

بررسی اثر یک نوع محلول تمیزکننده دست‌دندان روی قارچهای پروتز بیماران مبتلا به کاندیدیازیس آتروفیک مزمن

• دکتر محمدحسن شاهرودی

•• دکتر مسعود امامی

••• دکتر آریتا کلاتر

چکیده

هدف از این بررسی تعیین میزان خاصیت ضدقارچی محلول تمیزکننده^۱ ساخته شده در ایران بوده است. برای این منظور ۴۰ بیمار که پس از انجام آزمایشات اولیه قارچی معلوم گردید که به کاندیدیازیس مزمن آتروفیک مبتلا هستند، انتخاب شدند و از پروتز فک بالای این بیماران قبل و بعد از استفاده محلول مورد نظر با سواب نمونه برداری شده، نمونه‌ها کشت داده شدند و کلنی‌های تشکیل شده روی محیط کشت را شمرده و میزان کلنی‌های موجود در یک سی‌سی از سوسپانسیون نمونه‌ها تعیین شدند. بعد از استفاده محلول نتیجه کشت در تمام این ۴۰ نمونه منفی بوده است. بنابراین از مقایسه نتایج ایندو آزمایش معلوم گردید که پس از استفاده این محلول آلودگی قارچی پروتزها کاملاً از بین رفته و این محلول توانایی از بین بردن کلیه قارچهای موثر در ایجاد کاندیدیازیس آتروفیک مزمن را دارد.

مقدمه

باقی می‌ماند و برای از بین بردن قارچهای رشد کرده در سطح دنچر از مواد تمیزکننده دنچر استفاده می‌شود.

کاندیدیازیس مزمن آتروفیک امروزه مترادف با Denture - Sore Mouth شناخته شده است. این نوع کاندیدیازیس بصورت التهاب منتشر ناحیه بستر پروتز همراه یا بدون ترک گوشه لب می‌باشد. ضایعات ممکن است بدون علامت و یا دردناک باشند.^[۱] استوماتیت ناشی از پروتز یک حالت شایع است و حدود ۲۴ تا ۶۰ درصد افرادی که از دنچر استفاده می‌کنند را شامل می‌شود.^[۱] اگرچه در بروز این ضایعه عواملی از قبیل ترومای ناشی از پروترهای لق، کاهش ارتفاع عمودی صورت و کمبود ویتامین B نیز دخیل می‌باشند، لیکن برطرف شدن این ضایعه متعاقب درمان ضدقارچ تاییدکننده این مطلب است که کاندیدا به عنوان عامل عفونی درونی روی بافت مستعد، به ترومای مزمن و عدم بهداشت عمل می‌کند^[۵] نکته اساسی این است که ارگانیسم کاندیدا روی رزین قاعده بیس پروتز به میزان بیشتری از روی مخاط کام تشخیص داده می‌شود^[۱] بنابراین ارگانیسم کاندیدا در سطح یا داخل پروتز

مروری بر مقالات Review of Literatures

تمیزکننده‌های دنچر بدو صورت مکانیکی و شیمیایی روی آلودگیهای دنچر اثر می‌کنند.^[۲] روشهای تمیزکننده مکانیکی شامل مسواک‌زدن، استفاده از خمیرها و پودرها و روش اولتراسونیک می‌باشد. مسواک‌زدن شایع‌ترین روش برای تمیزکردن دنچر می‌باشد. استفاده از خمیرها و پودرها سبب افزایش سطح پوشش مسواک روی دنچر می‌شوند ولی در اغلب موارد سبب سایش رزین آکریلی نیز می‌گردند.^[۳] تمیزکننده‌های شیمیایی شامل آلکالین هیدروکلرایدها،

• استادیار گروه پروتزهای متحرک فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

•• استاد گروه قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

••• فارغ‌التحصیل دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

۱. محلول تمیزکننده کیمیا در ایران و توسط شرکت داروسازی کویا دارو ساخته شده است که تاکنون تحقیقی بر روی چگونگی اثرات آن انجام نشده است.

تمیزکننده‌های هیدروکلرایدی، پروکسیدی، تمیزکننده‌های ساینده و تمیزکننده‌های اسیدی را مورد بررسی قرار داد و چنین نتیجه گرفت که بیشترین اثرات تمیزکنندگی آلکالین پروکسایدها در مراحل اولیه آن است و قدرت آنها به مرور زمان کاهش می‌یابد. تمیزکننده‌های هیدروکلرایدی یک اثر پیوسته و ثابتی را از خود نشان می‌دهند و تمیزکننده‌های ساینده به علت سایشی که روی رزین آکریلی دارند چندان مطلوب نیستند. تمیزکننده‌های اسیدی نسبت به سایرین اثرات بهتری را از خود نشان داده‌اند و لیکن روی اجزاء فلزی پروتزها اثر گذاشته و سبب خوردگی آنها می‌شوند.^[۹]

روش و مواد مورد تحقیق Method and Materials

۳۴ نفر از سالمندان آسایشگاه کهریزک و تعداد ۲۳ نفر از بیماران مراجعه کننده به دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران که از پروتز متحرک کامل استفاده می‌کردند بطور تصادفی انتخاب شده و از مخاط کام این بیماران با سواب استریل نمونه تهیه گردید و نمونه‌ها تا هنگام انتقال به آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده بهداشت در لوله‌های استریل حاوی ۲^{cc} سرم فیزیولوژی نگهداری شدند. پس از انجام آزمایش مستقیم نمونه‌های تهیه شده از کام بیماران در زیر میکروسکوپ، میکروارگانسیمهای قارچی بصورت میسیلومهای کاذب و یا بصورت دستجات سلولهای مخمری در کنار هم مشاهده شدند، برای کشت نمونه‌ها از محیط سابروکستروز آگار (محیط S) و محیط سابروکستروز آگار به اضافه ۵۰mg/lit کلرامفنیکل و ۵۰mg/lit سیکلوهمگزامید (محیط S.C.C) استفاده شد.^[۱] پس از کشت نمونه‌ها روی محیط S و S.C.C پلیت‌های کشت به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت در درجه حرارت ۳۷°C نگهداری شدند. در نمونه‌های مثبت کلنی‌های قارچی با قوام خامه‌ای به رنگ سفید تا کرمی در سطح پلیت وجود داشت. از تعداد ۳۴ نفر که از آسایشگاه کهریزک انتخاب شده بودند ۲۵ نفر و از ۲۳ نفر

آلکالین پروکسایدها، اسیدهای رقیق شده، مواد ضد عفونی کننده و آنزیمها می‌باشند.^[۲] آلکالین هیدروکلرایدها قدرت حل کردن ماتریکس آلی پلاک تشکیل شده روی دنچر را دارند ولی سبب حل کردن جرم نمی‌شوند.^[۹] این مواد سبب تیرگی و خوردگی اجزای فلزی پروتزها می‌شوند. آلکالین پروکسایدها از شایع‌ترین مواد تمیزکننده هستند که بطور موثر موسین، دبریا و تغییر رنگ‌های روی دنچر را پاک می‌کنند.^[۹] تمیزکننده‌های اسیدی از اسیدهای رقیق شده تهیه می‌گردند و روی فسفاتهای معدنی موجود در جرم اثر می‌کنند.^[۹] آنزیمهایی که برای ساخت، تمیزکننده‌ها بکار می‌روند آنزیمهایی هستند که خسارت کمی به اجزاء فلزی و آکریلی دست دندان وارد می‌کنند و روی قسمتهای پروتئینی ماتریکس پلاک و غشاء سلولی ارگانسیم‌های موجود در پلاک اثر می‌کنند و سبب انحلال آنها می‌شوند.^[۱]

دکتر Minagi و همکاران چندین تمیزکننده دنچر را براساس خاصیت ضد قارچی آنها بررسی کرده‌اند. یک نوع از این تمیزکننده‌ها دارای آنزیمهای پروتئیناز و گلوکوناز بود که این محلول اثرات بسیار خوبی را بر روی پلاکهای تشکیل شده روی دنچر داشته است و اثرات ضد قارچی این محلول نیز بیشتر از محلولهای تمیزکننده دیگر که حاوی آنزیم نبوده‌اند، بوده است.^[۶] آقای Nakamoto و همکاران نیز یک نوع محلول تمیزکننده که حاوی هیدروکلراید بربراین (Berberine Hydro Chloride) است را مورد بررسی قرار داده و خاصیت ضد قارچی این محلول را روی سه نوع قارچ کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا گلابراتا و کاندیدا تروپیکالیس بررسی نموده و نتیجه‌ای که بدست آمد این بود که محلول حاوی هیدروکلراید بربراین بر روی کاندیدا آلبیکنس بسیار موثر بوده و از رشد آن جلوگیری می‌کند ولی روی کاندیدا گلابراتا چندان موفقیت آمیز نبوده است و علت آن تمایل متفاوت گونه‌های مختلف کاندیدا نسبت به هیدروکلراید بربراین می‌باشد.^[۸] دکتر Neill در طی تحقیقی که انجام داد اثرات ۴ دسته

سوسپانسیون هر نمونه تعیین گردید. نمونه‌های ۳ سی‌سی که از محلولهای رقیق شده ۱۰۰ سی‌سی تهیه شده بودند نیز ساتریفوژ شده و مایع سطحی آن دور ریخته شده از محلول ته‌نشین شده آنها کشت تهیه گردید تا معلوم شود آیا میکروارگانیزمی در این محلول زنده می‌ماند، رشد می‌کند یا خیر؟ برای تشخیص افتراقی انواع کاندیدای دهان از محیط اختصاصی کورن میل آگار با توین ۸۰ استفاده گردید.^[۱] بدین ترتیب که با آنس استریل از یک کلنی خالص رشد یافته روی محیط S نمونه برداشته و بصورت خطی و نسبتاً عمیق در محیط فوق کشت داده و پلیت‌ها در درجه حرارت ۳۷°C به مدت ۲۲ ساعت نگهداری شدند. سپس پلیت‌ها در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت. در محیط فوق وجود میسیلیومهای کاذب و حقیقی که در انتها و اطراف آنها بالاستوکیندیا و کلامیدوکیندیا دیده می‌شود، نشانگر کاندیدال‌بکینس می‌باشد.

نتایج

در شمارش قبل از استفاده محلول تمیزکننده تعداد کلنی‌ها از ۲۸۰۰-۴۰۰ کلنی در هر سی‌سی از سوسپانسیون نمونه‌ها متغیر بودند و پس از استفاده محلول تمیزکننده تعداد کلنی‌های موجود در ۱ سی‌سی از سوسپانسیون نمونه‌ها صفر بود. یعنی هیچ قارچی روی پلیت‌های کشت رشد نکرد. این مسئله بیانگر این نکته است که آلودگی قارچی پروتوزها بطور کامل توسط این محلول از بین رفته است. نتیجه کشت از محلول ساتریفوژ شده نیز در تمام ۴۰ مورد منفی بود بدین معنا که در این محلول تمیزکننده میکروارگانیزم قارچی نمی‌تواند زنده مانده و یا رشد کند. بدلیل آنکه نمونه‌ها از دو مرکز جداگانه تهیه شده بودند و نتایج بدست آمده از دو مرکز مشابه هستند. بنابراین خاصیت ضدقارچی این محلول به شرایط سن، مکان، جنس و سایر شرایط بستگی ندارد و این محلول در هر موقعیتی استفاده شود در نتیجه بدست آمده

مراجعه به دانشکده نیز ۱۵ نفر آنها مبتلا به کاندیدیازیس اتروفیک مزمن بودند و برای بررسی اثر ضدقارچی محلول مورد نظر انتخاب شدند. محلول تمیزکننده کیمیا از نوع تمیز کننده‌های شیمیایی با بیس اسیدی و از دسته اکسیدکننده‌ها است. PH این محلول ۱/۴ است و برای مصرف ۲۰ سی‌سی از آن را با ۸۰ سی‌سی آب مخلوط کرده و دنچرها را به مدت ۶ ساعت در این محلول قرار می‌دهیم و پس از آن دنچرها را با آب می‌شویم. فرمول این محلول مطابق اطلاعات داده شده از شرکت داروسازی کیمیا مطابق جدول زیر است:

درصد	مواد
۱۰	آب اکسیژنه
۵	اسید فسفریک
۵	اسید کلریدریک
۵	اسید سیتریک
مواد رنگی مجاز	

برای بررسی اثر ضدقارچی این محلول از پروتوزهای فک بالای بیمارانی که جواب آزمایش اول آنها مثبت بوده است، با سواب استریل نمونه‌برداری کرده، پس از آن هر کدام از پروتوزها به مدت ۶ ساعت درون محلول تمیزکننده کیمیا قرار داده شدند و پس از شستشوی پروتوزها با آب از آنها مجدداً نمونه تهیه گردید. از ۱۰۰ سی‌سی محلول رقیق شده که پروتوزها در آنها قرار داده شده بودند از هر کدام ۳ سی‌سی در لوله‌های استریل ریخته و برای آزمایش و تهیه کشت به آزمایشگاه برده شدند. بعد از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه از نمونه‌هایی که از پروتوزها قبل و بعد از استفاده محلول تهیه گردیده بود روی محیط S کشت داده شد پس از آن محیط‌ها به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در انکوباتور با درجه حرارت ۳۷°C نگهداری شدند. سپس تعداد کلنی‌های رشد کرده روی هر محیط شمرده شده و تعداد کلنی‌های موجود در ۱ سی‌سی از

تأثیری نخواهد داشت.

از بررسی جداول آماری نتایج زیر بدست آمده است:

در مطالعه‌ای که دانشکده دندانپزشکی به عمل آمد بیشترین درصد سنی بین ۶۱-۶۵ سال بوده‌اند و حدود ۷۳ درصد افراد سنی کمتر از ۶۵ سال داشته‌اند ولی در آسایشگاه کهریزک بیشترین درصد سنی بین ۷۱-۷۵ سال بوده‌اند و ۸۴ درصد افراد دارای سنی بیشتر از ۶۵ سال بودند این تفاوت سنی در دو مرکز می‌تواند به شرایط پذیرش بیماران دانشکده ارتباط داشته باشد (جدول ۱).

در آسایشگاه کهریزک ۸۴ درصد افراد در هنگام شب پروتز خود را از دهان خارج نمی‌کنند در مراجعین به دانشکده دندانپزشکی نیز ۷۳/۳ درصد افراد پروتزهای خود را هنگام شب از دهان خارج نمی‌کنند بنابراین می‌توان گفت که این مسئله در ایران عمومیت دارد و می‌توان ارتباط مستقیمی بین خارج نکردن پروتز در شب و دنچر استوماتیت در نظر گرفت. (جدول ۲)

جدول ۱- توزیع بیماران مبتلا به کاندیدیازیس آتروفیک بر حسب سن

محل مطالعه		دانشکده دندانپزشکی		آسایشگاه کهریزک	
سن		تعداد	درصد	تعداد	درصد
۴۶-۵۰		۲	۱۳/۳	۴	۱۶
۵۱-۵۵		۳	۲۰	-	-
۵۶-۶۰		۱	۶/۷	-	-
۶۱-۶۵		۵	۳۳/۳	-	-
۶۶-۷۰		۳	۲۰	۴	۱۶
۷۱-۷۵		۱	۶/۷	۹	۳۶
۷۶-۸۰		-	-	۴	۱۶
۸۱-۸۵		-	-	۴	۱۶
جمع		۱۵	۱۰۰	۲۵	۱۰۰

جدول ۲- توزیع بیماران مبتلا به کاندیدیازیس آتروفیک مزمن بر حسب خارج کردن پروتز در هنگام شب

محل مطالعه		دانشکده دندانپزشکی		آسایشگاه کهریزک	
خارج کردن پروتز در شب		تعداد	درصد	تعداد	درصد
خارج می‌کند		۴	۲۶/۷	۴	۱۶
خارج نمی‌کند		۱۱	۷۳/۳	۲۱	۸۴
جمع		۱۵	۱۰۰	۲۵	۱۰۰

امر به فقر بهداشت دهان و دندان در این گروه از بیماران در ایران ارتباط دارد.

در آسایشگاه کهریزک تنها ۱۲ درصد افراد از مسواک برای تمیزکردن پروتزهای خود استفاده می‌کنند در دانشکده نیز تنها حدود ۱۳ درصد افراد پروتزهایشان را مسواک می‌زنند و این

جدول ۳- توزیع بیماران مبتلا به کاندیدیا یازیس آتروفیک مزمن برحسب نحوه تمیزکردن پروتز

آسایشگاه کهریزک		دانشکده دندانپزشکی		محل مطالعه نحوه تمیزکردن
درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۴۴	۱۱	۲۶/۷	۴	نمی‌شویند
۴۴	۱۱	۶۰	۹	شستشو با آب
۱۲	۳	۱۳/۳	۲	شستشو با مسواک
۱۰۰	۲۵	۱۰۰	۱۵	جمع

جدول ۴- توزیع بیماران مبتلا به کاندیدیا یازیس آتروفیک برحسب نوع کاندیدای دهان

آسایشگاه کهریزک		دانشکده دندانپزشکی		محل مطالعه نوع کاندیدا
درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۸۸	۲۲	۸۶/۷	۱۳	C.a *
۱۲	۳	۱۳/۳	۲	C.sp **
۱۰۰	۲۵	۱۰۰	۱۵	جمع

* کاندیدا آلیکانس

** گونه‌های دیگر کاندیدا

بحث

تماس مداوم میکروارگانیسمهای پلاک دنچر با مخاط بیماران سبب تغییراتی در مخاط می‌شود. هنگامیکه این مجاورت از بین برود سلامت بافتی مخاط دهان مجدداً برقرار می‌شود.^[۲] برای این منظور استفاده از محلولهای تمیزکننده می‌تواند بسیار مفید باشد، یکی از اثرات مهم محلولهای

در آسایشگاه کهریزک در ۸۸ درصد مواد کاندیدا آلیکانس مسئول ضایعات دنچر استوماتیت در این بیماران بوده است در دانشکده نیز ۸۶/۷ درصد موارد کاندیدا آلیکانس ایجاد دنچر استوماتیت نموده و این امر نشاندهنده نقش این قارچ در بروز کاندیدیا یازیس دهانی بخصوص در افراد استفاده‌کننده از پروتز می‌باشد.

لازم به یادآوری است که اثرات این محلول روی رزین آکریلی و اجزای فلزی پروتزها از این بررسی حذف شده‌اند. علت این امر عبارت است از:

- ۱- این موضوعات احتیاج به تحقیقات وسیع‌تری دارد و می‌تواند به عنوان موضوع جداگانه‌ای برای بررسی تلقی گردد.
- ۲- تنها از پروتزهای کامل در این بررسی استفاده شده و پلاکهای پارسیل بواسطه تأثیر اثرات جانبی از تحقیق حذف گردیدند.

خلاصه

هدف از این بررسی تعیین میزان خاصیت ضدقارچی محلول تمیزکننده ساخته شده در ایران بوده که توسط شرکت داروسازی کیمیا تولید شده است. برای این منظور قبل از استفاده از محلول مورد نظر از پروتز کامل ۴۰ بیمار مبتلا به کاندیدیازیس آتروفیک مزمن نمونه برداری شد و پس از کشت روی محیط S کلنی‌های قارچی رشد نموده روی محیط شمرده شدند بعد از استفاده محلول و نمونه برداری و تهیه کشت مجدد از پروتز تعداد کلنی‌های قارچی موجود روی هر محیط تعیین شدند. از مقایسه نتایج این دو مرحله معلوم گردید که پس از استفاده از این محلول آلودگی قارچی دنجرها به میزان ۱۰۰ درصد از بین رفته و این محلول توانایی از بین بردن قارچهای مولد کاندیدیازیس آتروفیک مزمن را داشته است. بنابراین استفاده از این محلول در پیشگیری از ضایعات دنجر استوماتیت می‌تواند موثر باشد.

تمیزکننده اثر ضدقارچی و ضد میکروبی آنها می‌باشد. آقای Dills و همکاران اثرات ضد میکروبی و قارچی دو نوع ماده تمیزکننده را مورد بررسی قرار دادند^[۱۲] از یک خمیر ساینده بنام Dentu - Creme و یک محلول تمیزکننده پروکسایدی بنام Efferdent استفاده گردید. در این بررسی از ۳۰ بیمار که دارای پروتزهای متحرک بودند دعوت به همکاری نمود و برای نمونه برداری از سواب خشک استریل استفاده گردید ولی پس از آن نمونه‌ها را به مدت ۲ ساعت در محلول RTF^۱ قرار گرفت و از انواع محیط‌های کشت اختصاصی برای استرپتوکوک‌های دهانی، قارچها و Veillonella SP استفاده نمود. نتیجه‌ای که از این بررسی گرفته شد چنین بود که در اثر استفاده از محلول Efferdent به تنهایی و یا استفاده توأم آن با خمیر Denta - Creme حدود ۹۹ درصد از انواع میکروارگانیسم‌های پلاک نسبت به گروهی که هیچ عمل تمیزکننده‌ای روی دنجرها نشان انجام نداده بودند، کاهش یافت در صورتی که در مسواک زدن تنها با خمیر Dentu - Creme کاهش چندانی مشاهده نگردید. بنابراین روش خیس کردن پروتز در یک محلول تمیزکننده می‌تواند اثر بهتری داشته باشد.^[۱۳]

در بررسی انجام شده از پروتز کامل ۴۰ بیمار مبتلا به کاندیدیازیس آتروفیک مزمن استفاده گردید و پس از هر بار نمونه برداری، نمونه‌ها در لوله‌های استریل حاوی ۲ سی‌سی فیزیولوژی و در یخچال نگهداری شدند. برای جلوگیری از هرگونه تمیزی در میزان و نوع آلودگی نمونه‌های تهیه شده از محلول RTF استفاده نشد، و چون تنها اثر ضدقارچی این محلول مورد نظر بوده است بنابراین برای تهیه کشت فقط از محیط S و S.CC استفاده گردید.

1- Reduced Transport Fluid

Summary

Chronic atrophic candidiasis, popularly recognized as denture sore mouth is seen as an inflammatory condition of the denture bearing tissues of the oral cavity. Angular cheilitis may be seen alongwith the above condition. Denture stomatitis is observed in 24-60% of denture users. Trauma from (loose) denture, decreased vertical dimension and deficiency of vitamin B

are cited as causes of the inflammation. Surprisingly, the line of treatment is antifungal. Also, the candida organism is detected more easily on the resin denture base rather than the oral tissues.

Hence, the role of a denture cleanser produced in Iran which also has antifungal activity was tested upon 40 patients with chronic atrophic candidiasis to evaluate its effectiveness.

منابع فارسی و لاتین:

1. دکتر مسعود امامی، دکتر پریش کردبچه، دکتر مهین مقدمی، دکتر فریده زینی، قارچ‌شناسی پزشکی - انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۰ چاپ سوم
2. Ambjornsen and Rise (1985): "The Effect of Verbal Information and Demonstration on Denture Hygiene in Elderly People" *Acta Odontol Scand* 43(1): 19.
3. Dills [et.al], (1979): "Comparision of the Antimicrobial Capability of an Abrasive Paste and Chemical Soak Denture Cleaners" *J Prosthet Dent* 6(4): 467.
4. Jorgensen and Odont (1979): "Material and Methods for Cleaning Dentures" *J. Prosthet Dent.* 42(6): 619.
5. Lynch, M. (1994): "*Burket's Oral Medicine*". Philadelphia, Lippincott.
6. Minagi., [et.al] (1987): "Objective Testing of the Efficiency of Denture Cleansing Agents" *J Prostet Dent.* 958(5): 595.
7. Nakomoto. [et.al] (1991): "Evaluation of Denture Cleansers with and Without Enzymes Against *Candida Albicans*" *J. Rosthet Dent.* 66(6): 792.
8. Nakomoto. [et.al] (1995): "Invitro Study on the Effects of Trial Denture Cleansers with Berberine Hydrochloride" *J. Prosthet Dent.* 73(6): 530.
9. Neill. (1989): "A Study of Materials and Methods Employed in Cleaning Dentures" *British J. Dent.* 124(3): 107.
10. Nyquist, B. (1989): "A Study of Denture - Sore - Mouth" *ACTA Odont - Secnd* St. Louis, Mosby 152.
11. Wood and Goos (1991): "Differential Diagnosis of Oral Lession" St. Louis, Mosby.