

ANNE AAMDAL SCHEIE professor, odont dr, Institutet för oral biologi, Odontologiska fakulteten, Universitetet i Oslo, Norge

FERNANDA CRISTINA PETERSEN, NFR postdoc stipendiat, odont dr, Institutet för oral biologi, Odontologiska fakulteten, Universitetet i Oslo, Norge

Biofilm och bakteriekommunikation

– möjliga konsekvenser för oral profylax

◎ Många av de ämnen som i dag används för oral profylax har inte tillräckligt god effekt på orala sjukdomar. Det beror sannolikt på bristen på kunskap om att de mikroorganismer som orsakar orala sjukdomar oftast lever organiserade i komplexa bakteriesamhällen i stället för som isolerade encelliga organismer.

Nya försök att studera genuttryck och reglering hos mikroorganismer som inte härstammar från munnen har kastat ljus över ett signalsystem som gör det möjligt för bakterierna att kommunicera med varandra, ett så kallat quorum sensing-system. Vi saknar dock fortfarande information om de molekylära mekanismer och signalvägar som medverkar vid bildandet av plackbiofilm.

En bättre förståelse för dessa processer är avgörande för möjligheten att kunna utveckla nya strategier för att förebygga orala sjukdomar. Att kunna påverka quorum sensing-systemen anser vi vara en lovande strategi. Att lära sig förstå hur dessa system fungerar i orala biofilmer är en viktig utmaning för framtida forskning.

Ordet biofilm dyker allt oftare upp i litteraturen och antalet publikationer som avhandlar ämnet har ökat stort sedan begreppet togs i bruk i slutet av sjuttioalet [1]. Men vad är egentligen biofilm och vilka konsekvenser har det faktum att bakterierna väljer att leva tillsammans i biofilm? Bakterier har traditionellt setts som enkla, encelliga organismer. Mikrobiologer har också i huvudsak studerat bakterier som växer i flytande medier eller i odlingskålar. Detta har gett oss nyttig kunskap om och förståelse för sammanhangen mellan bakterier och sjukdom. Men man har också missat information om viktiga sidor av bakteriernas liv. Det visar sig nämligen att bakterier i verkligheten inte lever isolerade som encelliga organismer. Oftast lever de fästa på ytor och är organiserade i komplexa bakteriesamhällen som vi kallar biofilm. Dentalt plack är en typisk biofilm.

Redan på 1800-talet beskrev Antonie van Leeuwenhoek med sitt egenkonstruerade mikroskop den orala mikrofloran som en biofilm. Han intresserade sig för plack, ”scurf”, som han kallade det. Bakterierna han såg i sitt mikroskop kallade han ”animalcules”. I ett brev från 1683 skriver han om sina observationer: ”The number of these animalcules in the scurf of a man is so many that I believe they exceed the number of men in a Kingdom.”

Vidare gjorde han försök med vinättika som antibakteriellt medel. ”I took in my mouth some very strong wine-vinegar, and closing my teeth, I gargled and rinsed them very well with the vinegar. Afterwards I washed them very well with fair water, but there were an innumerable quantity of animalcules yet remaining in the scurf upon the teeth. I took a very little wine-vinegar and mixed it with the water in which the scurf was dissolved, whereupon the animalcules died presently. From hence I conclude, that the vinegar with which I washed my teeth, killed only those animalcules which were on the outside of the scurf, but did not pass through the whole substance of it.”

Detta iakttagande beskriver viktiga egenskaper hos bakteriella biofilmer.

Bakterier i biofilm

En bakteriell biofilm består av bakterier som är fästa vid ett underlag i en omgivande matris. Matrisen som binder samman bakterierna är en blandning av polysackarider, proteiner och DNA som härstammar från bakterierna [2]. Bakterier i biofilm bildar tredimensionella samhällen som innehåller vätskekanaler för bland annat transport av näringssubstrat, avfallsprodukter och olika signalmolekyler [3].

Bakterier som lever i biofilm är mindre känsliga för antimikrobiella ämnen och värdens immunförsvar än bakterier som lever fritt i ett flytande medium [4, 5]. Koncentrationen av det ämne som dödar fritt flytande bakterier måste ökas helst upp till tusen gånger för att ha motsvarande effekt på bakterier i biofilm [5]. Det är

det van Leeuwenhoek observerade på sin tid när han gjorde sina studier med vinättikan. Denna tydliga resistens kan förklara varför många ämnen som använts för oral profylax har sämre klinisk effekt än väntat jämfört med resultat från laborietester.

En förklaring till bakteriernas resistens i biofilm är att strukturen i en biofilm hindrar aktiva molekyler från att tränga ner i djupet av biofilmen. Det kan även vara så att molekylerna inaktiveras på biofilmens yta.

En annan förklaring till den specifika resistensen kan vara bakteriernas varierande tillväxthastighet i biofilm. Bakteriernas sensitivitet är beroende av deras tillväxthastighet. En bakteriekultur som växer fort är mest sensitiv för ett hämmande ämne. Efter som bakterierna växer långsammare i biofilm än i ett flytande medium blir de mindre sensitiva.

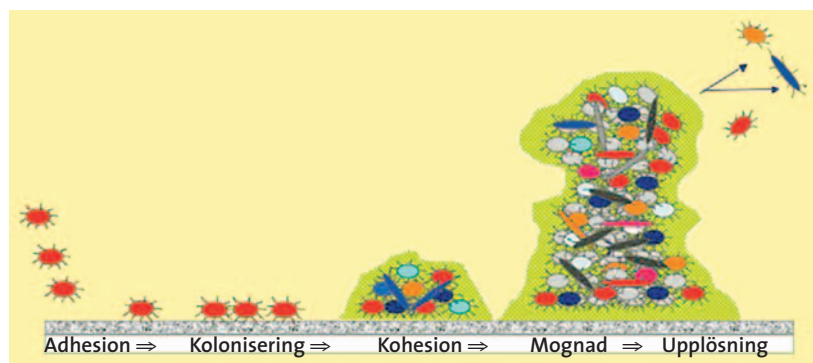
På grund av mängden näring, avfallsprodukter, pH och syre bildas olika mikromiljöer i biofilmen. Bakterierna har förmåga att läsa av och anpassa sig till olika förhållanden genom att slå av och på gener efter sina egna behov. Anpassningsförmågan kräver att bakterierna kan reglera ett stort antal gener. Ny forskning har visat att bakterierna på detta sätt ändrar sina egenskaper när de befinner sig i en biofilm.

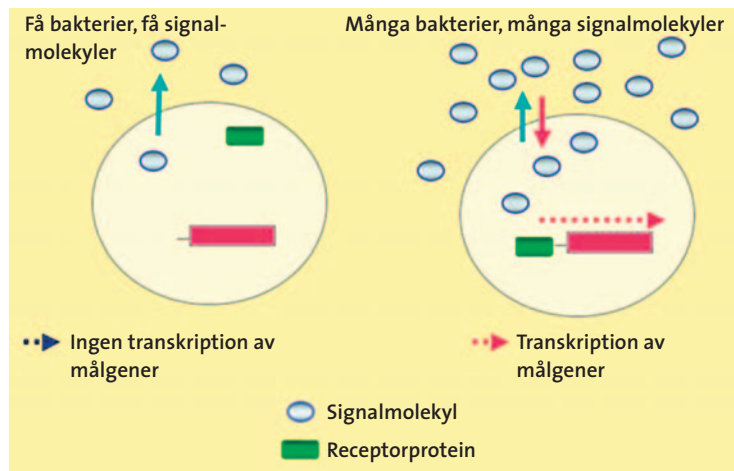
När till exempel *Streptococcus mutans* växer i biofilm regleras cirka 20 procent av bakteriens gener antingen upp eller ned jämfört med när den lever i ett flytande medium [6]. De enzymer som *S. mutans* använder för att göra polysackarider uttrycks också i olika grad beroende på om biofilmen är tjock och mogen eller tunn och omogen [7]. Andra exempel på förändrad genaktivitet i biofilm är enzymen urease i *Streptococcus salivarius* [8] och avsöndringen av en rad proteiner i *Actinobacillus actinomycetemcomitans* [8].

Den biofilmbildning i *Pseudomonas aeruginosa* som orsakar allvarlig lunginflammation hos patienter med cystisk fibros är noga studerad. Hos denna bakterie har man funnit mellan 40 och 50 procents skillnad i antalet genuttryck beroende på om bakterierna lever fritt flytande eller i olika stadier av biofilmbildning [9].

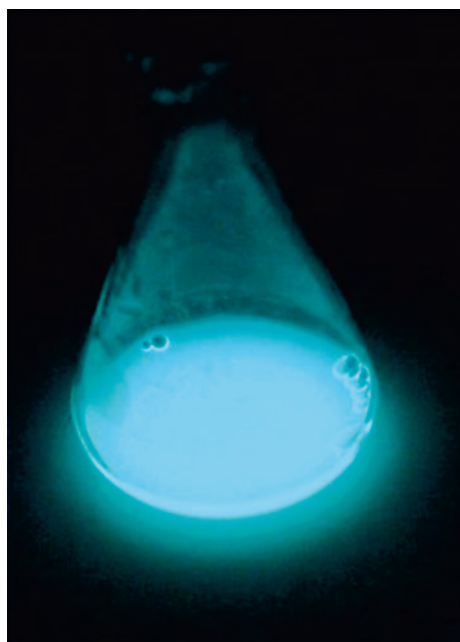
Biofilmbildning är en stegvis process som inleds med att fritt flytande bakterier fäster vid en prote-

Figur 1. De olika stegen i biofilmbildning.

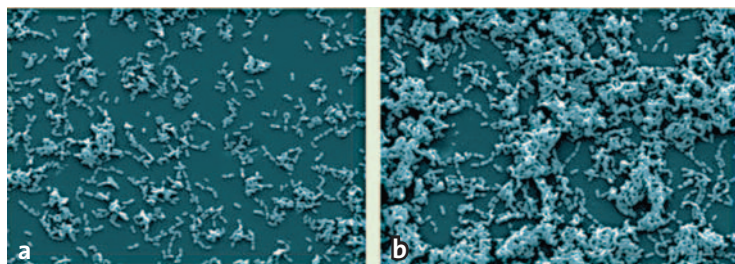




Figur 2. Bakterierna producerar signalmolekyler som skickas ut i omgivningarna. Antalet signalmolekyler är avhängigt av antalet bakterier. När antalet bakterier har nått ett visst tröskelvärde, quorum, kan bakterierna registrera signalen som sätter i gång transkription av givna målgener.



Figur 3. Bioluminescens, lysande blått ljus, uttrycks genom att vissa gener transkriberas, slås på, vid en viss bakterietäthet, quorum i *V. harveyi*.



Figur 4 a–b. Biofilmbildning av orala streptokocker som satts igång med quorum-signaler framkallad av en syntetisk kompetensstimulerande peptid, scsp. Figur 4 a visar biofilm utan scsp och 4 b med scsp.

intäckt yta. Ytan koloniserar och enskilda bakterier lockas till platsen. Dessa bakterier mognar så småningom och lossnar till slut. (Figur 1). Det har på så sätt skapats goda förutsättningar för att uttrycket av de gener som är involverade i de olika processerna ska kunna koordineras och regleras rätt [9–12]. Detta sker via olika signalsystem som gör att bakterierna kan kommunicera med varandra. I bakterierna sätter kommunikationen igång kaskader av reaktioner. Resultatet kan bli antingen aktivering eller hämning av transkription av olika gener.

Bakterierna kan reagera på externa stimuli i den omgivande miljön och använda signalmolekyler som vi ännu inte känner till. I andra signalsystem är molekylerna bättre kända. Bakterietätheten är en typ av stimuli som kan sätta igång olika signalsystem. Bakterietäthetsberoende signalsystem kallas quorum sensing-system (quorum=det minsta antal medlemmar av en församling som måste vara närvarande för att församlingen ska vara beslutsmässig).

Bakterierna använder olika molekyler som quorum-signaler. Koncentrationen av signalmolekyler är ett resultat av bakterietätheten. När koncentrationen av signalmolekyler har nått ett visst tröskelvärde, quorum, kan bakterien registrera och svara på signalen. När antalet bakterier når den kritiska nivån kan de med hjälp av quorum-signaler koordinera sina genuttryck (Figur 2). För bakterierna betyder detta att de kan skruva av eller på viktiga gener på ett koordinerat sätt. De kan med andra ord ”dra åt samma håll”.

Det finns många quorum-signalsystem i både grampositiva och gramnegativa bakterier. Bakterierna använder dessutom olika signalmolekyler som quorum-signaler. Grampositiva bakterier använder oligopeptider som signalmolekyler medan gramnegativa bakterier använder homoserinlaktoner. Många quorum-molekyler är mycket specifika och innebär att de endast kan användas för kommunikation mellan bakterier av samma art (intra-specieskommunikation). Nyligen upptäcktes ett annat kommunikationssystem, autoinducer-2-systemet (AI-2). I motsats till de flesta andra quorum-system som används av bakterierna för intra-specieskommunikation kan AI-2 användas som ett mer generellt kommunikationssystem. Förenklat kan man säga att med hjälp av det första quorum-systemet kan bakterien kommunicera med och kontrollera sina likar medan AI-2 dessutom kan användas för att kommunicera med andra [13].

AI-2 beskrevs först för sin förmåga att stimulera biologiskt ljus i marina bakterier, exempelvis *Vibrio harveyi* [14]. I figur 3 ser vi hur en bakteriekultur av *V. harveyi* slår på generna för luminiscens och lyser med ett blåaktigt ljus när tätheten i bakteriekulturen når en viss nivå. Senare studier har bekräftat att en rad grampositiva och gramnegativa bakterier har gener som producerar AI-2-signal-molekyler [15–17].

Strukturen för AI-2 i *V. harveyi* liknar inte några andra kända signalmolekyler. Man känner inte heller till molekylstrukturen hos AI-2 i de flesta andra bakterier. Däremot vet man att produktionen av AI-2 är beroende av ett enzym som genen LuxS kodar för. DNA-sekvensen för LuxS genen ser ut att vara lika i många bakterier (Schauder et al 2002).

Kommunikation i plackbiofilm

Det är rimligt att anta att det sker en livlig kommunikation mellan bakterierna i plackbiofilm. I laboratorieförsök har man visat olika orala bakteriers kommunikationsförmåga (Tabell 1). Kommunikation via signalsystem visades först i *Streptococcus gordonii* [18]. Genom att slå ut den gen som reglerar förmågan till naturlig omvandling, transformation, i *S. gordonii* fann man att den också förlorade förmågan att bilda biofilm. Transformation innebär att bakterierna kan ta upp DNA från sin omgivning, införliva det i sitt eget genom och därmed få ändrade egenskaper. Man tänker sig att streptokockerna genom en transformation kan anpassa sig till olika miljöer genom att de tillägnat sig egenskaper från andra bakterier. Transformationen i *S. gordonii* regleras av ett quorum-signalsystem. Signalmolekylen är en peptid, kompetensstimulerande peptid, CSP [19, 20]. Genom att slå ut gener som är knutna till kompetensutveckling fann man att bakteriens förmåga att bilda biofilm reducerades kraftigt [21–23]. I figur 4 ser vi hur CSP kan stimulera bakterier att bilda mer biofilm.

Förutom att sätta igång transformationen reglerar CSP bakteriernas förmåga att tåla stress [24]. Detta system är till exempel inblandat i *S. mutans* förmåga att anpassa sig till en sur miljö [25].

Signalöverföring via AI-2-systemet och genen för LuxS är påvisad i flera orala bakterier (till exempel *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *A. actinomycetemcomitans*, *S. mutans* [26, 27] och *S. gordonii* [28–32]) (Tabell 1).

AI-2-signalerings betydelse för biofilmbildning i *S. mutans* [26, 27] och *S. gordonii* [28] är inte färdigutredd. Inaktivering av LuxS-genen tycks emellertid påverka *S. mutans* i biofilmbildningen om den har tillgång till socker [27]. I *S. gordonii* leder inaktivering till ett ändrat uttryck av enzymer som är knutna till kolhydratmetabolismen [28]. Om LuxS-genen slås ut ändrar *P. gingivalis* uttrycket av virulensfaktorer som hemagglutinin- och proteasaktivitet [29, 30]. I *A. actinomycetemcomitans* stimuleras leukotoxinproduktionen av AI-2 [31]. AI-2 är också inblandad i bakteriens anpassning till en miljö med begränsad tillgång till järn [31, 32].

Eftersom AI-2-systemet används för kommunikation mellan bakterier är studier av biofilmer med flera typer av bakterier särskilt viktiga. *S. gordonii* och *P. gingivalis* bildar normalt biofilm tillsammans. Intressant nog visades nyligen att inaktivering av LuxS-genen i *P. gingivalis* och i *S. gordonii* ledde till att biofilmbildningen reducerades kraftigt [28].

Tabell 1. "Quorum"-signalering i orala bakterier

| Signalmolekyl | Bakterie | Fenotypisk effekt på |
|--------------------|---|--|
| CSP ^{a)} | <i>Streptococcus mutans</i> | Biofilmbildning, biofilmstruktur, naturlig transformation, stress- och syretolerans, cell-separation |
| | <i>Streptococcus gordonii</i> <i>Streptococcus intermedius</i> | Biofilmbildning, naturlig transformation |
| | <i>Streptococcus mitis</i> <i>Streptococcus oralis</i> <i>Streptococcus sanguis</i> <i>Streptococcus crista</i> <i>Streptococcus anginosus</i> <i>Streptococcus constellatus</i> | Naturlig transformation |
| | | |
| AI-2 ^{b)} | <i>Streptococcus gordonii</i> | Biofilmbildning med <i>Porphyromonas gingivalis</i> , kolhydratmetabolism |
| | <i>Porphyromonas gingivalis</i> | Biofilmbildning med <i>Streptococcus gordonii</i> , proteas- och hemagglutininaktivitet |
| | <i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Prevotella intermedia</i> | Okänd Okänd |
| | <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> | Adaptation till järnbegränsad miljö, leukotoxin-produktion |

a) CSP; Kompetensstimulerande peptid
b) AI-2; Autoinducer 2

Profylax

Utvecklingen och spridningen av multiresistenta bakteriestammar och det faktum att det ofta förekommer behandlingsresistenta biofilminfektioner gör att man försöker hitta nya sätt att bekämpa bakteriella infektioner på. Det är dags att gå från antibakteriella till antipatogena ämnen: I stället för att slå ut bakterierna bör man försöka göra dem mindre virulenta genom att reglera och begränsa deras uttryck av virulensfaktorer.

En möjlig väg i framtiden kan vara att försöka påverka bakteriernas kommunikationssystem. Med hjälp av gensekvensdata från bakteriella genom och det humana genomet kan man identifiera genmål som är unika för bakterier.

Ur terapeutisk synvinkel är gener som är livsviktiga för bakteriernas överlevnad ett aktuellt mål. Ur profylaktisk synvinkel är målet att kunna störa bakteriernas möjligheter att orsaka sjukdom utan att balansen i normalfloran påverkas. I munhålan kan man tänka sig att använda sådana mekanismer för att till exempel etablera en ekologisk balans som upprätthåller oral hälsa.

Vi antar att en mogen plackbiofilm är resultatet av en serie väl reglerade processer där var och en kan representera ett potentiellt mål för biofilmb kontroll. Här diskuterar vi hur vi tänker oss att påverkan genom signalöverföring skulle kunna användas som profylaktisk metod.

Interferens med signalöverföring

Den australiska rödalgen *Delisea pulchra* klarar sig från att bli koloniserad av bakterier genom att den producerar så kallade furanoner som sekundära metaboliter. Furanon har en struktur som motsvarar quorum-signal molekylerna homoserinlaktoner. Homoserinlaktoner används som quorum-signal av gramnegativa bakterier. Furanoner kan syntetiseras och har visat sig kunna hämma biofilmbildning i *P. aeruginosa* [33]. Man har också funnit andra molekyler i naturen som kan störa homoserinlaktomedierad signalöverföring, till exempel molekyler som produceras av bacillus- och variovoraxarter [34–36].

Genom att slå ut acylgruppen på homoserinlaktoner kan man störa signalöverföringen. Enzymet acylas I från svin visade sig nyligen kunna slå ut homoserinlaktoner från gramnegativa bakterier [37]. I marina bakterier ledde detta till minskad biofilmbildning.

En annan möjlighet att påverka signalöverföringen är att använda syntetiska signalmolekylanaloger, både agonister och antagonister [38–40]. *Staphylococcus aureus* använder tiolakton oligopeptider som signalmolekyler. De kan både aktivera och hämma quorum-signalerna. Naturligt förekommande signalmolekyler med små förändringar kan minska virulensen i *S. aureus* [41]. I odontologiska sammanhang är det intressant att

det breda spektrade triklosan som används i tandkräm hämmar syntes av föregångaren till homoserinlaktoner [42]. Homoserinlaktonsignaler har dock inte påvisats i orala bakterier [17, 30, 43].

De kända quorum-signalssystemen i orala bakterier är AI-2-systemet och det peptidinducerade signalssystemet CSP. AI-2-systemet är ett universellt quorum-system som används av både grampositiva och gramnegativa bakterier. Därför kan AI-2 vara ett intressant mål för profylax. AI-2 påverkar bindningen av *P. gingivalis* till *S. gordonii* i biofilm [28]. Vi saknar dock fortfarande kunskap om AI-2:s roll i plackbiofilmer. Den kunskapen är nödvändig för att vi ska kunna bedöma möjligheterna till profylaktisk intervention.

Att försöka störa CSP-signalssystemet kan vara ett annat sätt att bekämpa biofilmrelaterade sjukdomar. *S. gordonii* och *S. mutans* förmåga att bilda biofilm skulle kunna minska om man kan lära sig att störa CSP-signalssystemet. Vi vet ännu inte om tidiga kolonisatorer som *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis* och *Streptococcus mitis*, använder signalen vid biofilmbildning. Det skulle vara intressant att ta reda på om man genom att tillsätta syntetiskt CSP kan sätta igång biofilmbildning. I så fall skulle CSP kunna användas för att etablera en skyddande biofilm som kan hindra kolonisering av mer virulenta stammar. Vi vet att quorum-system och andra signalssystem är beroende av miljöfaktorer. Det är därför viktigt att ta reda på om de även fungerar under kliniska förhållanden.

Framtidsvisioner

Om förebyggandet av oral sjukdom ska baseras på att angripa eller förebygga biofilmbildning är det viktigt att känna till om bakterierna har utvecklat specifika mekanismer för att kunna leva i biofilm. Om det är så, är de mekanismer som ingår i biofilmbildningen lämpliga mål för intervention. De olika stadierna i biofilmbildning tycks följa i stort sett samma mönster hos de flesta bakterier men biofilmarkitekturen och de molekylära mekanismer som är inblandade varierar. Mekanismerna för biofilmbildning i *P. aeruginosa* är karaktäristiska och kan tjäna som modell för hypoteser om funktionen hos andra bakterier. Att kunna störa quorum-systemen i orala bakterier är en intressant möjlighet att kunna förebygga oral sjukdom i framtiden. Vi saknar dock fortfarande information om de molekylära mekanismer och signalvägar som medverkar vid bildandet av plackbiofilm. Här ligger en viktig utmaning för forskningen.

English summary

Biofilm and communication between bacteria – possible strategies for prevention of oral diseases
Anne Aamdal Scheie & Fernanda Cristina Petersen
Tandläkartidningen 2006; 98 (2): 34–9

Few of the existing oral prophylactic agents have significant effects on oral diseases, which could be due to the failure to recognise that the microorganisms involved organize into complex biofilm communities with features that differ from free floating cells. Recent approaches to study microbial gene expression and regulation in non-oral microorganisms have shed light on quorum sensing systems for the transduction of signals that allow coordinated gene expression. Information is still lacking on the genetic regulation of dental plaque formation. Thus, a better understanding of these processes is of considerable importance for the development of novel strategies to prevent oral disease. We suggest that interfering with quorum sensing systems represents promising strategies for the prevention of oral diseases. Therefore, defining the functions of such systems in oral biofilms is the challenge for future studies.

Referenser

- Costerton JW, Geesey GG, Cheng KJ. How bacteria stick. *Sci Am* 1978; 238: 86–95.
- Sutherland IW. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology* 2001; 147: 3–9.
- Costerton JW. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995; 49: 711–45.
- Mah TF, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol* 2001; 9: 34–9.
- Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nat Rev Drug Discov* 2003; 2: 114–22.
- Svensäter G, Welin J, Wilkins JC, Beighton D, Hamilton IR. Protein expression by planktonic and biofilm cells of *Streptococcus mutans*. *FEMS Microbiol Lett* 2001; 205: 139–46.
- Burne RA, Chen YY, Penders JE. Analysis of gene expression in *Streptococcus mutans* in biofilms in vitro. *Adv Dent Res* 1997; 11: 100–9.
- Li YH, Chen YY, Burne RA. Regulation of urease gene expression by *Streptococcus salivarius* growing in biofilms. *Environ Microbiol* 2000; 2: 169–77.
- Sauer K, Camper AK, Ehrlich GD, Costerton JW, Davies DG. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *J Bacteriol* 2002; 184: 1140–54.
- Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, Iglewski BH, Costerton JW, Greenberg EP. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science* 1998; 280: 295–8.
- Pratt LA, Kolter R. Genetic analyses of bacterial biofilm formation. *Curr Opin Microbiol* 1999; 2: 598–603.
- Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW. Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol* 2002; 56: 187–209.
- Bassler BL. How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. *Curr Opin Microbiol* 1999; 2: 582–7.
- Bassler BL, Wright M, Silverman MR. Multiple signaling systems controlling expression of luminescence in *Vibrio harveyi*: sequence and function of genes encoding a second sensory pathway. *Mol Microbiol* 1994; 13: 273–86.
- Miller MB, Bassler BL. Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol* 2001; 55: 165–99.
- Bassler BL, Greenberg EP, Stevens AM. Cross-species induction of luminescence in the quorum-sensing bacterium *Vibrio harveyi*. *J Bacteriol* 1997; 179: 4043–5.
- Frias J, Olle E, Alsina M. Periodontal pathogens produce quorum sensing signal molecules. *Infect Immun* 2001; 69: 3431–4.
- Loo CY, Corliss DA, Ganeshkumar N. *Streptococcus gordonii* biofilm formation: identification of genes that code for biofilm phenotypes. *J Bacteriol* 2000; 182: 1374–82.
- Håvarstein LS, Gaustad P, Nes IF, Morrison DA. Identification of the streptococcal competence-pheromone receptor. *Mol Microbiol* 1996; 21: 863–9.
- Håvarstein LS, Hakenbeck R, Gaustad P. Natural competence in the genus *Streptococcus*: evidence that streptococci can change phenotype by interspecies recombinational exchanges. *J Bacteriol* 1997; 179: 6589–94.
- Bhagwat SP, Nary J, Burne RA. Effects of mutating putative two-component systems on biofilm formation by *Streptococcus mutans* UA159. *FEMS Microbiol Lett* 2001; 205: 225–30.
- Li YH, Tang N, Aspiras MB, et al. A quorum-sensing signaling system essential for genetic competence in *Streptococcus mutans* is involved in biofilm formation. *J Bacteriol* 2002; 184: 2699–708.
- Yoshida A, Kuramitsu HK. Multiple *Streptococcus mutans* genes are involved in biofilm formation. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 6283–91.
- Yother J, Trieu-Cuot P, Klaenhammer TR, De Vos WM. Genetics of streptococci, lactococci, and enterococci: review of the sixth international conference. *J Bacteriol* 2002; 184: 6085–92.
- Li YH, Hanna MN, Svensäter G, Ellen RP, Cvitkovitch DG. Cell density modulates acid adaptation in *Streptococcus mutans*: implications for survival in biofilms. *J Bacteriol* 2001; 183: 6875–84.
- Wen ZT, Burne RA. Functional genomics approach to identifying genes required for biofilm development by *Streptococcus mutans*. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 1196–203.
- Merritt J, Qi F, Goodman SD, Anderson MH, Shi W. Mutation of *luxS* affects biofilm formation in *Streptococcus mutans*. *Infect Immun* 2003; 71: 1972–9.
- McNab R, Ford SK, El-Sabaeny A, Barbieri B, Cook GS, Lamont RJ. *LuxS*-based signaling in *Streptococcus gordonii*: autoinducer 2 controls carbohydrate metabolism and biofilm formation with *Porphyromonas gingivalis*. *J Bacteriol* 2003; 185: 274–84.
- Chung WO, Park Y, Lamont RJ, McNab R, Barbieri B, Demuth DR. Signaling system in *Porphyromonas gingivalis* based on a *LuxS* protein. *J Bacteriol* 2001; 183: 3903–9.
- Burgess NA, Kirke DF, Williams P, et al. *LuxS*-dependent quorum sensing in *Porphyromonas gingivalis* modulates protease and haemagglutinin activities but is not essential for virulence. *Microbiology* 2002; 148: 763–72.

Den fullständiga referenslistan kan fås hos författaren.

Adress:

Anne Aamdal Scheie,
Institutet för oral
biologi, Odontologiska
fakulteten, Universitetet
i Oslo, Pb 1052 Blindern
NO-0316 Oslo, Norge
E-post: ascheie@
odont.uio.no