

# Enterococcus faecalis (I. dio) Osobna iskaznica patogena

Dominik Štajdohar<sup>1</sup>  
izv. prof. dr. sc. Ivona Bago<sup>2</sup>

[1] student 5.godine, Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu

[2] Zavod za endodonciju i restaurativnu dentalnu medicinu, Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu

## Uvod

Nakon obavljenog endodontskog zahvata očekujemo nestanak kliničkih simptoma te s vremenom cijeljenje periapikalne lezije ako je postojala. No, što ako ne bude tako? Infekcija *Enterococcus faecalis*om upravo je jedan od glavnih razloga komplikacija nakon provedenog liječenja. Cilj ovog članka je upoznati čitatelja s glavnim osobinama ovog patogena i načinima liječenja u suvremenoj kliničkoj praksi.

## Obitelj patogena

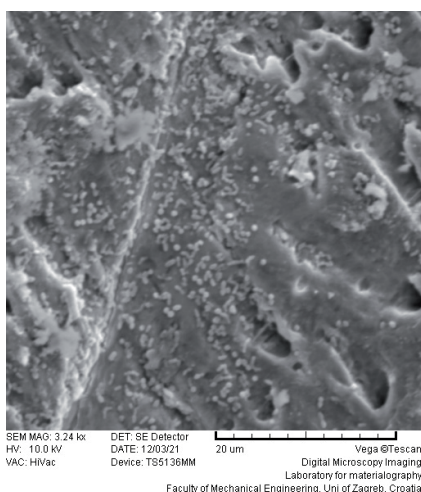
Enterokoki su skupina bakterija vrlo važnih za humanu medicinu s obzirom na to da se radi o komenzalnim organizmima gastrointestinalnog sustava. To su gram pozitivni, fakultativni anaerobi koji ne stvaraju spore i imaju nizak udjel

GC baza u svojoj DNK. Međutim, zabrinjavajuće je da spadaju u skupinu mikroorganizama koji su visoko na ljestvici otpornosti na različite antibiotike, a treći su najčešći izolirani patogeni u zdravstvenom sustavu. Uzrokuju razne bolesti kao što su endokarditis, sepsa, infekcija rana i urinarne infekcije. Unutar ove obitelji postoji više od 40 vrsta no infekcije najčešće uzrokuju dvije, *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) i *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*). Za dentalnu medicinu upravo je važan potonji te njegova prisutnost u endodontskom prostoru (1) (Slika 1, Slika 2).

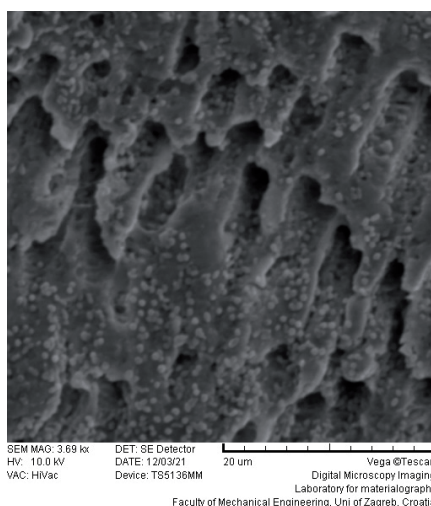
## Enterococcus faecalis u endodontskoj infekciji

Nerijetko čujemo da baš ova vrsta

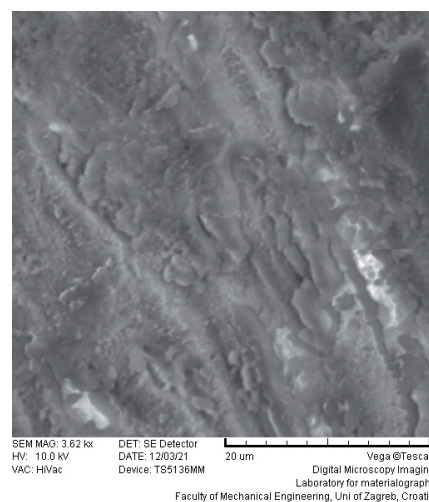
enterokoka uzrokuje velike probleme endodontskim infekcijama. Radi se o patogenu koji se rjeđe javlja u primarnim endodontskim infekcijama te je uglavnom povezan uz asimptomatske kronične lezije. Međutim, kod perzistirajućih periapikalnih lezija situacija je drugačija. U neuspješnim endodontskim zahvatima devet je puta veća mogućnost izolacije *E. faecalis*-a nego kod primarne infekcije što dovodi do zaključka da se radi o većinom sekundarnom patogenu (2). Zašto je tomu tako? Razlog se krije u činjenici da karijes ne sadrži ovu vrstu bakterije (ili je sadrži vrlo malo) pa je put od usne šupljine preko karioznog tkiva do pulpe rijedak. Retrogradni put preko krvne struje dokazan je na životinjskim modelima, no također nije vrlo vjerojatan (3).



Slika 1. SEM snimka 14 dana starog biofilma *Enterococcus faecalis*-a na površini intrakanalnog dentina



Slika 2. SEM snimka 14 dana starog biofilma *Enterococcus faecalis*-a na površini intrakanalnog dentina



Slika 3. SEM snimka površine dentina nakon tretiranja biofilma *Enterococcus faecalis*-a 3%NaOCl-om: vidljiva čista površina dentina bez nalaza bakterija

Istraživanja pokazuju da se *E. faecalis* nalazi u čak 90% neuspješnih endodontskih zahvata koji su povezani s boli i infekcijom (4). Kada uzmemo u obzir da se radi o mikroorganizmu koji se normalno nalazi u usnoj šupljini i ima dobru adaptaciju, situacija je još gora. Može preživjeti visoki pH (čak do 11.5) u čemu mu pomaže puferski kapacitet samog dentina koji djeluje neutralizacijski što je osobito važno kod postavljanja intrakanalnih medikamenata kalcij-hidroksida ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) (5, 2). Jedna od bitnih sposobnosti *E. faecalis* je njegovo preživljavanje u tzv „low starvation phase“. Radi se o preživljavanju u duljim periodima bez adekvatne potpore nutrijenata. Jednom kada situacija bude povoljnija, izgladnjele stanice aktiviraju se koristeći serum iz alveolarne kosti i parodontalnog ligamenta kao izvor hrane. Tako aktivirana bakterija uzrokuje ponovnu infekciju (2).

#### **Otpornost *E. faecalis*-a na antibiotike i ostali faktori virulencije**

Otpornost *E. faecalis* na antimikrobno liječenje predstavlja veliki izazov u kliničkoj praksi. Naime, *E. faecalis* posjeduje brojne mehanizme obrane: modifikacija ciljnog mjesta na koji se lijek veže, inaktivaciju agensa, ekspresiju pumpa za izbacivanje i sofisticirani stanični adaptivni odgovor koji potiče preživljenje u domaćinu (6). Na ove načine bakterija razvija otpornost na peniciline, cefalosporine, glikopeptide (vankomicin), aminoglikozide, tetracikline, kinolone i druge (6). Faktori virulencije su brojni te je to također jedan od razloga teške borbe s ovim patogenom. Osim mogućnosti duljeg perioda gladovanja i otpornosti na intrakanalne medikamente ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), enterokok posjeduje tzv. *collagen binding protein* koji mu uz sami serum omogućuje vezanje za kolagen tipa I, a njegova stanica dovoljno je mala da može živjeti u dentinskim tubulima.

Bitan faktor je i mijenjanje imunskog odgovora domaćina smanjujući ekspresiju limfocita što može dovesti do lošeg ishoda samog zahvata. Ostali čimbenici koje valja spomenuti uključuju posjedovanje litičkih enzima, citolizina, lipoteihonske kiseline, feromona, stvaranje biofilma i produkciju želatinaze. Također ove osobine *E. faecalis* može dijeliti i s drugim vrstama što mu omogućuje bolje preživljenje (2,7, 8).

#### **Irigansi u borbi protiv *E. faecalis*-a**

Danas je poznato da zbog složene morfologije endodontskog prostora oko 35% površine korijenskog kanala ostaje neinstrumentirano mehanički (9), te je potrebno priskočiti kemijskim sredstvima, koja trebaju dospjeti u teško dostupna mjesta, a dodatno djelovati na ostatak infektivnog organskog i anorganskog materijala.

Natrijev hipoklorit ( $\text{NaOCl}$ , 0,5-6%) najčešće je rabljeni irigans u endodontskom liječenju. U vodi ionizira na natrijeve i hipoklorne ione koji su u ravnoteži s hipoklornom kiselinom koja je većinom odgovorna za antimikrobni učinak. U dodiru s organskim tkivom  $\text{HOCl}$  oslobađa klor koji s aminokiselinama tvori kloramine. Oni pak djeluju na oksidaciju sulfhidrilnih skupina te tako inhibiraju bakterijske enzime. Sam  $\text{NaOCl}$  ima pH veći od 11 što narušava opstojnost bakterijske membrane. Također oslobađanjem kisika u kontaktu s vitalnim tkivom pojačava se antimikrobni učinak. Unatoč neugodnom okusu i mirisu ova tekućina i dalje je „zlatni standard“ u ispiranju (9). Ako je kanal dobro proširen i pripremljen za ispiranje, tekućina će osim samog ispiranja debrisa potencijalno ukloniti intratubularne bakterije.  $\text{NaOCl}$  (3%), ako se koristi u pravoj količini i kontinuirano tijekom zahvata, ima sposobnost eradikacije enterokoka iz kanala. Ovaj irigans osim pojedinačnih stanica uklanja i biofilm (2). Istraživanje

učinkovitosti razlike u koncentracijama  $\text{NaOCl}$ -a na biofilm *E. faecalis* pokazalo je da 2,5%-tni i 5%-tni hipoklorit mogu eradicirati biofilm u potpunosti dok je 1%-tni hipoklorit rezultirao 85.73%, 81.88% i 78.62%-tnim smanjenjem broja bakterija u ovisnosti o starosti biofilma od 4, 6 i 10 tjedana (10, 11).

Klorheksidin je bisguanid koji se najčešće koristi u koncentraciji od 0,2%, 1% i 2% kao gel ili tekućina. Ima dobar antimikrobni učinak na bakterije (bolje na gram +), viruse i gljive. Radi se o pozitivnoj molekuli koja se veže na stijenku mikroorganizama i sprječava protok iona. Ako se koristi u kombinaciji s  $\text{NaOCl}$  može nastati obojenje zbog precipitata para kloranilina te se stoga preporučuje ispiranje kanala fiziološkom otopinom između ta dva irigansa. Ne preporučuje se ni miješanje klorheksidina s EDTA zbog stvaranja precipitata bijele boje. Nedostatak je što ne otapa organski materijal i djelovanje mu ovisi o pH (7). 2%-tni klorheksidin korišten tijekom 2 minute može ukloniti *E. faecalis* s površine dentina do dubine 100 mikrometara unutar tubula. Zbog produljenog djelovanja ovog spoja učinak traje i do 15 dana (2). Međutim, klorheksidin nema utjecaja na bakterije unutar biofilma već djeluje isključivo na planktonske oblike *E. faecalis*-a (12).

MTAD je mješavina tetraciklina, limunske kiseline i deterdženta. Ima niski pH (2,15) i koristi se najčešće s  $\text{NaOCl}$ -om. Može ukloniti zaostatni sloj i dobar je u eradikaciji *E. faecalis*. U kombinaciji s hipokloritom, doksiciklin oksidira te može nastati ljubičasto obojenje te se stoga između preparata koristi fiziološka otopina. Pri upotrebi ovog preparata treba imati na umu da možemo izazvati rezistenciju mikroba na tetraciklin koji je aktivna tvar (9).

QMIX je mješavina je EDTA,

klorheksidina i deterdženta. Koristi se u završnom ispiranju nakon NaOCl. Uklanja zaostadni sloj kao i EDTA ali manje demineralizira kolagenska vlakna. U kombinaciji s hipokloritom učinkovitiji je u eradikaciji *E.faecalis* od MTAD i klorheksidina (9).

Nedavno istraživanje je uspoređivalo antimikrobno i rezidualno djelovanje klorheksidina (2%), cetirizina (0,2%), QMIX-a, MTAD-a i EDTA (17%) na biofilm *E.faecalis* (13). Kao što je i očekivano, EDTA je pokazala najmanju antimikrobnu aktivnost. Slijede cetirizin i MTAD, dok su najbolju i podjednaku aktivnost pokazali klorheksidin i QMIX. Rezidualna aktivnost mjerena je nakon 12, 24, 36 i 48 sati. Međutim samo su klorheksidin, cetirizin i QMIX pokazali dostatnu antimikrobnu aktivnost nakon 12, 24 i 36 sati. Nakon 48 sati nije bilo značajnije razlike između uzoraka tretiranih irigantsima i netretiranoj

kontrolnoj skupini (13).

#### Utjecaj *E.faecalis*-a na kompozitne materijale i adhezivne sustave

Materijali bazirani na metakrilatima skloni su hidrolitičkoj degradaciji zbog postojanja nezaštićenih esterskih veza, dok salivarna i bakterijska esteraza dodatno kataliziraju ovaj proces. Posljedica toga stvaranje je mikropukotina i propuštanje bakterija koje izazivaju danje komplikacije već liječenog zuba(14). Kao i neke druge vrste bakterija, *E.faecalis* ima svojstvo slično djelovanju esteraze koja pospješuje degradaciju materijala baziranih na smolama. Razina degradacije ovisi o vrsti materijala tako da je veća uočena kod kompozita i jetkajuće ispirućih adheziva u usporedbi sa samojetkajućim (14). S obzirom na to da su često u upotrebi i punila bazirana na smolama zaključak bi bio da osim koronarne restauracije može biti kompromitirano i samo punjenje u korijenskim kanalima.

#### Zaključak

Borba s ovakvim patogenom čini se kao Sizifov posao no uz postavljanje prave dijagnoze i poznavanja patogeneze i terapije same bolesti, u koju naravno ubrajamo i osnovne podatke o uzročniku bolesti, bez straha od neuspjeha možemo započeti endodontsko liječenje. Uspjeh endodontskog liječenja ovisi o maksimalnoj eradikaciji mikroorganizama iz endodontskog prostora zuba. Zbog toga je poznavanje učinka danas dostupnih irigansa ključno u odluci koliku koncentraciju i koliko dugo koristiti irigans u korijenskom kanalu.

Rad je ostvaren u sklopu znanstvenog projekta Hrvatske zaklade za znanost (br. 5303) „Eksperimentalno i kliničko istraživanje laserski aktiviranog fotoakustičnog strujanja i fotoaktivirane dezinfekcije u endodontskom liječenju“.

## LITERATURA

1. Van Tyne D, Martin MJ, Gilmore MS. Structure, Function, and Biology of the *Enterococcus faecalis* Cytolysin. *Toxins* (Basel). 2013.;5(5):895–911.
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):93–8.
3. Zehnder M, Guggenheim B. The mysterious appearance of enterococci in filled root canals. *Int Endod J.* 2009.;42(4):277–87.
4. Jurić IB, Plečko V, Pandurić DG, Anić I. The antimicrobial effectiveness of photodynamic therapy used as an addition to the conventional endodontic re-treatment: a clinical study. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2014 ;11(4):549-55.
5. Alghamdi F, Shakir M. The influence of *Enterococcus faecalis* as a dental root canal pathogen on endodontic treatment: A Systematic review. *Cureus.* 12(3):e7257.
6. Miller WR, Munita JM, Arias CA. Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2014.;12(10):1221–36.
7. Gök ŞM, Türk Dağı H, Kara F, Arslan U, Fındık D. Investigation of antibiotic resistance and virulence factors of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains isolated from clinical samples. *Mikrobiyol Bul.* 2020.;54(1):26–39.
8. Zehnder M, Guggenheim B. The mysterious appearance of enterococci in filled root canals. *Int Endod J.* 2009;42(4):277–87.
9. Jukić Krmek S, Baraba A, Klarić E, Marović D, Matijević J. *Pretklinička endodoncija*. 1. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2017.
10. Frough-Reyhani M, Ghasemi N, Soroush-Barhaghi M, Amini M, Gholizadeh Y. Antimicrobial efficacy of different concentration of sodium hypochlorite on the biofilm of *Enterococcus faecalis* at different stages of development. *J Clin Exp Dent.* 2016.;8(5):e480–4.
11. Balić M, Lucić R, Mehadžić K, Bago I, Anić I, Jakovljević S, Plečko V. The efficacy of photon-initiated photoacoustic streaming and sonic-activated irrigation combined with QMIX solution or sodium hypochlorite against intracanal *E. faecalis* biofilm. *Lasers Med Sci.* 2016 Feb;31(2):335-42.
12. Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J.* 2009;42(4):288-302.
13. Zhang R, Chen M, Lu Y, Guo X, Qiao F, Wu L. Antibacterial and residual antimicrobial activities against *Enterococcus faecalis* biofilm: A comparison between EDTA, chlorhexidine, cetrimide, MTAD and QMix. *Sci Rep.* 2015;5(1):12944.
14. Marashdeh MQ, Gitalis R, Levesque C, Finer Y. *Enterococcus faecalis* Hydrolyzes Dental Resin Composites and Adhesives. *J Endod.* 2018.;44(4):609–13.