

## Prevention of Biofilm Infections

Kwi-Ok Oh<sup>1</sup> and Kack-Kyun Kim<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Information Analysis Center, Korea Institute of Science and Technology Information, Daejeon, Korea

<sup>2</sup>Department of Oral Microbiology and Immunology, School of Dentistry, Seoul National University, Seoul, Korea

Biofilms are well-organized, complex microbial communities that are often highly resistant to antimicrobial agents and host defenses. Biofilms are often formed on the surfaces of surgical implants and indwelling catheters. Being extremely resistant to removal, biofilms, once formed, cause numerous complications and often result in persistent infections that require long-term hospitalization for treatment. Until now, preventive measures employing prophylactic antimicrobials that prohibit or restrict biofilm formation have been the only feasible, effective options available, with the constant concomitant threat of antimicrobial resistance. However, the development of chemical agents that specifically act upon the virulence of biofilms, rather than destroying the microorganisms or suppressing their growth, is a promising new approach. Such agents are highly desirable in that they might allow clinicians to prevent the development of antimicrobial resistance. Effective suppression of biofilm formation would dramatically change the way to treat infectious disease. In this literature review, the types of infections associated with biofilms and relevant therapeutic options that have been approved, in use, or under development to treat biofilm infections are discussed, along with novel approaches to biofilm control that may be applicable to the development of future anti-biofilm agents.

**Key Words:** Biofilms, Host defenses, Persistent infections, Antimicrobial resistance, Anti-biofilm agents

### 서 론

세균 전체 생물량(biomass)의 대부분은 바이오필름(biofilm)의 형태를 취하고 있는 것으로 알려져 있으며, 임상적인 측면에서는 미국 NIH가 지속성 세균감염의 80% 이상이 바이오필름을 수반하는 것으로 보인다고 추정할 정도로 바이오필름과 만성 감염의 관련성은 특히 심각하다 (1).

바이오필름으로 증식하는 미생물은 동일 미생물의 플

랑크톤 형태보다 항생제와 숙주방어에 대한 저항성이 훨씬 높기 때문에, 바이오필름의 형성 및 지속은 환자의 예후와 심각한 관련이 있다 (2). 대부분의 경우 바이오필름 감염을 해소하는데는 많은 어려움이 따르며, 만성 또는 재발성 감염이 흔히 나타난다. 바이오필름 감염은 항생제 내성의 신속한 획득을 비롯, 배양이 불가능한 미생물들에 의한 감염, 만성염증, 상처치유 지연 및 감염성 색전(emboli)의 확산 등, 많은 임상적 난제를 안겨주고 있다 (2).

임상의들이 현재 감염질환과의 전쟁에서 사용하는 모든 항생제들은 오히려 세균의 진화를 촉진시키는 결과를 초래하고 있다. 세균의 진화와 선택을 피하면서 세균과 싸우기 위해서는 세균 내 표적을 달리하는 새로운 전술과 무기가 필요하다. 또한 바이오필름 감염을 대상으로 그 제어방법의 탐색이 시급하다. 본 종설에서는 바이오필름에 의한 감염, 그리고 그 제어를 위하여 현재 사용되고 있거나 승인 혹은 연구 중에 있는 요법 및 미래의 바이오필름 항균제 개발을 위하여 응용될 수 있는 새로운 접

Received: September 22, 2009/ Revised: October 1, 2009

Accepted: October 7, 2009

\*Corresponding author: Kack-Kyun Kim, Department of Oral Microbiology and Immunology, School of Dentistry, Seoul National University, 28 Yongon-Dong, Jongno-Gu, Seoul 110-749, Korea.

Phone: +82-2-740-8642, Fax: +82-2-743-0311

e-mail: kackkim@snu.ac.kr

\*\*This article about biofilms is the product of a literature review project supported by Ministry of Education, Science and Technology as a Program of Retired Scientists and Engineers for Advancement of Technology (ReSEAT) of the Korea Institute of Science and Technology Information (KISTI).

근법에 관하여 고찰하였다.

## 본 론

### 1. 바이오필름 생물학

#### (1) 바이오필름의 특성

자연적인 환경에서 대부분의 세균과 곰팡이는 필수 영양소의 가용여부 (availability) 같은 환경조건에 반응하여 플랑크톤 상태와 고착 (바이오필름)상태를 오가면서 살아간다. 종종 영양소 제한에 대한 반응으로서 고착상태 성장으로의 전환이 일어나는데, 이는 인내 상태 (perseverance mode)로의 발육전환을 반영하는 것이라고 생각된다. 영양소의 가용여부는 경쟁 유기체의 총량과 연관이 있으므로 이러한 발육전환은 흔히 종 집단 내부 및 종 집단 사이의 정족수 감지 (quorum sensing, QS) 기전에 의해 조절되곤 한다 (3).

바이오필름 형성에는 다수의 물리적, 생물학적 및 화학적 과정이 포함되며, 각각의 상대적 기여도는 바이오필름 발생기간 내내 변화하고 지배적인 환경 및 유체역학적 조건에 의존하게 된다. 생체조직이나 의료기구를 덮고 있는 fibronectin, vitronectin, fibrinogen, albumin 및 면역글로불린 같은 단백질이나 당단백질들은 집락 세균의 수용체에 대하여 결합 리간드로서 작용을 하며, 세균은 비특이적 및 특이적 수용체-리간드 부착기전에 의해 부착하게 된다. 부착한지 수 분 이내에 세균 내부에는 세균 공동체 전반의 표현형 반응을 조정하는 특정 세포신호분자의 분비가 QS를 통해 상향조절되는데, 이와 같은 반응에는 병원성 인자의 상향조절과 세포의 중합체 분비가 포함된다. 바이오필름은 수용성 영양소를 계속 소비하고, 다른 세균 종이나 포유류 세포 (예, 혈소판)를 동원함으로써 성숙한다 (4).

표현형 수준에서 본다면, 미생물 바이오필름이란, 플랑크톤 형에 대해 활성을 나타내는 항균제에 대하여 내성을 보이는 미생물 세포공동체로서 묘사될 수 있다. 이러한 표현형적 반응뿐 만 아니라 이들 다세포구조는 병원 내 미생물의 항생제 내성형질 발생 및 그 확산에서 임상적으로 의미가 있는 유전형적 반응을 보이기도 한다. 이러한 유전형적 반응으로는 높아진 돌연변이율을 통하여 항생제 내성이 새롭게 나타나는 것 뿐 아니라, 미생물 종 내, 또는 종 사이의 전달 기전을 통하여 항생제 내성

형질 유전적 요소의 교환이 증대되는 경향도 포함이 된다 (2, 3).

#### (2) 숙주 면역세포-바이오필름 상호작용

자유로이 부유하는 미생물은 면역계에 의한 탐지를 회피하는 여러 방법들을 진화시켜 왔다. 이들 기전 중의 하나가 바이오필름을 형성하는 것이다. 바이오필름 세균과 면역계의 상호작용에 초점을 맞춰 이루어진 연구는 거의 없었으나, 이러한 추세는 이제 차츰 바뀌고 있다. 면역세포와 세균 사이에는 역동적인 되먹이기 관계가 있는 것으로 보이며, 이러한 상호관계는 만성염증과 상처치유 지연의 원인 기전으로 작용할 수 있다. 즉, 바이오필름 세균은 면역 반응을 교묘하게 조작할 수 있으며, 또 한편으로 면역세포 반응이 바이오필름 형성을 조장하고 병원성을 강화시킬 수 있다.

지난 수 년 간 바이오필름의 면역 내성에 관한 설명으로 거론되었던 것 중 하나는 면역세포가 바이오필름을 투과할 수 없다는 것이었다. 백혈구의 *Staphylococcus aureus* 바이오필름 투과성에 관한 연구 (5)에 의하면, 백혈구가 바이오필름을 투과할 수는 있었으나 세균을 포식하지는 못하였으며, 외부다당류(exopolysaccharide)인 alginate 기질이 IFN- $\gamma$ -매개 백혈구 살균작용으로부터 *Pseudomonas aeruginosa* 바이오필름 세균을 보호한다.

사람 중성구가 *P. aeruginosa* 바이오필름 초기 발생을 증진시키는 역할을 한다고 보고되었으며, 이는 중성구가 생성하는 actin과 DNA로 이루어진 중합체 때문인 것으로 여겨진다 (6). 세균은 F-actin에 결합하며 유리 DNA는 바이오필름 기질의 안정성을 촉진한다. 말초혈액단핵구 (peripheral blood mononuclear cells; PBMCs)는 *Candida albicans*의 바이오필름 형성능력을 증진시키며 대다수의 PBMCs가 바이오필름 기저 및 중간층에 위치한다고 보고되었다 (7).

Zimmermann 등 (8)은 *P. aeruginosa*의 QS 분자인 N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine lactone (3OC12-HSL)이 *in vitro*에서 중성구의 화학주성을 유도한다고 보고하였다. 이들 세균신호는 면역세포 반응을 자극하게 되고, 다음으로 이것이 바이오필름 형성과 병원성을 증진시킨다는 설명이 가능하다. 여러 연구결과는 부착 세균이 QS 분자를 통해 실제로 정족수를 감지할 수 있을 뿐 아니라 숙주 면역 반응도 조절할 수 있음을 시사하고 있다.

## 2. 바이오필름-연관 감염

### (1) 이식물 또는 의료기구-연관 바이오필름 감염

병원 내 감염의 60~70%는 유형을 불문하고 이식된 의료기구와 연관되어 있다. 모든 의료장비 또는 조직공학 구조물은 미생물 집락형성과 감염에 대해 취약하다. 항생제 치료에 잘 듣지 않는 이물질 감염을 비롯 이들 환자로부터 적출한 삽입 의료기구의 현미경 검사를 통해, 세균 및 곰팡이가 형성한 바이오필름-유사 구조의 존재가 입증되고 있다 (3).

삽입 의료기구의 바이오필름 감염과의 가장 빈번한 연관으로 잘 알려진 그람양성구균에는 혈장응고효소-음성 포도구균 (coagulase-negative staphylococci, CoNS)이 자주 포함되며, 코인두 세균무리와 병원 내 감염 병원균인 *S. aureus*도 많이 발견된다. 삽입 의료기구의 *S. aureus* 바이오필름 감염은 좀 더 급성으로 나타나는 경향이 있으며, 현저한 조직손상과 숙주 면역 반응을 촉진하게 된다. 이와 대조적으로 CoNS 감염은 좀 더 만성적으로 질환이 진행되는 경향이 있다 (9).

곰팡이 병원균 중에서는 *C. albicans*가 삽입 의료기구의 바이오필름 집락형성과 가장 빈번하게 연관되며, 그 결과로 일어나는 칸디다증은 높은 사망률과 관계가 있다. 그 외에도 카테터-관련 혈행 감염과 연관된 기회성 바이오필름-형성 *Candida* 종에는 *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. lusitanae*, *C. krusei* 및 *C. glabrata*가 포함된다. *Aspergillus* 종에 의한 인공판막 및 기타 심장기구 감염과 연관된 심내막염이 면역약화 환자에서 점차 관심의 대상이 되어가고 있다. *Candida*와 *Aspergillus* 종은 전체 인공 삽입에 의한 감염의 단지 8%에서만 원인균주로서 확인되고 있지만, 50%에 지나지 않는 낮은 생존율을 보이기도 하는 만만치 않은 병원균으로서 부상하고 있다 (10).

*C. albicans*와 *S. epidermidis*에 의해 형성된 복수균주 바이오필름에 관한 연구에 의하면, 곰팡이 종에 의해 생산된 세포외 고분자 기질이 세균을 항생제로부터 보호할 수 있는 한편, 세균성 기질은 곰팡이를 항진균제로부터 보호한다는 것을 추정할 수 있다. 또 다른 연구는 항생제 내성형질의 중간 전달 강화, 공생적 상호작용 및 연속 집락화 패턴이 복수균주 바이오필름에서 나타남을 보여주었다 (11~13).

### (2) 생체조직 바이오필름 감염

삽입 의료기구의 불활성 표면의 집락형성이 가장 빈번한 바이오필름-연관 감염이긴 하지만, 이물질과 무관하게 일어나는 일부 감염에서는 생체 표면 바이오필름 집락형성이 감염의 필수적인 요소일 수도 있다는 증거가 점차 드러나고 있다. 요도 방광상피에서 요병원성 *Escherichia coli* 침습 후 형성되는 세포 내 바이오필름 및 내재 저장소에 숨어있는 소수의 휴지기 상태 세균은 재발성 요도 감염의 병인과 관련이 있다 (14). 소아에서 중이의 첫 감염 이후 계속 지속되는 바이오필름으로부터 만성 중이염이 유래한다는 사실이 임상연구 결과 밝혀졌다 (15). 위궤양 환자의 생검 위점막에는 *Helicobacter pylori* 바이오필름이 존재한다는 것이 보고되었다 (16). 또한 낭성섬유증 환자는 *P. aeruginosa* 바이오필름-매개에 의한 만성 폐감염의 위협을 받는데, 이러한 감염은 낭성섬유증 환자의 높은 유병율과 사망률의 원인이 되고 있다 (17). 이와 같은 감염에서는 경험적 관찰에 의거한 항균요법이 계속될 것이다. 그러나 알려진 이물질 요소가 없는, 특히 전통적인 요법에 반응하지 않는 만성 감염에서 바이오필름의 잠재적 역할에 대한 지지가 점차 증가하고 있으며, 따라서 개선된 항바이오필름 효능을 지닌 항균요법의 발굴을 위한 연구가 시급하다.

### (3) 만성 상처 바이오필름 감염

만성적인 상처에는 수많은 세균 종들이 집락을 형성한다. 만성 정맥성 다리궤양 환자의 세균 양상 조사에서 *S. aureus* (조사된 궤양 환자의 93.5%), *Enterococcus faecalis* (71.7%), *P. aeruginosa* (52.5%), CoNS (45.7%), *Proteus* 종 (41.3%) 및 혐기성균 (39.1%) 등이 관찰되었다 (18). 입원 환자 중 8~10%는 만성 바이오필름-매개 감염을 일으키는 것으로 악명이 높은 *P. aeruginosa*와 *S. aureus* 같은 병원균 감염에 대해 취약하였다. 현재 이와 같은 기회 감염 병원체가 상처치유에 미치는 영향에 관하여 몇 가지 논쟁이 있다. 모든 만성 상처의 깊은 진피조직에는 다수의 세균 종이 살고 있다고 알려져 있지만, 만성 상처의 절반 이상에서 *P. aeruginosa*가 집락을 이루고 있다는 보고가 있었다 (18). 게다가 *P. aeruginosa*-감염 상처는 *P. aeruginosa*를 포함하고 있지 않은 상처보다 크기가 훨씬 더 큰 것으로 밝혀졌다. 또한 *P. aeruginosa*가 존재함으로써 치유과정이 지연되거나 심지어는 차단되는 것으로 보

인다 (18, 19). 만성 상처에서 바이오필름 상태로 성장하는 세균에 대하여 아직 만족할만하게 밝혀진 것은 없지만, 임상적 징후는 다른 바이오필름-매개 감염과 유사하다. 항생제요법에 있어서 효율적인 치료를 위한 최적요법은 아직 없으며, 바이오필름 감염은 숙주방어에 저항하는 것을 공통된 특징으로 한다.

#### (4) 치아 바이오필름

치아우식은 대부분의 선진국과 개발도상국에서 청소년층과 젊은 성인의 90%가 앓고 있는 감염질환이다. 이 질환은 치아 바이오필름(치태; dental plaque)과 에나멜 표면의 접촉면을 따라 발생하는 복합질환이다. 치아 바이오필름이 우식 발생의 요인이기는 하지만, 다른 한편으로는 타액으로부터 칼슘, 인 및 불소를 치태 내로 포획함으로써 탈회된 (demineralized) 에나멜에서 무기질 재침착 (remineralization)이 일어날 수 있게 해 주는 보호적인 성질도 나타낸다 (20).

치아맹출 (tooth eruption) 직후, 또는 깨끗이 칫솔질한 후, 노출된 치아 표면은 곧바로 획득 에나멜 피막 (acquired enamel pellicle)으로 뒤덮이게 된다. 에나멜 피막은 타액에서 유래한 statherin, proline-rich protein (PRP) 및 점액성 단백질이 hydroxyapatite (HAP)에 단단하게 결합하고 있는 무균의 보호성 단백질 기저층을 이루며, 세균 부착의 기질로 작용하여 바이오필름 형성이 개시되게 한다. 치아 바이오필름은 치아와 건강을 보호할 수도 있고 (토박이 균무리가 병원균에 의한 집락형성을 방해하는 것) 또 파괴할 수도 있다 (구강 세균이 구강 및 전신질환을 일으키는 것) (20).

치아 바이오필름은 산 생성 (acidogenic) 및 내산 (aciduric) 성질을 지닌 우식유발 세균을 포함하고 있다. 대표적인 우식원성 (cariogenic) 세균에는 *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus*, *Lactobacillus* 종 및 *Actinomyces* 종이 포함된다. 발효될 수 있는 식이 탄수화물이 풍부할 때 동종발효 (homofermentative) streptococci는 젖산만을 생산하는데, 젖산은 사실상 가장 강한 유기산이며 따라서 에나멜 탈회를 일으키는 산이다 (20).

치태형성 후반에는 세포의 중합체 합성이 일어나, 바이오필름의 상당 부분이 세포의 기질로 이루어진다. 바이오필름 상태에서는 미생물들이 서로 근접해 있으므로 세균들 사이의 보호인자 유전자 전달, 전체 공동체를 지지하기 위한 세포의 기질의 합성, 다른 미생물의 대사에

이용될 수 있는 부산물의 합성, 그리고 항균제에 대한 억제제 분비 등과 같은 일을 통해 공생관계가 쉽게 이루어진다. 바이오필름은 선택적 투과성을 지닌 막으로 작용하므로, 항균제, 세포외 효소 및 유독 성분들의 진입을 제한하며 항균제에 대한 내성 증가를 나타낸다. 치태 세균의 항생제 및 항균제 (예, chlorhexidine)에 대한 내성은 동일 종 플랑크톤 형 세균에 비해 10배 내지 1,000배 이상으로 증가될 수 있다 (20).

#### (5) 건강관리 비용에 미치는 바이오필름 감염의 영향

비외과적 삽입 의료기구 (예, 요도카테터)의 감염은 삽입 의료기구의 제거와 재장착이 용이하기 때문에 그 경제적 영향은 매우 낮은 편이다. 그러나 투석에 의존하는 성인들에서 카테터 관련 혈행 감염에 기인하는 균혈증은 상당한 비용과 높은 2차 합병증의 가능성을 비롯 훨씬 더 심각한 문제를 불러일으킨다. 마찬가지로 외과적 이식물의 감염과 관련된 비용은, 미국의 경우, 골절을 고정하는 정형외과 의료기구 (건당 \$15,000)로부터 심장판막 (\$50,000 혹은 그 이상)에 이르기까지, 감염된 이식물의 교체를 위한 범위가 매우 다양하다. 바이오필름 연관 감염관리와 관련하여 더 말할 나위없이, 외과적 시술 단순화 및 통상적인 병원 체류 요구조건 단축을 위한 새로운 처치 옵션이 필요하다 (3).

### 3. 바이오필름 감염의 제어

#### (1) 바이오필름 감염 제어를 위한 항균요법

##### 1) 예방요법

항생제 및 살균제의 예방적 사용은 삽입 의료기구 바이오필름 연관 감염의 발생을 감소시킬 수 있다. 예방을 위한 전략은 기구 코팅, 기구 담금, 외과시술부위 세척, 항생제를 섞은 접합제 사용, 항생제-잠금 요법 (antibiotic-lock therapy) 등이 있다. 항생제-잠금 요법에서는 고농도 항생제 용액을 카테터 내강을 채울 정도까지 서서히 주입한다. 그런 다음 카테터를 사용하지 않는 장기간 동안 세균 집락형성 예방과 감염 위험도를 낮출 목적으로 잠가놓는다.

항생제의 예방적 사용에 대해서는 항생제 내성 증가의 가능성 때문에 이론의 여지가 많이 있지만 고위험도 환자군에서는 더 더욱 흔하게 시행되고 있다. 혈액투석 환자에서 항생제-잠금 요법의 효능에 대한 연구결과들에

의하면, 이 방법에 의하여 카테터 관련 혈행 감염이 64~100% 감소하였다고 하였다 (3).

## 2) 치료요법: 외과적 중재와 항균요법의 병행

감염된 삽입 의료기구의 대체 또는 제거와 항생제 전신 투여 및 항진균요법을 병행하는 것은 대다수의 상황에서 가장 효과적인 치료법이다. 바이오필름-연관 감염 관리를 위해 권장되는 항생제요법은 대개 경험적 관찰에 의한 것이며 전형적으로 장기간의 복합요법을 수반한다.

치료요법의 대안들을 직접 비교한 임상 연구는 비교적 적은 편이다. 카테터-관련 혈행 감염의 경우에만 효능 연구의 고안과 시행에 관한 초안 지침이 마련되어 있을 뿐, 삽입 의료기구 감염 상황에서는 항생제요법의 임상 평가에 관한 직접적인 그 어떤 비교연구도 거의 시행되지 않았다. 모든 제제 중 임상시험에서 아마도 가장 완벽하게 평가된 것으로 여겨지고 있는 것은 삽입 의료기구 포도구균 감염에서의 rifampin 병행요법이다. Rifampin은 quinolones, beta-lactams 또는 fusidic acid와 병행하여 사용되었으며, rifampin 병행요법은 현재 여러 의료기구 연관 감염의 표준요법으로 확립되어 있다 (21, 22).

항진균제를 전신으로 투여하여 바이오필름-연관 곰팡이 감염을 치료하는 일은 매우 어렵다. *C. albicans* 및 기

타 곰팡이 종들에 의해 형성된 바이오필름이 다양한 항진균제에 대하여 *in vitro* 내성을 나타낸다는 사실을 감안한다면 *in vivo* 효능이 매우 낮다는 것은 그리 놀라운 일이 아니다. 그러나 echinocandin 부류의 제제들은 확립된 바이오필름에서 곰팡이 살균과 바이오필름 집락형성의 억제라는 매우 탁월한 *in vitro* 활성을 나타낸다. 이들 활성은 echinocandins의 표적이 되는 경로인 glucan 합성이 바이오필름에서 특수한 역할을 하거나 또는 echinocandins로 처리한 진균에서 삼투불안정성이 나타남을 반영하는 것이다. *In vitro* 바이오필름 활성 분석에 의하면 amphotericin-B lipid-based formulation도 효과적인 것으로 증명되었다. 바이오필름 연관 삽입 의료기구의 곰팡이 감염관리는 가능한 한 감염 의료기구 교체와 전신적인 항진균요법의 병행을 필요로 한다. 현재 통용되고 있는 요법 중 echinocandin 부류 항진균제와 amphotericin B lipid-based formulation이 곰팡이 바이오필름 연관 감염 치료에서 최상의 선택임을 몇몇 *in vitro* 실험, 동물실험 및 임상시험 데이터가 보여주고 있다 (3).

## 3) 실험적 항바이오필름 요법

삽입 의료기구 바이오필름 연관 감염의 관리를 위한 새로운 실험적 접근법이 Table 1에 기술되어 있다. 다양

**Table 1.** Experimental approaches for the treatment or prophylaxis of biofilm-associated infections (3)

Approach	Mode of action
Pilicides	Inhibits bacterial pilus biogenesis and surface attachment
RNA III inhibiting peptide (RIP)	Disrupts quorum-sensing pathways in staphylococci
Acyl-homoserine lactone mimetics	Disrupts quorum-sensing pathways
Furanones	Disrupts quorum-sensing pathways
Omigard (omiganan cationic peptide)	Topical gel for prophylaxis settings including CRBSIs <sup>a</sup>
Aganocides	Hypochlorous acid based compounds
Ceragenins	Depolarizes membrane potential; device coatings
Lysostaphin	Prevents or disrupts staphylococcal biofilms
Device coatings	Controlled release of antimicrobials from device surfaces
Hydrogel coatings	Controlled release of silver compounds
Surface acoustic waves	Disrupts device adhesion and colonization
Pulsed ultrasound	Enhances local release of antibiotic from cements
Electric direct current	Prevents or disrupts biofilm colonization
Intelligent implants	MEMS <sup>b</sup> -based release of antimicrobial(s) from reservoir
Gallium compounds	Antimicrobial potentiator via disruption of iron metabolism

Abbreviations: <sup>a</sup>CRBSI, catheter-related bloodstream infection; <sup>b</sup>MEMS, microelectromechanical systems

하게 변모된 의료기구 및 외과재료가 포함되며 대부분은 예방적 응용을 위한 것이다. 이들은 병원성 미생물 집락형성에 저항하는 새로운 재료와 항생제, 항균제 또는 QS 억제제들이 의료기구에 공유결합되어 있거나 국소적으로 용출되는 새로운 기구 코팅 접근법을 이용하고 있다. 의료기구에 집락형성을 감소시키거나 국소적으로 적용된 항생제 분비 및 효과를 증대시키기 위해 저에너지 표면음과, 전류 또는 맥동 고음파를 방출하는 삽입 의료기구가 보고되었다. 이들 의료기구의 변모 이외에도 외과시술부위 감염을 억제하기 위해 삽입 의료기구를 새로운 항생제 또는 항균제에 담그는 방법의 효과가 평가되고 있다.

Table 2는 예방 및 치료에서 임상적 잠재력을 평가하기 위한 *in vitro* 연구 및 동물모델을 통한 항바이오필름 활성연구가 진행 중에 있거나, 최근에 승인된 새로운 항생제들을 열거하고 있다. 예방적으로 lipopeptide와 lipoglycopeptide 부류의 제제들이 새로운 항생제-잠금 요법으로서 잠재적인 유망함을 보여주고 있는데, 이는 이들의 공통점인 신속한 살균제제로서의 작용을 반영하는 것일 수 있다. 치료에서는 dalbavancin만이 사람의 특정 비교시험에서 평가되었을 뿐이다. 이 시험에서 dalbavancin은 카테터 관련 혈행 감염 치료에서 vancomycin보다 월등한 효능을 보여주었다. 정형외과 환자의 난치성 그람 양성균 감염에서 quinupristin-dalfopristin 및 linezolid가 각각 78%와 55%의 임상적인 치유비율을 나타내었으나

이들 제제의 장기간 사용은 심각한 부작용을 유발할 수 있다.

바이오필름 연관 감염 치료를 위한 효과적인 제제가 부족하다는 것을 고려하여 바이오필름 효능의 *in vitro* 분석과 동물모델 모두에서 가장 유망한 항생제 조합을 찾아내기 위한 체계적인 연구가 시행되었다. 시험된 모든 제제 중에서 rifampin이 또 다시 포도구균 바이오필름에 대한 항생제 조합에 가장 보편적으로 포함이 되는데, 이는 서서히 성장하는 부착성 포도구균에 대한 이 제제의 탁월한 효능과 탁월한 조직 침투력을 반영하는 것이다. 그러나 모든 승인된 또는 연구 중에 있는 rifamycins 제제와 연관하여 현저한 내성출현 경향이 드러나고 있기 때문에 이들 제제를 적절한 파트너와 병용하는데 있어 제한을 받고 있다. 최근에 바이오필름 상태 포도구균에 대한 항미생물 활성과 내성출현 예방성질을 최적화한 rifamycin-quinolone hybrid 항생제 시리즈가 보고되었다 (23).

## (2) 바이오필름의 항균제 내성과 대안의 항균제 개발 접근법

### 1) 항균제에 대한 바이오필름의 내성 기전

바이오필름 감염부위에 항균제가 적절히 적용되었다고 하여도, 바이오필름 세포의 고분자 기질 내에 항균제가 갇히는 현상이 바이오필름 항균제 내성의 보편적인 기전으로서 종종 언급되곤 한다. 실험적 바이오필름에 대하

**Table 2.** Biofilm-related activity of approved and investigational antimicrobial agents (3)

Antimicrobial	Description	Biofilm-related activity
Dalbavancin	Lipoglycopeptide	CRBSI <sup>a</sup> treatment
Daptomycin	Lipopeptide	Biofilm reduction as lock solution in CVC <sup>b</sup> model Right-sided endocarditis Poor <i>in vitro</i> activity on adherent staphylococci
Linezolid	Oxazolidinone	Effective in combination with rifampin
Quinupristin-dalfopristin	Streptogramins	Bone and joint infections Biofilm reduction as lock solution in CVC model
Telavancin	Lipoglycopeptide	Biofilm reduction in sorbarod model
Tigecycline	Glycylcycline	Biofilm reduction in silicone disk model Effective in combination with rifampin
CBR-2092	Rifamycin-quinolone hybrid	Optimized for biofilm activity

Abbreviations: <sup>a</sup>CRBSI, catheter-related bloodstream infection; <sup>b</sup>CVC, central venous catheter

여 *vancomycin*과 *ampicillin*을 포함한 몇몇 항생제의 투과가 제한적으로 밖에 이루어지지 않고 있는 실정이다. 그러나 다른 항생제 (예, *tobramycin*과 *ciprofloxacin*, *rifampin*, 그리고 다양한 항진균제)의 경우는 실험적 바이오필름에서 확산이 이루어진다는 것이 명백하다. 그러나 바이오필름 기질 내에 존재하는 세포 내로의 항균제의 실제적인 침투에 대하여 평가를 내린 연구는 아직 없다. 종합적으로, 세포의 고분자 기질이 바이오필름 내 세균으로의 항균제 침투를 제한하는 장벽이라는 증거는 아직 없다.

전형적으로 숙주 면역방어와 협력하여 작용하는 정균 (bacteriostatic) 항생제의 경우, 바이오필름 세포의 고분자 코팅 내에 존재하는 세균은 숙주 면역세포 및 인자로부터 효과적으로 격리되는 것으로 생각된다. 그러나 *in vivo* 바이오필름 연관 감염에서 정균 및 살균제제 사이의 차이를 다른 명확한 연구는 없다.

세균이 항생제에 대한 감수성 저하를 나타낼 수 있는 또 다른 기전은 유출펌프의 발현증가이다. *P. aeruginosa* (24), 요병원성 *E. coli* (25) 및 *C. albicans* (26)에 의해 형성된 바이오필름에 관한 연구에서 항생제 전달체 유전자가 특이적으로 상향조절되는 것이 관찰되었다. 그러나 바이오필름 적응과 연관된 유전자 발현의 전반적인 변화에 관한 연구에 의하면 항생제 전달체의 상향조절이 보편적으로 나타나는 현상은 아닌 것으로 추정된다.

바이오필름 상태에서는 생존을 위한 적응으로 대사 및 이화경로의 변화를 필요로 하는데, 이러한 변화는 작용모드와 관련하여 항균제가 본래 갖고 있던 활성을 변화시킬 수 있다. 대사경로에서 유전형의 변화로 인한 *in vitro* 성장속도 저하의 특성을 나타내는 소위 small colony variants (SCVs) 세균이 실험적 바이오필름과 바이오필름 연관 감염으로 여겨지는 지속성 감염 환자의 조직에서 분리된다는 사실은 매우 흥미롭다 (27). 따라서 대사능력을 변화시키고 성장속도를 저하시키는 표현형 적응은 항생제 내성과 몇몇 바이오필름 관련 감염의 지속에 기여할 수도 있다.

바이오필름 상태와 플랑크톤 상태에서 배양된 세균을 구분하는 또 다른 양상은 생리적인 비균질성 (heterogeneity)이다. 이와 같은 표현형적 비균질성은 바이오필름 내의 세균 소집단이 특정 항균제에 대하여 낮은 감수성을 나타내는 것과 연관된다. 지속형 (persister) 세균 변형체에서 그와 같은 항생제 내성이 유도되는 분자적 사건에 관해서는 아직 제대로 파악된 바 없으나 형성속도에

영향을 주는 것으로 보이는 특정 유전자자리는 확인되었다 (28).

요약하면, 항생제 내성은 의학적 및 실험적 바이오필름 모두에서 잘 확립되어 있는 표현형이긴 하지만, 이 현상을 결정하는 분자적 기전은 복잡하며 세균 종, 항생제 종류 및 상황에 따라 다양한 것으로 보인다.

## 2) 항균제 내성에 대한 대안으로서의 항병원성 요법

오늘날 통용되고 있는 모든 항생제들은 본질적으로는 세균 박멸이라는 단일 주제의 변형일 뿐이다. 또한 새로운 항생제 개발 전략들도 미생물 생존에 결정적인 세포 과정을 표적으로 한다. 그렇지만 세균의 진화와 선택이라는 난제는 표적을 바꾸는 새로운 전술을 요구하고 있다.

새로운 항균제 개발을 위한 대안 접근법으로서 세균 병원성을 표적으로 하는 방법이 있다. 미생물의 존재에는 위협을 주지 않으면서 병원성만 제거하는 약물은 기존 항생제보다 약물내성 돌연변이를 일으키는 선택압력을 줄일 수 있다. 또한 현재의 항생제가 지니는 문제인 숙주 미생물무리의 극단적인 변화도 피할 수 있다.

항병원성 약물 개발을 위한 적절한 표적에는 세균의 초기 부착과 침습, 세균독소의 생산, 조립, 운송 및 분비 과정, 세균독소의 생산, QS 기전, 세균 세포 내 신호전달 등이 포함된다.

**미생물 부착과 침습.** Adhesins라고 부르는 특정 단백질들은 숙주 집락형성에 필요한 병원체와 숙주세포 표면 리간드 사이의 부착 상호작용을 매개한다. 감염 초기과정에서 세균 부착의 중요성 때문에 이를 억제하는 것은 세균 발병기전에 대항할 이상적인 전략의 전형이 될 수 있으며 감염예방을 위한 수단으로서도 적합하다. 대부분의 adhesin은 pili 또는 fimbriae로 불리는 이종중합체 (heteropolymeric) 세포의 섬유에 편입되어 있다. 세균 pili는 숙주에서 병원성 미생물의 부착과 유지에 결정적인 역할을 하는 것으로 보인다. Pilus를 매개로 하는 기능을 억제하기 위해서는 숙주세포에 대한 병원체의 결합을 물리적으로 방해하는 방법과 pilus 조립과정을 방해하는 방법의 두 가지 전략이 있으며, 후자는 pilus를 매개로 한 부착뿐 아니라 침습과 세포 내 바이오필름 형성도 차단하게 된다. 모든 요병원성 *E. coli*에서 발현되는 type 1 및 P pili는 모두 chaperone-usher system에 의해 조립이 이루어진다. Pilicides는 chaperone 기능을 표적으로 하며 pilus 생체 발생을 억제하는 pilus 억제제이다. Bi-cyclic 2-pyridone 골격에 토대를 둔 새로운 부류의 pilicides는

chaperone-usher 경로에 편재하는 chaperones의 보존된 영역을 표적 겨냥함으로써 *E. coli*에서 type 1과 P pilli 조립 과정 모두를 억제하며, 따라서 *E. coli* 바이오필름 형성을 억제한다 (29).

**세균독소.** 독소가 숙주에 손상을 주는 것을 차단하기 위한 여러 방법들이 있다. Vistatin은 *Vibrio cholerae*에서 전사인자를 표적으로 하여 cholera 독소 및 다른 병원성 인자의 생산 초기단계와 관련된 유전자 발현을 억제한다. 한편 과상풍, 디프테리아 및 보툴리눔 독소에 노출된 후의 처치로서 항체를 이용한 독소중화 전략은 최선의 방법으로 이용되어 왔다 (30, 31). 단순히 독소를 중화시키는 것에 더하여, 항체를 매개로 한 병원체 및 이들의 병원성물질의 인지 및 제거를 비롯한 좀 더 복잡한 숙주 반응을 통해 숙주에게 상당히 유리하게 작용하도록 할 수 있다. 그러나 type III 분비시스템에 의해 분비되는 독소는 숙주에 직접적으로 전달이 되며, 온 몸을 순환하지 않으므로 항체는 독소중화를 위한 이상적인 후보가 될 수 없다. *Bacillus anthracis*에서 생산되는 탄저독소의 조립과정 및 기능에는 표적으로 삼을 수 있는 몇 가지 체크포인트가 있다 (32).

**병원성 인자 분비시스템.** 많은 그람음성 병원균들은 type III 분비시스템 (type III secretion system, T3SS)을 이용하여 그들의 병원성 물질들을 배출한다. 이 시스템은 분자 주사방법에 의하여 세균 세포질로부터 숙주세포 세포질 내로 병원성 인자 또는 작동기 (effector) 단백질의 직접적인 배출 및 전달을 조정한다. 진화과정에서 보존되어 있는 T3SS 기관 요소들이 있으므로 이를 바탕으로 하여 본질적으로 상이한 여러 병원체들을 처리할 수 있는 광범위 T3SS 억제제가 디자인 될 수 있다. *Chlamydia trachomatis* 감염에서 T3SS 억제제는 *in vivo* 병원성 연쇄 반응을 억제하며 작동기 단백질의 분비를 감소시킨다 (33).

**정족수 감지 (Quorum Sensing, QS).** QS는 세균 밀도를 유지하기 위해 세균 사이에 일어나는 신호전달을 묘사하는데 이용되어 온 기술적인 용어이다. QS는 유전자 발현을 조절하며, 운동성과 바이오필름 형성 같은 공동체 행동방식과 병원성에 관련된 수많은 과정의 제어에 이용된다. *P. aeruginosa*는 30가지 이상의 QS-조절 병원성 인자를 생산한다. QS 억제는 바이오필름 세균에 대한 숙주방어와 항균제 감수성을 증가시킬 수 있다. *P. aeruginosa* 감염 환자의 초기 예방치치로서 QS 표적겨냥

이 효과적일 수 있음이 제시되었다 (34).

**신호전달시스템.** Two-component response systems (TCRSs)는 세균과 곰팡이가 환경에 대하여 반응하는데 이용되는 가장 유력한 신호전달 기전으로서, 숙주 환경 내에서 세포외 신호에 의해 활성화되는 histidine kinase, 그리고 신호를 세포 내 표적에 전달하여 병원성 인자의 유전자 발현을 조절하는 반응조절자, 이 두 가지로 이루어져 있다. TCRS는 숙주 침습, 약물내성, 운동성, 인접취, 삼투압조절, 질소고정, 및 기타 기능의 조절에 관여하며, 4,000가지 이상의 TCRSs가 400종 세균에서 확인되었다 (35). 그람양성균에서 TCRS는 세균 밀도에 반응하는 QS 시스템 전체를 구성하며, 보조유전자 조절자 (accessory gene regulator)를 나타내는 *agr*로 명명되었다. *agr*은 staphylococci에서 대부분의 병원성 유전자 발현을 조절하며 thiolactones라는 분비성 autoinducing peptides (AIPs)에 의해 활성화 된다 (36). *S. aureus* 치료제의 개발에서 AIP thiolactones는 선도물질로서 제시되었다. *agr* 시스템은 바이오필름 형성에서 중요한 인자들을 하향조절하는 기능도 하며, *agr* 기능장애는 바이오필름 생산 증가와 연관이 있다 (37).

## 결론 및 미래의 전망

항감염 약물 시장을 살펴보면, 다약제 내성균주가 건강 및 경제에 미치는 영향력, 특히 병원 환경에서의 영향력이 항감염 약물 개발을 위한 주요 시장을 조종하고 있다. 그러나 재발 및 만성 세균 감염을 포함해야 할 시장은 아직까지 그 어떤 약물도 접해 본 적이 없을 정도로 큰 임상적 수요를 지니고 있으며, 많은 환자를 대상으로 하게 되므로 약물 개발을 위한 노력에 매력적인 기회를 제공하고 있다. 효과적인 바이오필름 억제제는 많은 감염질환의 치료법을 극적으로 변화시킬 수 있으며 많은 환자에게 이로움을 줄 수 있을 것이다.

미생물 바이오필름은 여러 만성 및 지속성 감염의 원인으로 인식되어 왔다. 삽입 의료기구의 사용이 증가함에 따라 바이오필름 관련 감염 발생은 현재는 물론 앞으로 점점 더 커지게 될 의학적 위급 상황이 되고 있다. 통용되는 치료제의 수를 증가시켜야 하며 현재의 항생제 효능을 지켜야 하고, 특히 중요하게는 새로운 약물내성 기전에 대한 더 이상의 진화 압력을 줄여나가야 한다.

바이오필름 항균제 개발의 새로운 접근법으로서 세균



병원성을 표적으로 하는 방법이 최근 부상하고 있다. 미생물의 존재에는 위협을 주지 않으면서 병원성만 제거하는 약물은 기존 항생제보다 약물내성 돌연변이에 대한 선택압력을 덜 제공하게 될 수 있을 것이다. 항병원성 약물을 효과적으로 적절하게 이용하려면 진료실에서 감염의 원인이 되는 세균에 대한 신속한 진단이 요구될 것이며, 여기에는 이들 세균의 병원성 유전자 프로파일 파악이 포함될 수 있다. 이와 같은 일상적이고 신속한 진단은 표준 항생제의 사용에도 개선이 이루어지게 될 것이며, 나아가 의학이 개선되고 좀 더 환자맞춤형이 됨에 따라 필요한 의료비용 투자의 표본이 될 것이다.

세균과의 전쟁에서 이기려면 특이적 질환, 병원체 및 병원성 기전을 각각 고려할 필요가 있으며, 내성 병원체의 진화를 최소화하기 위해 상승요법의 효능을 결합시킬 필요가 있을 것이다.

## 참 고 문 헌

- 1) National Institutes of Health. Minutes of the National Advisory Dental and Craniofacial Research Council - 153rd Meeting. 1997. Report. <http://webharvest.gov/peth04/20041027034042/> <http://www.nidcr.nih.gov/AboutNIDCR/CouncilAndCommittees/NADCRC/Minutes/Minutes153.htm>.
- 2) Bryers JD. Medical biofilms. *Biotechnol Bioeng* 2008;100:1-18.
- 3) Lynch AS, Robertson GT. Bacterial and fungal biofilm infections. *Annu Rev Med* 2008;59:415-28.
- 4) Brunstedt MR, Sapatnekar S, Rubin KR, Kieswetter KM, Ziats NP, Merritt K, Anderson JM. Bacteria/blood/material interactions. I. Injected and preseeded slime-forming *Staphylococcus epidermidis* in flowing blood with biomaterials. *J Biomed Mater Res* 1995;29:455-66.
- 5) Leid JG, Shirtliff ME, Costerton JW, Stoodley AP. Human leukocytes adhere to, penetrate, and respond to *Staphylococcus aureus* biofilms. *Infect Immun* 2002;70:6339-45.
- 6) Walker TS, Tomlin KL, Worthen GS, Poch KR, Lieber JG, Saavedra MT, Fessler MB, Malcolm KC, Vasil ML, Nick JA. Enhanced *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development mediated by human neutrophils. *Infect Immun* 2005;73:3693-701.
- 7) Chandra J, McCormick TS, Imamura Y, Mukherjee PK, Ghannoum MA. Interaction of *Candida albicans* with adherent human peripheral blood mononuclear cells increases *C. albicans* biofilm formation and results in differential expression of pro- and anti-inflammatory cytokines. *Infect Immun* 2007;75:2612-20.
- 8) Zimmermann S, Wagner C, Müller W, Brenner-Weiss G, Hug F, Prior B, Obst U, Hänsch GM. Induction of neutrophil chemotaxis by the quorum-sensing molecule N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine lactone. *Infect Immun* 2006;74:5687-92.
- 9) Trampuz A, Widmer AF. Infections associated with orthopedic implants. *Curr Opin Infect Dis* 2006;19:349-56.
- 10) Anderson JM, Marchant RE. 2000. Biomaterials: factors favoring colonization and infection. pp. 89109, Waldvogel FA, Bisno AL, eds. 2000. *Infections Associated with Indwelling Medical Devices*. Washington, DC: ASM Press.
- 11) Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999;284:1318-22.
- 12) Hansen SK, Rainey PB, Haagenen JA, Molin S. Evolution of species interactions in a biofilm community. *Nature* 2007;445:533-6.
- 13) Wargo MJ, Hogan DA. Fungal-bacterial interactions: a mixed bag of mingling microbes. *Curr Opin Microbiol* 2006;9:359-64.
- 14) Mysorekar IU, Hultgren SJ. Mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli* persistence and eradication from the urinary tract. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:14170-5.
- 15) Hall-Stoodley L, Hu FZ, Gieseke A, Nistico L, Nguyen D, Hayes J, Forbes M, Greenberg DP, Dice B, Burrows A, Wackym PA, Stoodley P, Post JC, Ehrlich GD, Kerschner JE. Direct detection of bacterial biofilms on the middle-ear mucosa of children with chronic otitis media. *JAMA* 2006;296:202-11.
- 16) Carron MA, Tran VR, Sugawa C, Coticchia JM. Identification of *Helicobacter pylori* biofilms in human gastric mucosa. *J Gastrointest Surg* 2006;10:712-7.
- 17) Lam J, Chan R, Lam K, Costerton JW. Production of mucoid microcolonies by *Pseudomonas aeruginosa* within infected lungs in cystic fibrosis. *Infect Immun* 1980;28:546-56.
- 18) Gjødtsbøl K, Christensen JJ, Karlsmark T, Jørgensen B, Klein BM, Krogfelt KA. Multiple bacterial species reside in chronic wounds: a longitudinal study. *Int Wound J* 2006;3:225-31.
- 19) Madsen SM, Westh H, Danielsen L, Rosdahl VT. Bacterial colonization and healing of venous leg ulcers. *APMIS* 1996;104:895-9.
- 20) García-Godoy F, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the

- enamel surface: The role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *J Am Dent Assoc* 2008;139:25S-34S.
- 21) Trampuz A, Widmer AF. Infections associated with orthopedic implants. *Curr Opin Infect Dis* 2006;19:349-56.
  - 22) Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-joint infections. *N Engl J Med* 2004;351:1645-54.
  - 23) Combrink KD, Lynch AS. New rifamycins for the treatment of bacterial infections. *Expert Opin Ther Patents* 2007;17:475-85.
  - 24) Gillis RJ, White KG, Choi KH, Wagner VE, Schweizer HP, Iglewski BH. Molecular basis of azithromycin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:3858-67.
  - 25) Hancock V, Klemm P. Global gene expression profiling of asymptomatic bacteriuria *Escherichia coli* during biofilm growth in human urine. *Infect Immun* 2007;75:966-76.
  - 26) Andes D, Nett J, Oschel P, Albrecht R, Marchillo K, Pitula A. Development and characterization of an *in vivo* central venous catheter *Candida albicans* biofilm model. *Infect Immun* 2004;72:6023-31.
  - 27) Proctor RA, von Eiff C, Kahl BC, Becker K, McNamara P, Herrmann M, Peters G. Small colony variants: a pathogenic form of bacteria that facilitates persistent and recurrent infections. *Nat Rev Microbiol* 2006;4:295-305.
  - 28) Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat Rev Microbiol* 2007;5:48-56.
  - 29) Pinkner JS, Remaut H, Buelens F, Miller E, Aberg V, Pemberton N, Hedenström M, Larsson A, Seed P, Waksman G, Hultgren SJ, Almqvist F. Rationally designed small compounds inhibit pilus biogenesis in uropathogenic bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:17897-902.
  - 30) Cegelski L, Marshall GR, Eldridge GR, Hultgren SJ. The biology and future prospects of antivirulence therapies. *Nat Rev Microbiol* 2008;6:17-27.
  - 31) Hung DT, Shakhnovich EA, Pierson E, Mekalanos JJ. Small-molecule inhibitor of *Vibrio cholerae* virulence and intestinal colonization. *Science* 2005;310:670-4.
  - 32) Young JA, Collier RJ. Anthrax toxin: receptor binding, internalization, pore formation, and translocation. *Annu Rev Biochem* 2007;76:243-65.
  - 33) Bailey L, Gylfe A, Sundin C, Muschiol S, Elofsson M, Nordström P, Henriques-Normark B, Lugert R, Waldenström A, Wolf-Watz H, Bergström S. Small molecule inhibitors of type III secretion in *Yersinia* block the *Chlamydia pneumoniae* infection cycle. *FEBS Lett* 2007;581:587-95.
  - 34) Hentzer M, Wu H, Andersen JB, Riedel K, Rasmussen TB, Bagge N, Kumar N, Schembri MA, Song Z, Kristoffersen P, Manefield M, Costerton JW, Molin S, Eberl L, Steinberg P, Kjelleberg S, Høiby N, Givskov M. Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors. *EMBO J* 2003;22:3803-15.
  - 35) Ulrich LE, Zhulin IB. MiST: a microbial signal transduction database. *Nucleic Acids Res* 2007;35:D386-90.
  - 36) Mayville P, Ji G, Beavis R, Yang H, Goger M, Novick RP, Muir TW. Structure-activity analysis of synthetic autoinducing thiolactone peptides from *Staphylococcus aureus* responsible for virulence. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:1218-23.
  - 37) Otto M. Quorum-sensing control in Staphylococci -- a target for antimicrobial drug therapy? *FEMS Microbiol Lett* 2004;241:135-41.