shi, W., and Qi, F. (2005) Competition and coexistence between *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* in the dental biofilm. *J Bacteriol* 187: 7193-7203.
- Paster, B.J., Olsen, I., Aas, J.A., and Dewhirst, F.E. (2006) The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontol 2000* 42: 80-87.
- Spoering, A.L., and Gilmore, M.S. (2006) Quorum sensing and DNA release in bacterial biofilms. *Curr Opin Microbiol* 9: 133-137.
- ten Cate, J.M. (2006) Biofilms, a new approach to the microbiology of dental plaque. *Odontology* 94: 1-9.
- Totoro, G.J., Funke, B. R., and Case, C. L. (2007) *Microbiology*: Pearson Education Inc. Publishing as, Benjamin Cummings, San Francisco.