

BAJA FRECUENCIA DE *Enterococcus faecalis* EN MUCOSA ORAL DE SUJETOS QUE ACUDEN A CONSULTA ODONTOLÓGICA

LOW FREQUENCY OF *Enterococcus faecalis* IN THE ORAL MUCOSA OF SUBJECTS ATTENDING DENTAL CONSULTATION

CAROLINA CARRERO MARTÍNEZ,¹ MARÍA CRISTINA GONZÁLEZ GILBERT,² MARÍA ALEXANDRA MARTÍNEZ LAPIOLO,³

FÁTIMA SERNA VARONA,⁴ HUGO DÍEZ ORTEGA,⁵ ADRIANA RODRÍGUEZ CIODARO⁶

RESUMEN. Introducción: *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) es un coco Gram positivo, facultativo anaerobio y no esporulado, cuyo hábitat es el tracto gastrointestinal. También puede encontrarse en el tracto hepatobiliar, vagina y heridas de tejidos blandos. Se ha mostrado que *E. faecalis*, debido a su alta virulencia, puede penetrar los túbulos dentinales sobreviviendo a la instrumentación químico-mecánica, colonizarlos a una profundidad de 300 µm y reinfectar los conductos aún después de estar obturados, pero no es claro el origen de la infección. El objetivo fue determinar la frecuencia y el perfil de resistencia de *E. faecalis* en mucosa oral de personas que acuden a consulta odontológica. **Métodos:** se tomaron muestras por medio de barrido de encía, surco yugal, paladar, lengua y carrillos en 200 sujetos mayores de edad que acudieron a consulta odontológica. La identificación de *E. faecalis* se realizó mediante un tamizaje que incluyó catalasa, hemólisis en agar sangre, bilis esculina, NaCl 6,5%, PYR y se confirmó con un panel Microscan (DadeBehring). **Resultados:** se aisló *E. faecalis* en 10 muestras de microbiota oral (5%). **Conclusiones:** este estudio determinó una baja frecuencia de *E. faecalis* en mucosa oral de sujetos que acuden a consulta odontológica.

Palabras clave: *Enterococcus faecalis*, mucosa oral, microflora oral, endodoncia, periodontitis apical.

Carrero C, González MC, Martínez MA, Serna F, Díez H, Rodríguez A. Baja frecuencia de *Enterococcus faecalis* en mucosa oral de sujetos que acuden a consulta odontológica. Rev Fac Odontol Univ Antioq 2014; 26(2): 261-270.

ABSTRACT. Introduction: *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) is a Gram-positive, facultative anaerobic, unsporulated coccus whose habitat is the gastrointestinal tract. It can also be found in the hepatobiliary tract, the vagina, and wounds on soft tissues. It has been shown that due to its high virulence, *E. faecalis* can penetrate the dentinal tubules, surviving chemical-mechanical instrumentation, colonize them at a depth of 300 µm and re-infest the canals even after being obturated, but the source of infection is not clear. The objective of this study was to determine the frequency and resistance profile of *E. faecalis* in the oral mucosa of patients attending dental consultation. **Methods:** samples were collected from the gingiva, gingival sulcus, palate, tongue, and cheeks of 200 adult subjects attending dental consultation. *E. faecalis* was identified by means of a screening that included catalase, hemolysis in agar blood, bile esculin, 6.5% NaCl, and PYR, confirming by a Microscan panel (DadeBehring). **Results:** *E. faecalis* was isolated from the oral microbiota of 10 samples (5%). **Conclusions:** this study found low frequencies of *E. faecalis* in the oral mucosa of subjects attending dental consultation.

Key words: *Enterococcus faecalis*, oral mucosa, oral microflora, endodontics, apical periodontitis.

Carrero C, González MC, Martínez MA, Serna F, Díez H, Rodríguez A. Low frequency of *Enterococcus faecalis* in the oral mucosa of subjects attending dental consultation. Rev Fac Odontol Univ Antioq 2014; 26(2): 261-270.

- 1 Odontóloga, Especialista en Endodoncia, Pontificia Universidad Javeriana. Endodoncista consulta privada. Bogotá, Colombia.
- 2 Odontóloga, Universidad de Carabobo, Venezuela. Especialista en Endodoncia, Pontificia Universidad Javeriana. Endodoncista consulta privada, Valencia, Venezuela.
- 3 Odontóloga, Universidad de Carabobo, Venezuela. Especialista en Endodoncia, Pontificia Universidad Javeriana. Endodoncista consulta privada, Barquisimeto, Venezuela.
- 4 Odontóloga, Pontificia Universidad Javeriana. Especialista en Farmacología, Universidad Nacional de Colombia, MSc en Educación, Pontificia Universidad Javeriana. Profesora Asistente, Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia.
- 5 Bacteriólogo, Magister en Microbiología, Ph.D en Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Javeriana. Profesor titular, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia.
- 6 Bacteriólogo, Magister en Microbiología, Pontificia Universidad Javeriana Bogotá. Profesora Asociada, Centro de Investigaciones Odontológicas, Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia.

- 1 DMD, Endodontics Specialist, Pontificia Universidad Javeriana. Private endodontics practice. Bogotá, Colombia.
- 2 DMD, Universidad de Carabobo, Venezuela. Endodontics Specialist, Pontificia Universidad Javeriana. Private endodontics practice, Valencia, Venezuela.
- 3 DMD, Universidad de Carabobo, Venezuela. Endodontics Specialist, Pontificia Universidad Javeriana. Private endodontics practice, Barquisimeto, Venezuela.
- 4 DMD, Pontificia Universidad Javeriana. Pharmacology Specialist, Universidad Nacional de Colombia, MSc in Education, Pontificia Universidad Javeriana. Assistant Professor, School of Dentistry, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia.
- 5 Bacteriologist, MSc in Microbiology, PhD in Biological Sciences, Pontificia Universidad Javeriana. Professor, School of Sciences, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia.
- 6 Bacteriologist, MSc in Microbiology, Pontificia Universidad Javeriana Bogotá. Associate Professor, Dental Research Center, School of Dentistry, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia.

RECIBIDO: ABRIL 9/2013- ACEPTADO: OCTUBRE 14/2014

SUBMITTED: APRIL 9/2013-ACCEPTED: OCTOBER 14/2014

INTRODUCCIÓN

En el microbioma oral se han identificado cerca de 700 especies bacterianas, pero en muy raras ocasiones se ha detectado *Enterococcus* (*E. faecalis*).¹⁻³ Sin embargo, se ha comprobado su presencia como agente causal de procesos infecciosos orales como necrosis pulpar, conductos expuestos a cavidad oral y periodontitis apicales persistentes.⁴⁻¹¹

E. faecalis, de acuerdo a la clasificación de Lancefield, pertenece a los estreptococos del grupo D. Es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, inmóvil y no esporulado, que posee numerosos factores de virulencia tales como lipoproteínas, citolisinas y enzimas proteolíticas como gelatinasas y serina proteasas adhesinas como sustancia de agregación, Proteína de Superficie Enterococcica (ESP), feromonas, proteína de adhesión al colágeno o ACE y antígeno A, y además polisacáridos, tanto de su pared celular como de su cápsula. La gelatinasa es una metaloproteínasa hidrofóbica con la capacidad de romper insulina, caseína, hemoglobina, colágeno y fibrina. Algunos estudios han asociado estas propiedades proteolíticas y la alta aparición de especies de *Enterococcus* en bacteremias, endocarditis, infecciones urinarias, así como en infecciones intrarradiculares, donde se ha encontrado formando biopelículas en la hidroxiapatita. Sin embargo, los microorganismos no siempre expresan la gelatinasa aunque tengan el gen *gelE*. La ESP es responsable de la colonización y persistencia de *E. faecalis* durante el proceso infeccioso; además, propicia la interacción primaria entre el patógeno y el huésped durante la formación de biofilm.¹²⁻¹⁵

Dada la alarma epidemiológica sobre la presencia de *Enterococcus* Vancomicina-resistentes, diferentes estudios han caracterizado el perfil de resistencia encontrándose que adicionalmente presentan resistencia natural a penicilinas, cefalosporinas, clindamicina, fluoroquinolonas, y cada día se observa un número mayor de cepas que presenta resistencia adquirida a altas concentraciones de aminoglucósidos, lactámicos, fluoroquinolonas y

INTRODUCTION

About 700 bacterial species have been identified in the oral microbiome but *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) is very rarely detected.¹⁻³ However, it has been proven that its presence causes infectious oral diseases such as pulp necrosis, pulp exposure to the oral cavity, and persistent apical periodontitis.⁴⁻¹¹

According to Lancefield's classification, *E. faecalis* belongs to the streptococci group D. It is a Gram-positive, facultative anaerobic, motionless, unsporulated coccus with many virulent factors such as lipoproteins, cytolytic enzymes like gelatinases and adhesins serine proteases as aggregation substance, Enterococcal Surface Protein (ESP), pheromones, adhesin of collagen from enterococci (ACE) and antigen A, in addition to polysaccharides, both in its cell walls and capsules. Gelatinase is a hydrophobic metalloproteinase with the capability of breaking down insulin, casein, hemoglobin, collagen, and fibrin. Some studies have associated these proteolytic properties with the high occurrence of *Enterococcus* species in bacteremia, endocarditis, urinary tract infections, and intraradicular infections, where it has been found forming biofilms on hydroxyapatite. However, microorganisms do not always express gelatinase even if they have the *gelE* gene. ESP is responsible for *E. faecalis* colonization and persistence during infectious processes; in addition, it promotes the primary interaction between pathogen and host during biofilm formation.¹²⁻¹⁵

Given the epidemiological warning on the presence of vancomycin-resistant enterococci, various studies have characterized their resistance profile finding out that they also have a natural resistance to penicillin, cephalosporin, clindamycin and fluoroquinolones, and a greater number of strains daily appear with acquired resistance to high concentrations of aminoglycosides, lactams, fluoroquinolones, and

eritromicina, entre otros, datos que revisten importancia en el momento de seleccionar un antibiótico si es requerido para el tratamiento.¹⁶

El hábitat normal de *E. faecalis* es el tracto gastrointestinal, pero puede encontrarse transitoriamente en el tracto hepatobiliar, vagina, cavidad oral y lesiones de tejidos blandos. Varios estudios que reportan *Enterococcus* como colonizador de la mucosa oral, han sido realizados en pacientes y población hospitalaria, buscando una asociación con la infección nosocomial producida por este microorganismo.¹⁷⁻¹⁹

E. faecalis tiene capacidad de sobrevivir y multiplicarse en microambientes que pudieran ser tóxicos para otras bacterias, como ocurre en presencia de hidróxido de calcio, un agente antimicrobiano alcalino utilizado como medicamento intrarradicular. También se ha demostrado que puede sobrevivir a la instrumentación químico mecánica de los conductos radiculares, colonizando los túbulos dentinarios a una profundidad de 300 micras y re-infectando los conductos aún después de estar obturados. *E. faecalis* se ha identificado como causa frecuente de contaminación del sistema de conductos radiculares en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. Los factores de virulencia se han asociado con las distintas etapas de una infección endodóntica, así como con la inflamación periapical. La frecuencia de *E. faecalis* en infecciones endodónticas primarias es del 4%, mientras que en lesiones periapicales persistentes se presenta con una frecuencia del 77%, siendo capaz de sobrevivir como microorganismo único o como mayor componente de la biopelícula, causando fracasos en el tratamiento endodóntico.^{2, 4, 20}

Considerando que *E. faecalis* no es habitual en el microbioma oral, pero se ha encontrado en biopelículas de conductos radiculares donde se ha asociado al fracaso de tratamientos endodónticos, que es desconocido el sitio anatómico reservorio que explique la fuente de colonización y que algunas de las cepas pueden presentar resistencia a antibióticos, el presente estudio tuvo como objetivo determinar la frecuencia y el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de *E. faecalis* en mucosa oral de individuos que acuden a la consulta odontológica.

erythromycin, to name just a few—important data to take into account when selecting an antibiotic if required for treatment.¹⁶

The normal habitat of *E. faecalis* is the gastrointestinal tract, but it can be temporarily found in the hepatobiliary tract, the vagina, the oral cavity, and soft tissue lesions. Several studies have reported *Enterococcus* as a colonizer of the oral mucosa; these studies have been conducted in patients and hospital populations, seeking a connection with the nosocomial infection caused by this organism.¹⁷⁻¹⁹

E. faecalis has the ability to survive and reproduce in microenvironments that might be toxic to other bacteria, as in the presence of calcium hydroxide, an alkaline antimicrobial agent used as intracanal medication. It has also proven to be able to survive chemical-mechanical instrumentation of root canals, colonizing the dentin tubules to a depth of 300 microns and re-infecting the canals even after obturation. *E. faecalis* has been identified as a frequent cause of contamination of the root canal system in teeth with endodontic treatment failure. Virulence factors have been associated with the different stages of endodontic infection and periapical inflammation. The frequency of *E. faecalis* in primary endodontic infections reaches 4%, while persistent periapical lesions often reach 77%, being able to survive as a single microorganism or as a major component in biofilm, causing endodontic treatment failures.^{2, 4, 20}

Considering that *E. faecalis* is not common in the oral microbiome (but has been found in root canals biofilms where it has been associated with endodontic treatment failure), that the anatomic reservoir site that explains the source of colonization is unknown, and that some of the strains may be resistant to antibiotics, the present study seeks to determine the frequency and antimicrobial susceptibility profile of *E. faecalis* in the oral mucosa of individuals attending dental consultation.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para determinar la frecuencia de *E. faecalis* en mucosa oral, se realizó un estudio observacional descriptivo, en el que se incluyeron, por conveniencia, 200 sujetos que acudieron a consulta en la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana. Se excluyeron personas con compromiso sistémico, fumadoras, que hubiesen recibido antibióticos en los 2 meses previos a la toma de la muestra y con menos de cuatro dientes en boca. Como posible variable interviniente se tuvo en cuenta el uso de prótesis removable. El estudio fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana.

Con previa autorización de cada paciente y firma de consentimiento informado, se tomaron muestras de mucosa oral utilizando 2 hisopos estériles para barrido de tejidos blandos por cada paciente, antes de que se realizara el tratamiento odontológico. Con el primer hisopo se tomó una muestra de surco yugal y encías, y con el segundo, de mejillas, paladar y lengua. Las muestras inicialmente se inocularon en caldo tioglicolato prerreducido, a partir del cual se realizó el aislamiento primario en agar sangre y agar selectivo Enterococci chromocult (Merck), incubando a 37°C 5% CO₂ durante un período de 24 a 48 horas. A las colonias de color rojo se les realizó identificación bioquímica con las pruebas catalasa, hemólisis en agar sangre, bilis esculina, NaCl 6,5% y PYR. Los aislamientos presuntivos se confirmaron a través del sistema MicroScanSystem de Dade Behring Inc, PC34, el cual identifica el fenotipo mediante un panel de 25 pozos reactivos de sustratos para reacción bioquímica y un set de pozos de 9 antibióticos.

Análisis de la información: los resultados se muestran en frecuencias absolutas y relativas del número de sujetos que presentaron *E. faecalis* en la mucosa oral.

MATERIALS AND METHODS

A descriptive observational study was conducted to determine the frequency of *E. faecalis* in oral mucosa, by selecting a convenience sample of 200 subjects who were being treated at the Pontificia Universidad Javeriana School of Dentistry. The following participants were excluded: patients with systemic conditions, smokers, patients who had received antibiotics in the two months prior to sample collection, and subjects with less than four teeth in the mouth. The use of removable prosthesis was taken into account as a possible intervening variable. The study was approved by the Research and Ethics Committee of the Pontificia Universidad Javeriana School of Dentistry.

After obtaining authorization and a signed informed consent from each patient, samples were taken from oral mucosa using two sterile swabs to rub soft tissues in each patient before starting dental treatment. The first swab was used to take samples from the gingiva and buccal sulcus, and the second one to obtain samples from cheeks, palate and tongue. Samples were initially inoculated in pre-reduced thioglycolate solution, which was used to perform primary isolation in blood agar and selective Enterococci chromocult agar (Merck), incubating at 37°C 5%CO₂ for 24 to 48 hours. Red colonies were biochemically identified with catalase tests, hemolysis in blood agar, bile esculin, 6.5% NaCl, and PYR. Presumptive isolated samples were confirmed with the Dade Behring Inc MicroScanSystem, PC34, which identifies phenotype by means of a panel of 25 substrate reagent containers for biochemical reaction and a set of containers of 9 antibiotics.

Analysis of the information: the results are displayed in absolute and relative frequencies of the number of subjects who had *E. faecalis* in oral mucosa.

RESULTADOS

La muestra del estudio estuvo conformada por 200 sujetos, con un promedio de edad de 35 años, de los cuales 135 fueron mujeres y 65 hombres. Se aisló *E. faecalis* en la mucosa oral de 10 de ellos (5%), (4 mujeres y 6 hombres), con un rango de edad de 20 a 65 años y un promedio de 43,4 años. Con respecto a ser portadores de prótesis removible, se encontró en 6 pacientes de los 10 en los que se aisló *E. faecalis*. En la tabla 1 se muestran los resultados del antibiograma de los aislados que fueron identificados como *E. faecalis*, cuyo hallazgo más importante fue encontrar solo dos cepas resistentes a minociclina. Las 8 cepas restantes fueron sensibles a todos los antibióticos contenidos en el panel.

RESULTS

The sample included 200 subjects aged 35 years in average, 135 females and 65 males. *E. faecalis* was isolated from the oral mucosa of 10 patients (5%), (4 females and 6 males) aged 20 to 65 years (43.4 years in average). Regarding subjects with removable dentures, it was found in 6 of the 10 patients from whom *E. faecalis* was isolated. Table 1 shows the antibiogram results of the isolated samples that were identified as *E. faecalis*, whose most important finding was that only two strains were resistant to minocycline. The 8 remaining strains were sensitive to all the antibiotics in the panel.

Tabla 1. Resultados del antibiograma de las cepas de *E. faecalis* aisladas de mucosa oral

Cepa	Ampicilina	Daptomicina	Estrep. sinerg	Genta sinerg	Levofloxacina	Linezolid	Penicilina	Minociclina	Vancomicina
1	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S ≤ 2	S 2	S ≤ 4	S 1
2	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S 2	S 2	R >8	S 2
3	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S ≤ 2	S 2	S ≤ 4	S 2
4	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S ≤ 2	S 2	S ≤ 4	S 2
5	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S ≤ 2	S 2	S ≤ 4	S 2
6	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S 2	S 2	R >8	S 2
7	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S ≤ 2	S 2	S ≤ 4	S 2
8	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S ≤ 2	S 2	S ≤ 4	S 2
9	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S ≤ 2	S 2	S ≤ 4	S 2
10	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S ≤ 2	S 2	S ≤ 4	S 2

S = sensible. R = resistente. El número corresponde a la Concentración Inhibitoria Mínima

Table 1. Results of the antibiogram of *E. faecalis* strains isolated from oral mucosa

Strain	Ampicillin	Daptomycin	Strep. synerg	Gent. synerg	Levofloxacin	Linezolid	Penicillin	Minocycline	Vancomycin
1	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S ≤ 2	2 S	S ≤ 4	S 1
2	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	2 S	2 S	R > 8	2 S
3	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S ≤ 2	2 S	S ≤ 4	2 S
4	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S ≤ 2	2 S	S ≤ 4	2 S
5	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S ≤ 2	2 S	S ≤ 4	2 S
6	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	2 S	2 S	R > 8	2 S
7	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S ≤ 2	2 S	S ≤ 4	2 S
8	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S ≤ 2	2 S	S ≤ 4	2 S
9	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S ≤ 2	2 S	S ≤ 4	2 S
10	S ≤ 2	S ≤ 2	S ≤ 1000	S ≤ 500	S ≤ 2	S ≤ 2	2 S	S ≤ 4	2 S

S = sensitive. R = resistant. The number corresponds to Minimum Inhibitory Concentration

DISCUSIÓN

El fracaso, recidiva o reactivación de lesiones endodónticas luego de su obturación, son condiciones frecuentemente encontradas por el odontólogo. Se ha identificado la presencia de *E. faecalis* en varias patologías orales, canales radiculares y bolsas periodontales, obturaciones desadaptadas, pero no en el medio ambiente de la mucosa oral a partir del cual se diseminarían hacia sitios que favorezcan su colonización.⁵

La alta virulencia que presenta *E. faecalis* hace que este microorganismo genere fracasos en la terapia endodóntica, debido a que, una vez logra entrar en el conducto radicular, puede adherirse al colágeno de la dentina y al colágeno de hueso y de otros tejidos, penetrar en los túbulos dentinarios, resistir a medicamentos como hidróxido de calcio, sobrevivir a la irrigación con hipoclorito de sodio y formar biopelícula, tanto intrarradicular como extrarradicular, originando lesiones periapicales persistentes.^{2, 21, 22}

Desde hace más de veinte años, varios autores han reportado que la cavidad oral puede ser reservorio de *E. faecalis* y que se encuentra en biopelícula dental de pacientes hospitalizados en 4%.^{19, 21-24} El presente estudio se realizó en 200 sujetos a quienes se les tomó muestra de mucosa oral, encontrándose *E. faecalis* en solamente 10 (5%), datos que proporcionan, por primera vez, un estimado de la frecuencia de este microorganismo en la mucosa oral de la población colombiana. La recolección de las muestras para esta investigación se realizó por medio de hisopado para barrido de tejidos blandos en varios tipos de mucosa oral, teniendo en cuenta la recomendación de Sedgley y colaboradores²⁰ en 2005 y Zhu y colaboradores²³ en 2010, quienes tomaron las muestras haciendo escupir a los pacientes en tubos de ensayo, lo cual, reconocen, no garantiza un barrido suficiente de las bacterias presentes en la cavidad oral.

En la presente investigación se encontró que el 60% de las muestras que resultaron positivas para *E. faecalis*, provenían de pacientes portadores de prótesis removible. A pesar de ser un dato interesante, todavía no hay suficientes pruebas para hacer la asociación con la presencia de

DISCUSSION

Failure, relapse or reactivation of endodontic lesions after obturation has been completed are conditions dentists face on a regular basis. The presence of *E. faecalis* has been identified in various oral pathologies, root canals, periodontal pockets, and maladapted obturations, but not in the environment of the oral mucosa, spreading towards sites that favor its colonization.⁵

Due to its high virulence, *E. faecalis* produces endodontic therapy failure because once it reaches the root canal, it can adhere to the collagen of dentin, bone, and other tissues, penetrate dentin tubules, resist medications such as calcium hydroxide, survive irrigation with sodium hypochlorite, and form intra- and extra-radicular biofilm, causing persistent periapical lesions.^{2, 21, 22}

For more than twenty years, several authors have reported that the oral cavity can be a reservoir of *E. faecalis* and is found in 4% of the dental biofilm of hospitalized patients.^{19, 21-24} The present study included 200 subjects who were taken oral mucosa samples, finding *E. faecalis* in only 10 patients (5%) —data that for the first time provide an estimate of the frequency of this microorganism in the oral mucosa in the Colombian population—. Sample collection for this research project was done by rubbing soft tissues with a swab in several types of oral mucosa, taking into account the recommendations by Sedgley et al²⁰ in 2005 and Zhu et al²³ in 2010, who collected samples by having patients spit in test tubes, which, as the researchers themselves recognize, does not guarantee sufficient gathering of bacteria in the oral cavity.

The present study found out that 60% of the samples that tested positive for *E. faecalis* came from patients with removable dentures. Despite being an interesting fact, there is not yet enough evidence to associate this finding with the presence of

E. faecalis en boca, debido a su baja frecuencia en este estudio. Kaklamanos y colaboradores²⁵ en 2005, en un estudio realizado en ancianos —en promedio 80 años—, encontraron asociación no estadísticamente significativa entre edad, presencia de *Enterococcus* y uso de prótesis dental. Otra posible explicación es que, debido a las características físicas y químicas inherentes a las prótesis, representan un nicho favorable para la colonización bacteriana.^{23, 26}

Un estudio de Kwang y Abbott,²⁷ mostró la presencia de bacterias en la superficie de contacto entre el diente y las restauraciones, con una adaptación clínica aceptable en todas las muestras del grupo control y experimental, por medio de microscopia electrónica de barrido en dientes con periodontitis apical y conductos infectados, siendo predominantes las del morfotipo del grupo cocci. Esto confirma, una vez más, la hipótesis de que la interfase diente-restauración es una posible vía para la penetración bacteriana como fuente de infección para el conducto y la enfermedad periapical, así como también que el término “una restauración clínicamente aceptable” es subjetivo.

Aunque la presencia de *E. faecalis* en mucosa oral es baja, no se ha esclarecido la vía de llegada de este microorganismo, habitante normal del tracto gastrointestinal y genitourinario. Se ha sugerido que un posible medio por el cual puede ingresar en cavidad oral es como contaminante de comidas y alimentos fermentados.^{17, 19, 28}

Uno de los problemas para tratar infecciones graves por *E. faecalis* es su multirresistencia antibiótica, lo que podría sugerir que el hallazgo en este estudio, de solo dos cepas resistentes a tetraciclinas, no tiene implicaciones con personas portadoras de cepas altamente patógenas. Sin embargo, cuando *E. faecalis* encuentra un nicho apropiado en los conductos radiculares de difícil acceso a antimicrobianos, que favorece su crecimiento, la consecuencia puede ser desde el fracaso del tratamiento endodóntico hasta la pérdida del diente.^{25, 19}

E. faecalis in the mouth, due to its low frequency in this study. In a study in elderly patients—80 years of age in average—in 2005, Kaklamanos et al²⁵ found no statistically significant association between age, presence of *Enterococcus* and denture use. Another possible explanation is that, because of the physical and chemical characteristics of prosthesis, they are favorable for bacterial colonization.^{23, 26}

A study by Kwang and Abbott²⁷ showed the presence of bacteria on the tooth-restoration contact surface, with acceptable clinical adaptation in all the samples from the control group and the experimental group, by means of scanning electron microscopy in teeth with apical periodontitis and infected canals, with predominance of the morphotype of the cocci group. This confirms once again the hypothesis that the tooth-restoration interface is a possible pathway for bacterial penetration as a source of canal infection and periapical disease, and it also proves that the term “clinically acceptable restoration” is subjective.

Although the presence of *E. faecalis* in oral mucosa is low, the way this microorganism arrives has not been clarified, as it regularly inhabits the gastrointestinal and genitourinary tracts. It has been suggested that a possible means for it to reach the oral cavity is as a food contaminant and through fermented foods.^{17, 19, 28}

One of the difficulties of treating serious infection produced by *E. faecalis* is its resistance to several antibiotics, which could suggest that the finding in this study, i. e. only two strains resistant to tetracycline, has no implications for people with highly pathogenic strains. However, when *E. faecalis* finds an appropriate niche in root canals of difficult antimicrobial access, which favors its growth, the consequences can range from endodontic treatment failure to tooth loss.^{25, 19}

Los hallazgos anteriormente descritos sugieren que *E. faecalis* es un microorganismo ocasional y transitorio en cavidad oral, capaz de crecer en condiciones extremas de pH, sales y desecación. Su mecanismo de llegada a la cavidad oral no se ha esclarecido, pero puede encontrarse tanto en pacientes hospitalizados como en pacientes ambulatorios. Se ha establecido que *E. faecalis* es, en muchas ocasiones, la causa de la peridontitis apical y los fracasos de postratamiento endodóntico. Por esto se sugiere cumplir y realizar los procedimientos clínicos para un control microbiológico estricto, como retiro de cualquier tipo de aparatología removible que utilice el paciente en boca, profilaxis previa del diente a tratar, aislamiento absoluto del campo operatorio, retiro de la totalidad de la restauración previa y caries. Realizar además la terapia endodóntica con instrumentos estériles, irrigación con abundante y frecuente, con hipoclorito de sodio al 5,25%, activando dicha sustancia con ultrasonido o cualquier aditamento, para asegurar la penetración por las irregularidades del conducto, en donde instrumentos como las limas no logran conformar y limpiar una obturación hermética del conducto. Por último, los procedimientos restauradores deben evitar exposición del conducto tratado al medio oral, garantizando el adecuado sellado coronal y así evitar que este microorganismo encuentre un nicho propicio para colonizar los conductos radiculares, llevando al fracaso endodóntico.^{13, 19, 20, 29, 30}

Los resultados de este estudio permiten concluir que un bajo porcentaje de la población que asiste a la consulta odontológica, porta en la mucosa oral *E. faecalis* sensible a la mayoría de antibióticos utilizados en este estudio, por lo cual es importante realizar investigaciones adicionales que establezcan la ruta de contaminación para prevenir el fracaso del tratamiento endodóntico ocasionado por este microorganismo.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

The abovementioned findings suggest that *E. faecalis* is an occasional and temporary microorganism in the oral cavity, which is able to grow in extreme pH conditions, salts and desiccation. Its mechanism of arrival to the oral cavity has not been clarified, but it can be found in both inpatients and outpatients. It has been established that *E. faecalis* often causes apical peridontitis and post-endodontic treatment failures. It has been then recommended to complete all the clinical procedures for strict microbiological control, namely removal of any type of removable appliances patients use in the mouth, prior prophylaxis of the tooth to be treated, absolute isolation of the operating area, and entire removal of previous restorations and caries. It is also important to perform endodontic therapy with sterile instruments, abundant and frequent irrigation with 5.25% sodium hypochlorite, activating the substance with ultrasound or other techniques to ensure penetration in the canal's irregularities, where instruments like files fail to reach and clean sealed canal obturations. Finally, the restorative procedures should avoid exposure of the treated canal to the oral environment, guaranteeing adequate coronal sealing to prevent this microorganism from finding a suitable niche to colonize root canals and lead to endodontic failure.^{13, 19, 20, 29, 30}

The findings of the present study suggest that a low percentage of the population attending dental consultation has *E. faecalis* in oral mucosa, and that this coccus is sensitive to most of the antibiotics used in this study; therefore, it is important to conduct further research to establish the route of contamination to prevent endodontic treatment failure caused by this microorganism.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare not having conflict of interest.

CORRESPONDENCIA

Adriana Rodríguez Ciódaro
Carrera 7 N.º 40-62, edificio 26
Facultad de Odontología
Pontificia Universidad Javeriana
Bogotá, Colombia
Correo electrónico: arodrig@javeriana.edu.co

CORRESPONDING AUTHOR

Adriana Rodríguez Ciódaro
Carrera 7 N.º 40-62, edificio 26
School of Dentistry
Pontificia Universidad Javeriana
Bogotá, Colombia
Email: arodrig@javeriana.edu.co

REFERENCIAS/REFERENCES

1. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* 2005; 43(11): 5721-5732.
2. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod* 2006; 32(2): 93-98.
3. He XS, Shi WY. Oral microbiology: past, present and future. *Int J Oral Science* 2009; 1(2): 47-58.
4. Love RM, Jenkinson HF. Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13(2): 171-183.
5. Wang QQ, Zhang CF, Chu CH, Zhu XF. Prevalence of *Enterococcus faecalis* in saliva and filled root canals of teeth associated with apical periodontitis. *Int J Oral Sci* 2012; 4(1): 19-23.
6. D'Ercole S, Filippakos A, De Toledo Leonardo R, Pameijer CH, Tripodi D. *Enterococcus faecalis* leakage of root canal sealers: an ex vivo study. *J Biol Regul Homeost Agents* 2012; 26(3): 545-552.
7. Rôças IN, Siqueira JF Jr. Characterization of microbiota of root canal-treated teeth with posttreatment disease. *J Clin Microbiol* 2012; 50(5): 1721-1724.
8. Dahlen G, Blomqvist S, Almstahl A, Carlén A. Virulence factors and antibiotic susceptibility in enterococci isolated from oral mucosal and deep infections. *J Oral Microbiol* 2012; 4: doi 10.3402/jom.v4i0.10855.
9. Zehnder M, Guggenheim B. The mysterious appearance of enterococci in filled root canals. *Int Endod J* 2009; 42(4): 277-287.
10. Pardi G, Guilarte C, Cardozo EI, Briceño EN. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. *Acta Odontol Venez* 2009; 47(1): 1-11.
11. Siquera JF, Rôças IN, Ricucci D. Biofilms in endodontic infection. *Endodontic Topics* 2010; 22(1): 33-49.
12. Zoletti GO, Pereira EM, Schuenck RP, Teixeira LM, Siqueira JF Jr, dos Santos KR. Characterization of virulence factors and clonal diversity of *Enterococcus faecalis* isolates from treated dental root canals. *Res Microbiol* 2011; 162(2): 151-158.
13. Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology* 2009; 155(6): 1749-1757.
14. Reffuveille F, Leneveu C, Chevalier S, Auffray Y, Rincé A. Lipoproteins of *Enterococcus faecalis*: bioinformatic identification, expression analysis and relation to virulence. *Microbiology* 2011; 157: 3001-3013.
15. Guerreiro-Tanomaru JM, de Faria-Júnior NB, Duarte MA, Ordinola-Zapata R, Graeff MS, Tanomaru-Filho M. Comparative analysis of *Enterococcus faecalis* biofilm formation on different substrates. *J Endod* 2013; 39(3): 346-350.
16. Centikaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13(4): 686-707.
17. Kühn I, Iversen A, Burman LG, Olsson-Liljequist B, Franklin A, Finn M et al. Comparison of enterococcal populations in animals, humans, and the environment —a European study. *Int J Food Microbiol* 2003; 88(2-3): 133-145.

18. Kurrle E, Bhaduri S, Krieger D, Gaus W, Heimpel H, Pflieger H et al. Risk factors for infections of the oropharynx and the respiratory tract in patients with acute leukemia. *J Infect Dis* 1981; 144(2): 128-136.
19. Smyth CJ, Halpenny MK, Ballagh SJ. Carriage rates of enterococci in the dental plaque of hemodialysis patients in Dublin. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1987; 25(1): 21-33.
20. Sedgley CM, Nagel AC, Shelburne CE, Clewell DB, Appelbe O, Molander A. Quantitative real-time PCR detection of oral *Enterococcus faecalis* in humans. *Arch Oral Biol* 2005; 50(6): 575-583.
21. Siqueira JR Jr. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J* 2001; 34(1): 1-10.
22. Duggan JM, Sedgley CM. Biofilm formation of oral and endodontic *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2007; 33(7): 815-818.
23. Zhu X, Wang Q, Zhang C, Cheung GS, Shen Y. Prevalence, phenotype, and genotype of *Enterococcus faecalis* isolated from saliva and root canals in patients with persistent apical periodontitis. *J Endod* 2010; 36(12): 1950-1955.
24. Chenoweth C, Schaberg D. The epidemiology of enterococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990; 9(2): 80-89.
25. Kaklamanos EG, Charalampidou M, Menexes G, Topitsoglou V, Kalfas S. Transient oral microflora in Greeks attending day centres for the elderly and residents in homes for the elderly. *Gerodontology* 2005; 22(3): 158-167.
26. Bal BT, Yavuzylmaz H, Yüzel M. A pilot study to evaluate the adhesion of oral microorganism to temporary soft lining materials. *J Oral Sci* 2008; 50(1): 1-8.
27. Kwang S, Abbott PV. Bacterial contamination of the fitting surfaces of restorations in teeth with pulp and periapical disease: a scanning electron microscopy study. *Aust Dent J* 2012; 57: 421-428.
28. Razavi A, Gmür R, Imfeld T, Zehnder M. Recovery of *Enterococcus faecalis* from cheese in the oral cavity of healthy subjects. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22(4): 248-251.
29. Luna NA, Santacruz AX, Palacios BD, Mafla AC. Prevalencia de periodontitis apical crónica en dientes tratados endodónticamente en la comunidad académica de la Universidad Cooperativa de Colombia, Pasto, 2008. *Rev Fac Odontol Univ Antioq* 2009; 21(1): 42-49.
30. Tobón S, Mesa A, Arismendi J, Domínguez J, Virgen AL. Nuevos enfoques en cirugía perirradicular. Revisión de literatura. *Rev Fac Odontol Univ Antioq* 2000; 11(2): 37-46.