

Metody diagnostyki laboratoryjnej grzybicy w obrębie błony śluzowej jamy ustnej u pacjentów użytkujących ruchome uzupełnienia protetyczne

Methods of laboratory diagnostics of oral candidosis in removable denture wearers

Mariusz Cierech¹, Aleksandra Szczypińska¹, Kamila Wróbel¹, Marlena Gołaś²

¹Z Katedry Protetyki Stomatologicznej IS Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego – Studenckie Koło Naukowe

Opiekun pracy: lek. dent. K. Wróbel

Kierownik: prof. dr hab. E. Mierzwińska-Nastalska

²Z Katedry i Zakładu Mikrobiologii Lekarskiej

Kierownik: prof. dr hab. G. Młynarczyk

HASŁA INDEKSOWE:

stomatopatie protetyczne, grzybica jamy ustnej, diagnostyka

KEY WORDS:

denture stomatitis, oral candidosis, diagnostics

Streszczenie

Celem pracy jest przedstawienie różnych metod diagnostyki kandydozy jamy ustnej na podstawie dostępnej literatury.

W pracy uwzględniono następujące metody diagnostyczne kandydozy: klasyczne (wymaz z błony śluzowej jamy ustnej, preparat bezpośredni oraz hodowla), szybkie (test Dentocult CA i szybka identyfikacja za pomocą testu PCR) oraz replika protezy. Dobór powyższych metod miał na celu przedstawienie standardowego postępowania w przypadku podejrzenia kandydozy oraz mniej znanych testów mogących być alternatywą dla praktykujących lekarzy stomatologów.

Najbardziej czasochłonną metodą okazało się pobranie wymazu bezpośredniego z błony śluzowej jamy ustnej pacjenta. Przy pomocy testu PCR identyfikuje się materiał genetyczny 10 gatunków grzybów z rodzaju *Candida*. Jest on w stanie wykluczyć infekcję grzybiczą już w 5 godzin od pobrania materiału diagnostycznego. Test Dentocult CA jest szybką i prostą metodą wykrywania kandydozy, jednakże ma dla lekarza stomatologa znaczenie jedynie orientacyjne. Metoda repliki pozwala nie tylko na jakościowe oraz ilościowe oznaczenie grzybów z rodzaju *Candida*, ale także wskazuje na rozmieszczenie ich na powierzchni błony śluzowej.

Pomimo istnienia wielu nowoczesnych metod identyfikacji grzybicy jamy ustnej, najwłaściwszym postępowaniem pozostaje pobranie wymazu bezpośredniego z błony śluzowej oraz sporządzenie antymikogramu celem ustalenia oporności na leki przeciwgrzybicze.

Summary

The aim of the paper is to present various diagnostic methods for oral candidosis on the basis of the available literature.

The following diagnostic methods are discussed: classical (taking a swab from the oral mucosa, the direct formulation and breeding), quick (Dentocult CA and rapid identification with use of PCR test) and replica. The selection of these methods was aimed to describe the standard procedure in cases of suspected candidosis, as well as to present less-known tests that may be an alternative to practicing dentists.

The most accessible, but also the most time-consuming method is to take a swab from the patient's oral mucosa. The PCR test helps to identify the genetic material of 10 types of fungi. The negative result is able to exclude fungal infection during 5 h. The Dentocult CA test is a fast and simple method for detecting candidosis, however, it serves only as a reference. The replica method not only makes the qualitative and quantitative determination of *Candida* species possible, but it also indicates the location of the mucosal surfaces, which stick to the base of denture.

Despite many modern methods for identifying candidosis of the oral cavity, taking direct swab from the oral mucosa combined with antimicrograph to determine antifungal drug resistance is still the most appropriate diagnostic tool.

Grzybica jamy ustnej jest poważnym, jak również coraz częstszym problemem we współczesnej stomatologii. Dzieje się tak nie tylko z powodu rozpowszechnienia antybiotykoterapii czy terapii nowotworów, ale także z powodu znacznej liczby pacjentów użytkujących uzupełnienia protetyczne – zwłaszcza ruchome (1). Jama ustna jest miejscem koegzystencji bakterii i grzybów, które przy zachowaniu dynamicznej równowagi mogą być uważane za florę fizjologiczną (2, 3, 4). Czynnikiem predysponującym do zachwiania tej równowagi mogą być zaburzenia odporności, schorzenia ogólnoustrojowe jak cukrzyca, czy użytkowanie uzupełnień protetycznych wykonanych głównie z tworzywa akrylowego (5, 6, 7) (ryc. 1). Również nie stosowanie się do zaleceń lekarza odnośnie użytkowania i przechowywania protez, stwarza korzystniejsze warunki dla rozwoju grzybów i predysponuje do rozwoju stomatopatii protetycznych powikłanych infekcją grzybiczą (8). Z problemem tym spotykają się nie tylko lekarze protetycy. Powodem dolegliwości mogą także stać się akrylowe aparaty ortodontyczne, a zmiany te określane są wówczas jako stomatopatie ortodontyczne (9).

Uraz mechaniczny powodowany przez źle przylegające i szorstkie części uzupełnienia powoduje zaburzenie w obrębie jednej z podstawowych struktur obronnych jamy ustnej – błony śluzowej. Wówczas może stać się ona wrotami zakażenia,



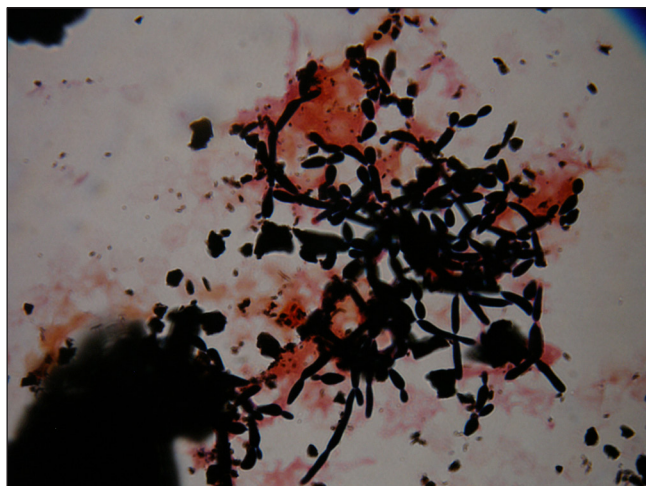
Ryc. 1. Tworzywo akrylowe ze względu na swoją chropowatość, a także porowatość będącą wykładnikiem nasiąkliwości stwarza korzystne warunki dla odkładania płytki protez i namnażania się grzybów drożdżopodobnych.

między innymi dla grzybów z rodzaju *Candida*. Sprzyja temu obecność płytki protez wynikająca z niewystarczającej higieny uzupełnień ruchomych, całodobowe ich użytkowanie lub przechowywanie w wilgotnym środowisku, predysponującym do rozwoju drobnoustrojów (10). Zakażenie może objawiać się wyłącznie doznaniem subiektywnymi, jak uczucie suchości czy pieczenia w jamie ustnej, ale też mogą pojawiać się zmiany rumieniowe, początkowo ograniczone, a następnie obejmujące całą błonę śluzową pokrytą płytą protezy (ryc. 2). W odpowiedzi na długotrwale działające bodźce patogene obserwowana może być także odczynowa, przerostowa reakcja błony śluzowej (11).

Specyficzne warunki środowiska panujące pod płytą protezy (m.in. zmniejszony przepływ śliny, obniżone pH, zmniejszone stężenie O_2 i zwiększona temperatura) predysponują do odkładania biofilmu *Candida albicans* (5). Ma on strukturę heterogenną, w formowaniu której istotną rolę stanowi tworzenie wypustek filamentacyjnych przez blastosporę *Candida* (12, 13). Dowiedziono, iż charakterystyczną cechą mikroorganizmów żyjących w strukturze biofilmu jest ich zwiększona oporność na stosowane obecnie chemioterapeutyki, co w znacznym stopniu utrudnia prowadzenie skutecznej farmakoterapii (14). Znamienitą większość pacjentów protetycznych stanowią osoby w wieku podeszłym, których układ odpornościowy ze względu na wiek,



Ryc. 2. Stomatopatia protetyczna II stopnia wg Newtona spowodowana całodobowym użytkowaniem protezy całkowitej górnej.



Ryc. 3. Transformacja *Candida albicans* z formy blastosporowej do formy pseudomycelialnej.



Ryc. 4. Pojedyncze kolonie *Candida albicans* wyhodowane na agarze Sabourauda.

a także często choroby ogólnoustrojowe nie jest w pełni wydolny. W tych przypadkach pierwotne zakażenie jamy ustnej może przenosić się na inne układy i narządy, będąc potencjalnie niebezpiecznym dla zdrowia ogólnego i życia osób starszych (5). Dlatego też obecnie duży nacisk kładzie się na szybką, czułą i prostą metodę diagnostyki zakażeń grzybiczych, która byłaby w stanie odróżnić stan kolonizacji od infekcji jamy ustnej grzybami drożdżopodobnymi i umożliwiałaby wczesne zastosowanie odpowiedniej terapii.

Celem pracy jest przedstawienie na podstawie przeglądu piśmiennictwa klasycznych metod diagnostyki infekcji grzybiczej w obrębie błony śluzowej jamy ustnej oraz mniej znanych metod będących alternatywą dla praktykujących lekarzy stomatologów.

Rozpoznanie kandydozy opiera się przede wszystkim na badaniu klinicznym, które poparte powinno być badaniem mikrobiologicznym. W praktyce stomatologicznej standardowym postępowaniem jest pobranie wymazu z błony śluzowej jamy ustnej, najlepiej bezpośrednio z miejsca zmienionego chorobowo oraz w przypadku pacjentów leczonych protetycznie także z dośluzowej powierzchni protezy (2). Tak pobrane próbki przesyłane są następnie do pracowni mikrobiologicznej. Niezwykle ważne jest przygotowanie pacjenta do badania, które leży w gestii lekarza stomatologa kierującego na pobranie wymazu. Należy poinformować pacjenta,

iż uzupełnienia protetyczne powinny pozostać w jamie ustnej w noc poprzedzającą badanie, nie należy ich myć przed pobraniem wymazu, oraz że badanie mykologiczne powinno być wykonane na czczo. Postępowanie takie umożliwi uzyskanie najbardziej miarodajnych wyników.

Z pobranego materiału sporządza się preparat bezpośredni obserwowany następnie pod mikroskopem świetlnym, w którym wyszukuje się elementów grzybni (15). Większość autorów uważa, iż w zmianach chorobowych jamy ustnej gatunek *Candida albicans* obserwowany jest w postaci pseudostrzępkowej, czyli pseudomycelialnej, podczas gdy w zdrowej jamie ustnej przeważają komórki drożdżopodobne (16) (ryc. 3). Jest to jednak temat dyskusji pomiędzy badaczami i samo wykrycie postaci pseudostrzępkowej nie upoważnia do postawienia rozpoznania grzybiczy jamy ustnej.

Równocześnie wykonuje się posiew na specjalne podłoża dla grzybów w celu założenia hodowli. Najczęściej w tym celu wykorzystuje się stałe podłoże Sabourauda składające się z agaru, wody destylowanej, czynników indukujących wzrost grzybów jak glukoza czy pepton oraz antybiotyków służących do zahamowania wzrostu bakterii (17). Hodowlę prowadzi się przez 7 dni, po tym okresie brak wzrostu uważany jest za wynik ujemny. Wyhodowane kolonie ocenia się natomiast pod względem cech morfologicznych, a także określa wzrost drobnoustrojów jako pojedyncze kolonie, wzrost umiarkowany, ob-



Ryc. 5. Wzrost zlewny świadczący o patogennym wpływie grzybów drożdżopodobnych na środowisko mikrobiologiczne jamy ustnej.

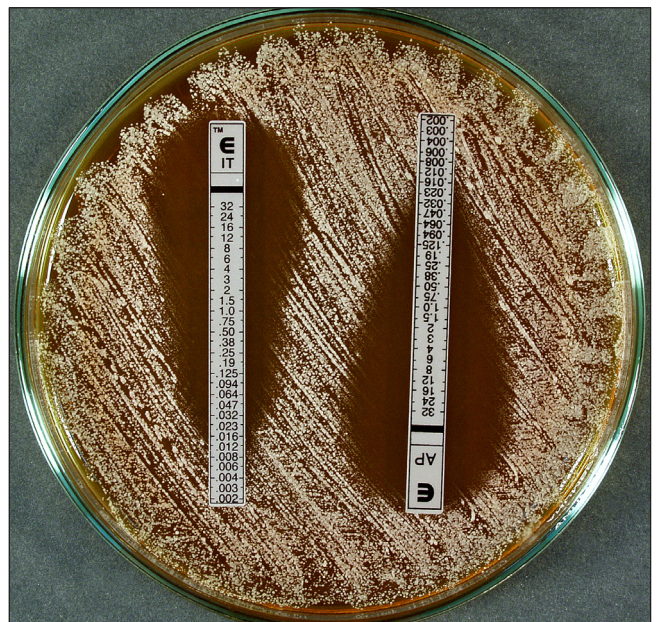
fity lub zlewny (18) (ryc. 4, 5). Badanie ma charakter półilościowy, zatem wzrost obfity lub zlewny w połączeniu ze zmianami na błonie śluzowej jamy ustnej charakterystycznymi dla grzybicy obliguje do postawienia z dużym prawdopodobieństwem właściwej diagnozy. Jednak sam wzrost umiarkowany może być dyskusyjny. W takim przypadku warto rozszerzyć diagnostykę o badanie bakteriologiczne, które po wykazaniu zmniejszonej ilości bakterii może wskazywać na zachwianie równowagi środowiska mikrobiologicznego jamy ustnej z patogennym wpływem grzybów drożdżopodobnych.

Kolejnym punktem jest identyfikacja drobnoustrojów za pomocą testów biochemicznych opartych na ich zdolności do asymilacji i fermentacji niektórych węglowodanów (19) (ryc. 6). Najczęstszym mikroorganizmem izolowanym z jamy ustnej jest *Candida albicans*, jednak obecnie zwraca się uwagę na współistnienie także innych gatunków, jak *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* czy *Candida dubliniensis*, które w znacznym stopniu mogą utrudniać skuteczną farmakoterapię (20, 21, 22).

Ostatnim etapem jest określenie lekowrażliwości drobnoustrojów w celu wyboru odpowiedniej metody leczenia. Stosowane są w tym celu specjalne paski nasączone antybiotykami o różnym stężeniu umożliwiające określenie MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) (ryc. 7). Na tej podstawie określa



Ryc. 6. Identyfikacja biochemiczna drobnoustrojów przy pomocy pasków API Candida (materiały firmy bioMérieux).



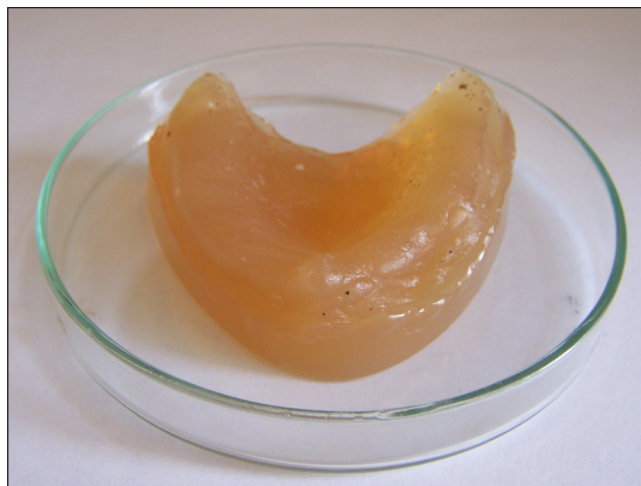
Ryc. 7. Widoczne zahamowanie wzrostu drobnoustroju proporcjonalne do stężenia antybiotyku, umożliwiające określenie MIC.

się celowane dla danego przypadku grupy leków grzybobójczych.

Ze względu na stosunkowo wolny wzrost (np. w porównaniu z bakteriami) diagnostyka mikrobiologiczna jest długotrwała i trwa w przypadku hodowli grzybów nawet do 7 dni. Po uzyskaniu dodatniego wyniku hodowli konieczne jest przeprowadzenie dodatkowych testów identyfikacji i oceny lekowrażliwości, co wydłuża oczekiwanie na wynik o kolejne kilka do kilkunastu dni (2, 4, 23). Ponadto pobieranie wymazu z jamy ustnej nie jest badaniem powtarzalnym. Błona śluzowa często nie jest w równym stopniu objęta procesem chorobowym, przez co pobranie materiału z różnych obszarów może dawać rozbieżne, często znacznie różniące się



Ryc. 8. Przygotowanie formy dla modelu dośluzowej powierzchni płyty protezy.



Ryc. 9. Model wykonany metodą repliki bezpośrednio po uwolnieniu z formy.

wyniki. Dlatego też metoda ta nie może być stosowana do monitorowania postępów leczenia, co jest niezwykle istotne w skutecznej terapii.

Z uwagi na wyniki badań m.in. *Spiechowicza* (24, 25) i *Davenporta* (26) stwierdzających znacznie większe przywieranie mikroorganizmów do niewypolerowanej strony protezy w porównaniu do błony śluzowej jamy ustnej, wprowadzono do diagnostyki metodę repliki. Polega ona na odlaniu modelu ze zmodyfikowanego agaru Sabourauda, będącego selektywnym podłożem dla *C. albicans*, który odwzorowuje dośluzową powierzchnię płyty protezy (27). Formę dla agaru wykonuje się poprzez oklejenie pobrzoży protezy przy pomocy paska wosku modelowego (ryc. 8). Agar po procesie sterylizacji zostaje doprowadzony do fazy płynnej pod wpływem temperatury, a po ochłodzeniu przeniesiony do formy. Autorzy zalecają przenoszenie agaru porcjami (10 ml. podłoża na minutę) nie zaburzając w ten sposób wzrostu drobnoustrojów. Po zastygnięciu agaru odczeka się dodatkowe 5 min. i zachowując szczególną ostrożność uwalnia model z formy przenosząc go na sterylną szalkę Petriego (ryc. 9). Model ten jest inkubowany w temperaturze pokojowej, a wzrost oraz rozmieszczenie mikroorganizmów dokumentowane jest po okresach 24, 48, 72 oraz 96 godzin (ryc. 10).

Metoda repliki wykazuje znacznie większą czułość w porównaniu z pobieraniem wymazu z powierzchni błony śluzowej, co może mieć



Ryc. 10. Model agarowy wykonany metodą repliki po 48h inkubacji.

zastosowanie w przypadku pacjentów z klinicznie zdrową błoną śluzową, a zgłaszających subiektywne dolegliwości uczucia pieczenia czy suchości w obrębie jamy ustnej tzw. Stadium „0” w zmodyfikowanej klasyfikacji Newtona (28). Pacjenci użytkujący uzupełnienia protetyczne w większości są pacjentami w wieku starszym o zmniejszonej wydolności układu odpornościowego, zatem niezwykle ważna jest możliwość wczesnej diagnostyki oraz podjęcia terapii już w początkowym stadium rozwoju choroby, co znacznie skrócić może terapię przeciwgrzybiczą oraz możliwości reinfekcji (29). Ponadto ze względu na fakt, iż badaniem objęte jest



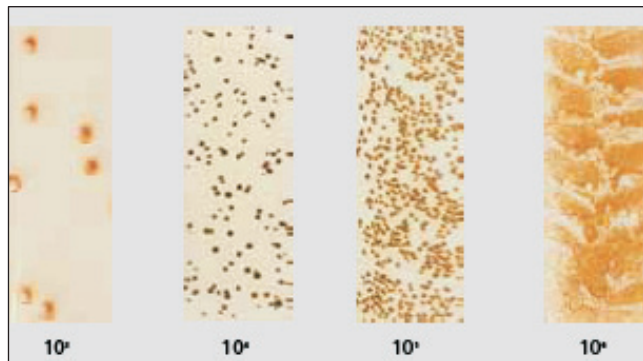
Ryc. 11. Posiew na wybiórcze podłoże Nickersona (materiały firmy Orion Diagnostica).

całe pole protetyczne możliwe jest określenie rozmieszczenia drobnoustrojów, a co więcej monitorowanie leczenia, które w znacznym stopniu ułatwia skuteczną terapię przeciwgrzybiczą.

Ze względu na pracochłonność i długi okres oczekiwania na wyniki w trakcie standardowego postępowania w pracowni mikrobiologicznej wprowadzono na rynek zestawy do szybkiej diagnostyki zakażeń grzybami drożdżopodobnymi. W pracy uwzględniono test Dentocult CA firmy Orion Diagnostica. Pierwszy etap postępowania polega na pobraniu wymazu z błony śluzowej. Następnie wykonuje się posiew pobranego materiału na agar wybiórczy Nickersona (ryc. 11) i inkubuje przez 48h w temperaturze pokojowej (30). Gładka, brązowa pigmentacja świadczy o koloniach *C. albicans*. Kolejnym etapem jest interpretacja ilościowa otrzymanych wyników na podstawie załączonych do zestawu barwnych wzorców (ryc. 12).

Test Dentocult CA ma dla lekarza stomatologa znaczenie tylko orientacyjne, wykrywa grzyby z rodzaju *Candida* nie różnicując poszczególnych gatunków, a co więcej nie określa ich lekowrażliwości (30). Może on być bardzo przydatny w sytuacjach gdy nie ma możliwości wykonania pełnego badania mikrobiologicznego, gdy lekarz zmuszony jest do podjęcia decyzji dotyczącej wprowadzenia terapii przeciwgrzybiczej tylko na podstawie badania klinicznego.

Obecnie obserwuje się coraz częściej próbe wykorzystywania metod molekularnych w celu diagnostyki grzybicy jamy ustnej. W 2006 roku Liguori i wsp. (31) opracowali metodę pozwalającą



Ryc. 12. Interpretacja wyników testu Dentocult CA (materiały firmy Orion Diagnostica).

na szybką identyfikację 10 najczęściej występujących gatunków grzybów z rodzaju *Candida* przy pomocy testu PCR. Materiał do badań uzyskiwano z popłuczyn jamy ustnej za pomocą 5 ml roztworu PBS (Phosphate buffered saline) przez okres 1 min. Następnie metoda obejmowała wyekstrahowanie DNA oraz dodanie go do mieszaniny reakcyjnej. Powyższa mieszanina zawierała startery specyficzne dla odpowiednich gatunków grzybów, które dzięki pracy termocyklera przyłączyły się do określonych fragmentów nici DNA umożliwiając amplifikację materiału genetycznego grzybów. Tak powielony materiał był następnie rozdzielany na drodze elektroforezy i identyfikowany dzięki zjawisku fluorescencji.

Metoda PCR porównywana jest z rutynową identyfikacją biochemiczną grzybów będącą częścią typowego postępowania diagnostycznego grzybicy jamy ustnej. Metoda ta nie wymaga założenia hodowli, dzięki czemu możliwe jest skrócenie czasu potrzebnego od pobrania materiału do identyfikacji z około 5 dni do 5 godzin. Metoda ta jest niezwykle czuła umożliwiającą wykrycie już 1-5 komórek w 1 ml materiału diagnostycznego (31). Wynik negatywny jest w stanie wykluczyć infekcję grzybiczą jamy ustnej w ciągu 5h od pobrania materiału diagnostycznego. Umożliwia to szybkie podjęcie kolejnych kroków zmierzających do odnalezienia przyczyny występowania zmian w obrębie błony śluzowej jamy ustnej. Wynik pozytywny nie musi natomiast oznaczać infekcji grzybiczej, wykryta flora może być florą fizjologiczną lub zainfekowaniem materiału diagnostycznego zarodnikami

grzyba z powietrza. Uważa się, iż przyszłość tej metody stanowi Real Time PCR, który dzięki znakowanym nukleotydami jest w stanie oznaczyć ilość powstającego DNA w czasie rzeczywistym, co może dawać rozeznanie co do wyjściowej ilości materiału genetycznego drobnoustroju (32).

Wnioski

1. Pomimo istnienia wielu nowoczesnych metod identyfikacji grzybicy jamy ustnej, najważniejszym postępowaniem pozostaje nadal pobranie wymazu bezpośrednio z błony śluzowej jamy ustnej w celu założenia hodowli oraz sporządzenie antymikrogramu służącego do ustalenia oporności na leki przeciwgrzybicze.
2. Pomocną przy skutecznej terapii przeciwgrzybiczej może być metoda repliki, która jako metoda w pewnym stopniu powtarzalna umożliwia przeprowadzenie monitorowania postępów leczenia.
3. Obecne w piśmiennictwie rozbieżności dotyczące epidemiologii grzybicy mogą wynikać nie tylko z różnic w populacji poddanej ocenie, ale także z czułości zastosowanej metody diagnostycznej.

Piśmiennictwo

1. *Jaworska-Zaremba M., Mierzwińska-Nastalska E., Szumilak-Krogulec M.*: Wpływ upośledzonych mechanizmów odpornościowych oraz użytkowania uzupełnień protetycznych na rozwój zakażeń grzybiczych błony śluzowej jamy ustnej. *Nowa Stom.*, 2006, 11, 1, 38-41.
2. *Wacińska-Drabińska M., Gajdzik-Plutecka D., Olczak-Kowalczyk D.*: Grzybica jamy ustnej, diagnostyka i leczenie. *Nowa Stom.*, 2009, 3, 74-81.
3. *Lenglais R., Miller C.*: Choroby błony śluzowej jamy ustnej. Urban & Partner, Wydanie I, Wrocław 1997.
4. *Samaranayake L. P.*: Podstawy mikrobiologii dla stomatologów. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2004.
5. *Spiechowicz E., Mierzwińska-Nastalska E.*: Grzybice jamy ustnej. Med Tour Press International, Warszawa 1998.
6. *Szymankiewicz M., Kowalewski J.*: Zakażenia wywołane przez grzyby *Candida*. Czynniki predysponujące. *Mikol. Lek.*, 2005, 12, 189-192.
7. *Doročka-Bobkowska B., Budtz-Jørgensen E., Włoch S.*: Non-insulin-dependent diabetes mellitus as a risk factor for denture stomatitis. *J. Oral Pathol. Med.*, 1996, 8, 411-415.
8. *Mierzwińska-Nastalska E. i wsp.*: Wpływ higieny protez na powstawanie zakażenia grzybiczego błony śluzowej jamy ustnej. *Nowa Stom.*, 2000, 4, 14, 52-55.
9. *Pietrzak-Bilińska B.*: Grzybice jamy ustnej u dzieci leczonych ortodontycznie. *Czas. Stomat.*, 1998, 51, 125-132.
10. *Mierzwińska-Nastalska E.*: Zakażenia grzybicze błony śluzowej jamy ustnej u użytkowników uzupełnień protetycznych – badania kliniczne i mikrobiologiczne. Praca habilitacyjna, Warszawa, 2000.
11. *Górska R.*: Diagnostyka i leczenie chorób błony śluzowej jamy ustnej. Med Tour Pres International, Wydanie I, Warszawa 2011.
12. *Chandra J., Kuhn D. M., Mukherjee P. K., Hoyer L. L., McCormick T., Ghannoum M. A.*: Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J. Bacteriol.* 2001, 183, 5385–5394.
13. *Doročka-Bobkowska B., Konopka K.*: Powstawanie biofilmu *Candida* i jego znaczenie w patogenezie zakażeń przewlekłych – przegląd piśmiennictwa. *Dent. Med. Probl.*, 2003, 40, 405-410.
14. *Chandra J., Mukherjee P. K., Leidich S. D., Faddoul F. F., Hoyer L. L., Douglas L. J., Ghannoum M. A.*: Antifungal resistance of candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. *J. Dent. Res.* 2001, 80, 903–908.
15. *Dynowska M., Roslan M., Biedunkiewicz-Ziomek A.*: Wartość diagnostyczna preparatów bezpośrednich w rozpoznawaniu zakażeń grzybiczych. *Mikol. Lek.*, 2004, 11, 4, 251-257.
16. *Spiechowicz E., Renner R., Ling X. i wsp.*: Badania nad dimorfizmem *C. albicans* na powierzchniach protezy i błony śluzowej u pacjentów ze stomatopatią protetyczną. *Protet. Stomatol.*, 1994, 44, 2, 65-70.
17. *Virella G.*: Mikrobiologia i choroby zakaźne. Elsevier Urban & Partner, Wrocław 1999.
18. *Jańczuk Z., Banach J.*: Choroby błony śluzowej jamy ustnej i przyzębia. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1995.

19. Richardson M.D., Warnock D.W.: Grzybnice rozpoznawanie i leczenie. Springer PWN, Warszawa 1995.
20. Stenderup A.: Ecology of yeast and epidemiology of yeast infections. Acta Derm. Venereol. Suppl. (Stockh.), 1986, 121, 27-37.
21. Bodey G. P., Mardani M., Hanna H. A., Boktour M., Abbas J., Girgawy E., Hachem R. Y., Kontoyiansis D. P., Raad I.: The epidemiology of *Candida glabrata* and *Candida albicans* fungemia in immunocompromised patients with cancer. Am. J. Med. 2002, 112, 380-385.
22. Gutierrez J., Morales P., Gonzales M. A., Quindos G.: *Candida dubliniensis*, a new fungal pathogen. J. Basic Microbiol. 2002, 42, 207-227.
23. Macura A.B.: Chorobotwórczość grzybów drożdżopodobnych, rozpoznanie i leczenie grzybic przez nie wywołanych. Post. Dermat., 1993, 10, 39-66.
24. Spiechowicz E., Weyman-Rzucidło D.: *Candida albicans* als eine der Ursachen der prothetischen Stomatopathien. Mykosen, 1971, 14, 419-424.
25. Spiechowicz E., Mierzwińska-Nastalska E.: Przywieranie grzybów drożdżopodobnych do błony śluzowej jamy ustnej i powierzchni protez. Protet. Stomatol., 1998, 48, 6, 309-312.
26. Davenport J.C.: The oral distribution of *candida* in denture stomatitis. Br. Dent. J., 1970, 129, 151-160.
27. Santarpia R., Pollock J., Renner R., Spiechowicz E.: An in vivo replica method for the site-specific detection of *Candida albicans* on the denture surface in denture stomatitis patients: Correlation with clinical disease. J. Prosthet. Dent., 1990, 63, 437-443.
28. Spiechowicz E.: Protetyka Stomatologiczna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2006.
29. Spiechowicz E., Renner R., Pollock J., Santarpia R., Ciechowicz B., Kowalczyk W., Niesłuchowska M.: Sensitivity of the replica method in the detection of candidal infection among denture wearers with clinically healthy oral mucosa. Quintessence Int., 1991, 22, 9, 753-755.
30. Węgorska D., Rawicka I., Szczygielski A.: Zastosowanie testu Oricult-N dla określenia występowania drożdżaków z rodzaju *Candida albicans* u ciężarnych. Czas. Stomat., 1992, 45, 9, 450-453.
31. Liguori G., Lucariello A., Colella G., Luca A., Marinelli P.: Rapid identification of *Candida* species in oral rinse solutions by PCR. J. Clin. Pathol., 2007, 60, 1035-1039.
32. Lewis White P., Williams D., Kuriyama T., Samad S., Lewis M., Barnes A.: Detection of *Candida* in Concentrated Oral Rinse Cultures by Real-Time PCR. J. Clin. Microb., 2004, 5, 2101-2107.

Zaakceptowano do druku: 17.V.2012 r.

Adres autorów: 02-006 Warszawa, ul. Nowogrodzka 59.

© Zarząd Główny PTS 2012.