

DOI: <https://doi.org/10.59294/HIUJS.KHTT.2024.008>

ĐẶC ĐIỂM KHÁNG NẤM ĐỒ CỦA PHỨC BỘ *TRICHOPHYTON RUBRUM* VÀ *TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES*

Thạch Thị Diễm Phương^{1,*}, Trần Phú Mạnh Siêu², Phùng Đức Truyền³, Tăng Tuấn Hải⁴,
Nguyễn Thị Kim Quyên¹ và La Mộng Thúy¹

¹Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch,

²Bệnh viện Quận Gò Vấp,

³Viện sốt rét Ký sinh trùng - Côn trùng Thành phố Hồ Chí Minh,

⁴Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Kháng nấm đồ của vi nấm ngoài da với các thuốc kháng nấm hiện hành vẫn chưa được khảo sát thường xuyên tại Việt Nam. *Mục tiêu nghiên cứu:* Khảo sát đặc điểm kháng nấm đồ của vi nấm ngoài da đối với các thuốc kháng nấm hiện hành. *Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:* Nghiên cứu in-vitro được tiến hành trên 129 mẫu vi nấm ngoài da lưu trữ tại Bộ môn Vi sinh học – Ký sinh học, Khoa Y, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh. Vi nấm được nuôi cấy trên thạch Sabouraud đường và định danh dựa trên đặc điểm hình thái. Kháng nấm đồ với itraconazole, fluconazole và griseofulvin được khảo sát bằng kỹ thuật đĩa khuếch tán trên thạch. Đường kính vòng kháng nấm ở ngày thứ 5 được đo bằng thước cặp. Chúng tôi xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS 25. *Kết quả:* Phức bộ *Trichophyton rubrum* chiếm tỷ lệ cao nhất (51.9%). Cả phức bộ *T. rubrum* và *T. mentagrophytes* đều có tỷ lệ nhạy cảm cao với itraconazole và griseofulvin, trong khi fluconazole biểu hiện đề kháng với hầu hết chủng vi nấm ngoài da. Đường kính kháng nấm itraconazole và griseofulvin của phức bộ *T. mentagrophytes* thấp hơn đáng kể so với phức bộ *T. rubrum* ($p < 0.05$). *Kết luận:* Thuốc itraconazole và griseofulvin có độ nhạy cao với các vi nấm *Trichophyton spp.*; sự khác biệt về đường kính kháng nấm giữa hai phức bộ *T. rubrum* và *T. mentagrophytes* gợi ý các cơ chế đề kháng thuốc khác nhau ở các phức bộ.

Từ khóa: vi nấm ngoài da, *Trichophyton*, kháng nấm đồ

EVALUATION OF THE ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY OF *TRICHOPHYTON RUBRUM* COMPLEX AND *TRICHOPHYTON* *MENTAGROPHYTES* COMPLEX

Thach Thi Diem Phuong, Tran Phu Manh Sieu, Phung Duc Truyen, Tang Tuan Hai,
Nguyen Thi Kim Quyen and La Mong Thuy

ABSTRACT

Background: Antifungal susceptibility testing of dermatophytes has yet to be routinely performed in Vietnam. *Objectives:* To evaluate the susceptibility pattern of dermatophytes to available antifungals. *Materials and methods:* This in-vitro study was conducted on 129 dermatophyte strains preserved in the Microbiology - Parasitology Department, School of Medicine at Ho Chi Minh City National University. We isolated the strains in Sabouraud's dextrose agar and identified the dermatophytes based on morphological features. Antifungal susceptibility testing was performed with itraconazole, fluconazole, and griseofulvin using an agar-based disk diffusion method. The inhibition zone diameter (IZD) was measured with a caliper on 5th days. We used SPSS 25 to analyze data. *Results:* *Trichophyton rubrum* complex accounted for a higher proportion (51.9%). Both

* Tác giả liên hệ: CN. Thạch Thị Diễm Phương, Email: phuongttd@pnt.edu.vn
(Ngày nhận bài: 10/03/2024; Ngày nhận bản sửa: 10/4/2024; Ngày duyệt đăng: 20/4/2024)

complexes resulted in high sensitivity rates to itraconazole and griseofulvin, while fluconazole was resistant to most strains. We noted the significantly lower IZD of the *T. mentagrophytes* complex compared to the *T. rubrum* complex ($p < 0.05$). Conclusion: itraconazole and griseofulvin are sensitive to *Trichophyton* spp.; there are significant differences in IZD between *T. rubrum* complex and *T. mentagrophytes* complex, suggesting distinct resistance mechanisms among complices.

Keywords: dermatophytes, *Trichophyton*, antifungal susceptibility testing

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh vi nấm ngoài da là bệnh da rất thường gặp tại các cơ sở khám bệnh da liễu [1]. Bệnh tuy không gây nguy hiểm đến tính mạng nhưng có thể ảnh hưởng rất nhiều đến chất lượng cuộc sống và mức độ tự tin trong giao tiếp xã hội của bệnh nhân [2]. Điều trị triệt để bệnh vi nấm ngoài da là điều kiện tiên quyết giúp cải thiện chất lượng cuộc sống của bệnh nhân.

Việc khảo sát kháng nấm đồ của vi nấm ngoài da đã thu hút khá nhiều sự quan tâm trong thời gian gần đây, khi mà hiện tượng vi nấm ngoài da không đáp ứng điều trị được báo cáo ngày càng nhiều trên thế giới. Các loại thuốc kháng nấm tại chỗ và toàn thân được lựa chọn trên cơ sở các chủng nấm và mức độ nghiêm trọng của bệnh nhân. Thuốc kháng nấm có thể hoạt động theo hai cơ chế là tiêu diệt trực tiếp tế bào nấm hoặc ngăn chặn tế bào nấm phát triển. Bằng cách nhắm vào các cấu trúc cần thiết trong tế bào nấm nhưng không cần thiết trong tế bào con người, các thuốc chống nấm giúp chống lại nhiễm nấm mà không làm ảnh hưởng đến tế bào của cơ thể bệnh nhân [3]. Tuy nhiên, theo số lượng ngày càng tăng của các loại thuốc mới, hiện tượng đề kháng thuốc cũng ngày càng gia tăng trên thế giới; đây là kết quả của hiện tượng chọn lọc ở các sinh vật [4].

Một trong những kỹ thuật khảo sát kháng nấm đồ phổ biến hiện nay chính là kỹ thuật đĩa khuếch tán trên thạch; đây là kỹ thuật đơn giản, dễ thực hiện và dễ lý giải kết quả. Trong nghiên cứu của Tăng Tuấn Hải, hầu như các chủng vi nấm ngoài da đều nhạy với thuốc kháng nấm itraconazole (100%) và griseofulvin (98%). Tuy nhiên, tỷ lệ vi nấm ngoài da nhạy với ketoconazole khá thấp (52.9%) và đối với fluconazole, gần như toàn bộ các vi nấm ngoài da đều biểu hiện đề kháng [5]. Việc khảo sát kháng nấm đồ của vi nấm ngoài da nên được thực hiện thường xuyên hơn bao giờ hết, vì các chủng vi nấm sẽ dần thích nghi với sự hiện diện của thuốc kháng nấm. Như vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm xác định đặc điểm kháng nấm đồ của phức bộ *Trichophyton rubrum* (*T. rubrum*) và *Trichophyton mentagrophytes* (*T. mentagrophytes*) đối với itraconazole, fluconazole và griseofulvin, qua đó làm cơ sở cho các nghiên cứu sâu hơn về cơ chế đề kháng thuốc của vi nấm ở mức độ phân tử.

2. PHƯƠNG PHÁP VÀ VẬT LIỆU NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các mẫu vi nấm ngoài da được lưu trữ tại Bộ môn Vi sinh học – Ký sinh học, thuộc Khoa Y – Đại học Quốc gia Tp. HCM.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Thực nghiệm trong phòng thí nghiệm có so sánh giữa hai nhóm.

2.3. Cỡ mẫu nghiên cứu: 129 mẫu vi nấm ngoài da được lưu trữ tại Bộ môn Vi sinh học – Ký sinh học, thuộc Khoa Y - Đại học Quốc gia TP. HCM.

2.4. Kỹ thuật chọn mẫu

Chọn mẫu ngẫu nhiên đơn.

Cách tiến hành:

- Dựa theo danh sách loài vi nấm được lưu trữ theo trình tự được lưu trong cơ sở dữ liệu.
- Đánh số các vi nấm từ 1 đến 438.
- Chọn 129 mẫu ngẫu nhiên bằng Excel.

2.5. Kỹ thuật và tiêu chuẩn sử dụng trong nghiên cứu

- Điều kiện lưu trữ các mẫu vi nấm ngoài da:
 - + Các mẫu vi nấm ngoài da được lưu trữ trong ống cryotube chứa dung dịch glycerol 50% và bảo quản ở nhiệt độ âm 20 °C;
 - + Khi thao tác, làm mát ống trữ chủng ở 4 °C trong 20 phút, sau đó rã đông ở nhiệt độ phòng trong 20 phút.
- Cấy phân lập các mẫu lưu trữ trên môi trường thạch Sabouraud đường (nhiệt độ 25 – 28 °C; thời gian 5 – 7 ngày). Quan sát hình thể vi nấm dưới kính hiển vi quang học: mô tả đặc điểm đại thể và vi thể, đối chiếu với kết quả lưu trữ của ống.
- Tạo huyền phù bào tử vi nấm [6]:
 - + Sử dụng 5ml dung dịch Tween 20%, trải lên đĩa cấy vi nấm ngoài da.
 - + Phết nhẹ nhàng lên bề mặt khúm nấm bằng tăm bông vô trùng.
 - + Đếm số lượng bào tử trong dung dịch bằng buồng đếm, đảm bảo mật độ $10^6 - 5.10^6$ bào tử/mL.
- Thực hiện kháng nấm đồ:
 - + Trãi đều 1ml huyền phù bào tử lên đĩa thạch Mueller – Hinton (MHA) ở nhiệt độ 25 – 28 °C; thời gian 5 – 7 ngày.
 - + Đặt đĩa kháng nấm lên đĩa thạch: itraconazole 8 µg (ITC), fluconazole 25 µg (FLC) và griseofulvin 10µg (GRI).
 - + Quan sát và đo đường kính vòng kháng nấm ở thời điểm ngày thứ 5 bằng thước kẹp.
- Diễn giải kết quả: kết quả kháng nấm đồ được xác định dựa vào đường kính vòng kháng nấm như sau [7]:

Bảng 1. Ngưỡng cắt đường kính vòng kháng nấm

Thuốc kháng nấm	Nhạy (S)	Trung gian (I)	Kháng (R)
Itraconazole 8µg	≥ 15mm	10 – 14mm	≤ 9mm
Fluconazole 25µg	≥ 22mm	21 – 15mm	≤ 14mm
Griseofulvin 10µg	≥ 10mm	-	0

2.6. Phương pháp xử lý số liệu

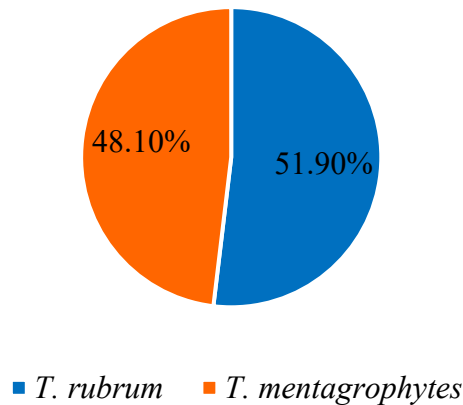
Nhập liệu bằng Excel và xử lý số liệu bằng phần mềm IBM SPSS Statistic 25. Trình bày biến định tính dưới dạng tần số (n) và tỷ lệ (%); biến định tính dưới dạng trung vị (khoảng tứ phân vị). Kiểm tra sự khác biệt giữa hai biến định lượng bằng kiểm định Mann – Whitney U; kiểm tra mối liên quan giữa hai biến định tính bằng kiểm định chính xác Fisher. Ý nghĩa thống kê được xác lập khi $p < 0.05$.

2.7. Đạo đức trong nghiên cứu

Được chấp thuận bởi Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học, Trường Đại học Quốc Tế Hồng Bàng theo quyết định số 70/PCT-HĐĐĐ ngày 6 tháng 3 năm 2023.

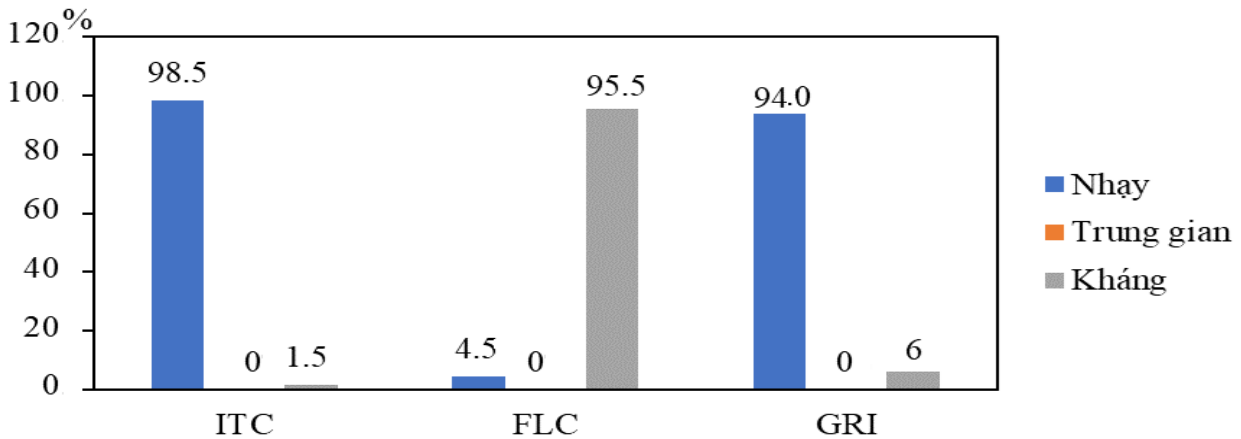
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đặc điểm của mẫu nghiên cứu được mô tả như sau:



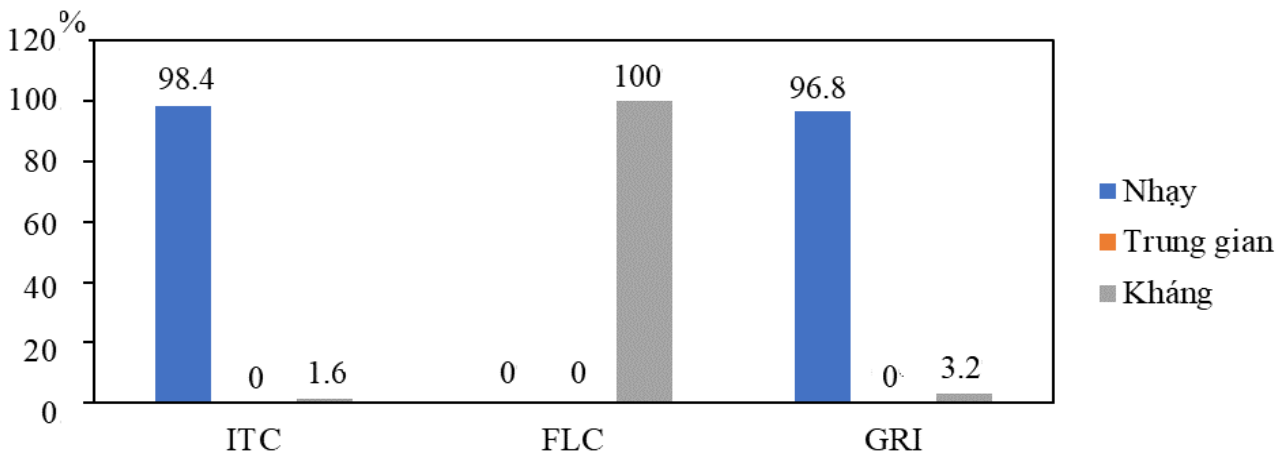
Hình 1. Phân bố các chủng vi nấm ngoài da lưu trữ (n = 129)

Nhận xét: Trong các chủng vi nấm ngoài da phân lập được thì phức bộ *T. rubrum* chiếm tỉ lệ cao nhất là 51.9%.



Hình 2. Đặc điểm kháng nấm đồ của *T. rubrum* đối với itraconazole, fluconazole và griseofulvin

Nhận xét: Trong phức bộ *T. rubrum*, thuốc có tỷ lệ nhạy cao nhất là itraconazol 98.5%, kế đến là griseofulvin 94%. Tỷ lệ kháng cao nhất là fluconazole 95.5%.



Hình 3. Đặc điểm kháng nấm đồ của *T. mentagrophytes* đối với itraconazol, fluconazole và griseofulvin

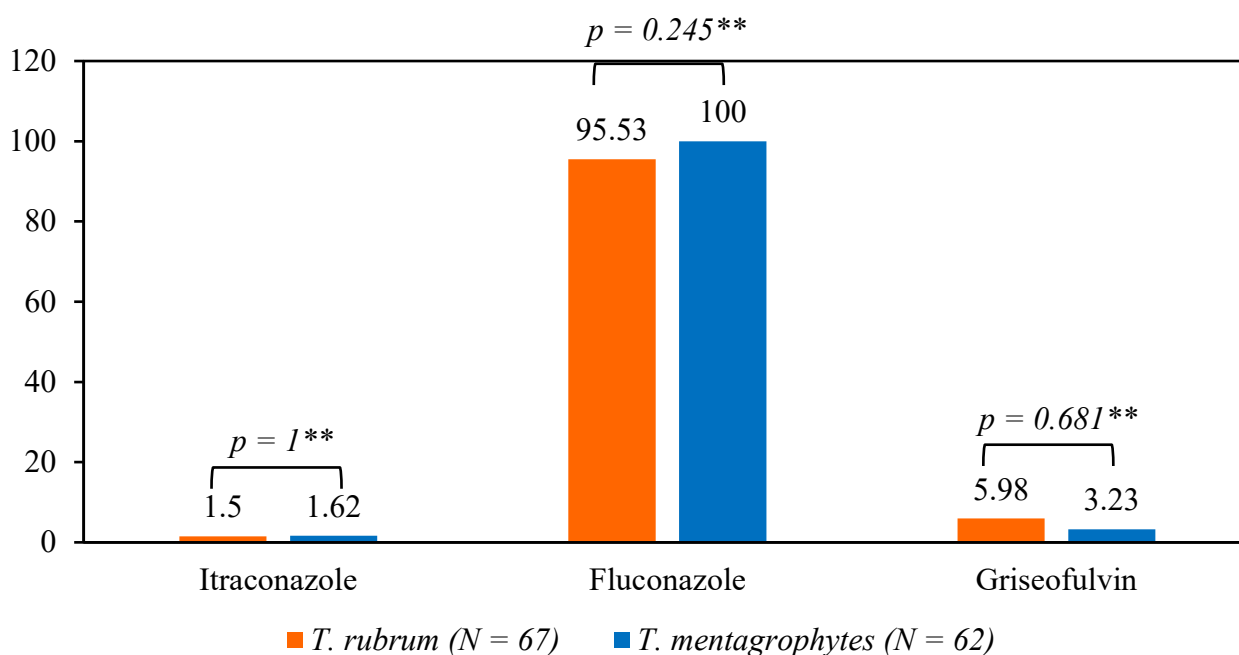
Nhận xét: Trong phức bộ *T. mentagrophytes* tỷ lệ nhạy cao nhất là itraconazol 98.4%, kế đến là griseofulvin 96.8%. Toàn bộ các chủng *T. mentagrophytes* đều kháng fluconazol 100%.

Bảng 2. So sánh đường kính kháng nấm giữa phức bộ *T. rubrum* và *T. mentagrophytes*

Thuốc kháng nấm	<i>T. rubrum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	p †
Itraconazole 8µg (mm)	40 (35 - 45)	36 (32 - 38)	0.001
Fluconazole 25µg (mm)	0	0	0.492
Griseofulvin 10µg (mm)	30 (25 - 34)	27 (25 - 30)	0.032

† Kiểm định Mann-Whitney U (Phần trong ngoặc là đơn vị của biến số: (mm))

Nhận xét: Kích thước đường kính kháng nấm của itraconazole đối với *T. rubrum* cao hơn *T. mentagrophytes*, tương tự kích thước đường kính kháng nấm của griseofulvin đối với *T. rubrum* cao hơn *T. mentagrophytes*.



Hình 4. Đặc điểm đề kháng của ba thuốc kháng nấm giữa phức bộ *T. rubrum* và *T. mentagrophytes*

Nhận xét: Tỷ lệ đề kháng các thuốc kháng nấm giữa hai phức bộ *T. rubrum* và *T. mentagrophytes* khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0.05$).

4. BÀN LUẬN

Trong số các mẫu vi nấm ngoài da được nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy tỷ lệ phức bộ *T. rubrum* cao hơn so với *T. mentagrophytes*, dù không quá chênh lệch. Nghiên cứu này được tiến hành *in-vitro*, sử dụng các mẫu vi nấm ngoài da lựa chọn ngẫu nhiên từ danh sách của Bộ môn Vi sinh – Ký sinh học thuộc Khoa Y – Đại học Quốc gia Tp. HCM. Phương pháp chọn mẫu ngẫu nhiên cũng phần nào thể hiện được sự phân bố của các vi nấm ngoài da: tỷ lệ *T. rubrum* thường cao nhất, tương tự một số nghiên cứu tại Việt Nam [5, 8].

Đối với phức bộ *T. rubrum*, chúng tôi nhận thấy các vi nấm này có tỷ lệ nhạy rất cao đối với itraconazole và griseofulvin, trong khi đối với fluconazole hầu như tất cả vi nấm biểu hiện đề kháng (95.5%). Kết quả ghi nhận tương tự đối với phức bộ *T. mentagrophytes* (Bảng 3). Nghiên cứu của Tăng Tuấn Hải cũng nhận thấy itraconazole và griseofulvin có tỷ lệ nhạy rất cao với vi nấm ngoài da, trong khi đối với fluconazole, chúng lại biểu hiện đề kháng [5]. Kết quả này cũng là một trong những cơ sở giúp các phác đồ điều trị nấm da đưa itraconazole và griseofulvin trở thành các thuốc đầu tay [9, 10]. Đối với fluconazole, thuốc này vẫn được sử dụng điều trị (dù không thường xuyên) do ít độc tính và có khả năng tồn lưu kéo dài trong mô keratin, nhất là mô móng [11]; điều này dẫn đến các phác đồ sử dụng fluconazole ngắt quãng trong điều trị nấm móng [12, 13]. Cho đến hiện tại, mỗi

tương quan giữa *in-vivo* và *in-vitro* của vi nấm ngoài da với thuốc kháng nấm vẫn còn là một ẩn số, do rằng phương pháp chuẩn khảo sát kháng nấm đồ vẫn đang chờ chuẩn hoá từ của Viện Tiêu chuẩn Lâm sàng và Thí nghiệm (CLSI) [14].

Khi so sánh giá trị đường kính kháng nấm giữa phức bộ *T. rubrum* và phức bộ *T. mentagrophytes*, chúng tôi nhận thấy có sự khác biệt đáng kể giữa hai nhóm: đường kính kháng nấm của itraconazole và griseofulvin cao hơn đáng kể ở phức bộ *T. rubrum* so với phức bộ *T. mentagrophytes* ($p < 0.05$). Điều này phần nào cho thấy các vi nấm phức bộ *T. rubrum* biểu hiện nhạy thuốc kháng nấm hơn nhóm *T. mentagrophytes*. Các vi nấm thuộc phức bộ *T. mentagrophytes* gồm nhiều loài đa dạng, có thể bao gồm một số chủng kháng thuốc đang được báo cáo trên thế giới như *T. mentagrophytes* típ VIII hoặc *T. interdigitale* [15].

Khi so sánh đặc điểm đề kháng thuốc, chúng tôi nhận thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ đề kháng thuốc giữa hai phức bộ vi nấm *T. rubrum* và *T. mentagrophytes* ($p > 0.05$). Kết quả này cho thấy các vi nấm *Trichophyton* spp. có thể giống nhau về cơ chế đề kháng các thuốc kháng nấm. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy sự gia tăng biểu hiện hoạt động bơm đẩy thuốc qua màng có thể là nguyên nhân chính dẫn đến tình trạng đề kháng thuốc của vi nấm. Cần có nhiều nghiên cứu về hệ gen của vi nấm ngoài da để xác minh cơ chế chính gây đề kháng thuốc, từ đó làm cơ sở phát triển các hoạt chất kháng nấm mới.

Tuy nhiên, do hạn chế của nghiên cứu là không thực hiện kỹ thuật sinh học phân tử để khẳng định loài vi nấm nên chúng tôi chưa thể phân tích sâu sự khác biệt về đặc điểm kháng nấm đồ giữa các loài trong cùng phức bộ. Đối với vi nấm *T. rubrum*, do đặc tính ưa người nên vi nấm có thể gây các sang thương da lan rộng, dẫn đến chỉ định dùng thuốc kháng nấm toàn thân đủ liều lượng và phác đồ. Kết quả dẫn đến ít chọn lọc các chủng kháng thuốc so với khi điều trị thuốc bôi (khó quản lý việc tuân thủ). Trong khi đó, *T. mentagrophytes* bao gồm các loài ưa thú và ưa người nên kết quả trên chưa thể biểu thị chi tiết đặc điểm đề kháng thuốc giữa các loài. Đặc biệt, các nghiên cứu kế tiếp cần so sánh phương pháp đĩa khuếch tán với kỹ thuật vi pha loãng trong canh cấy nhằm kiểm định giá trị của phương pháp đĩa khuếch tán trong lâm sàng.

5. KẾT LUẬN

Thuốc itraconazole và griseofulvin có độ nhạy cao với các vi nấm *Trichophyton* spp. Sự khác biệt về đường kính kháng nấm gợi ý phức bộ *T. mentagrophytes* dường như biểu hiện đề kháng cao hơn. Tuy nhiên, hai phức bộ không khác biệt về tỷ lệ đề kháng cho thấy các chủng vi nấm nghiên cứu có thể chia sẻ cơ chế đề kháng giống nhau.

6. KIẾN NGHỊ

Nghiên cứu ghi nhận tỷ lệ nhạy thuốc kháng nấm cao của các vi nấm *Trichophyton* spp. đối với itraconazole và griseofulvin; trong khi đó, fluconazole lại biểu hiện đề kháng với hầu hết vi nấm. Kết quả này là bước đầu trong việc xác định tương quan giữa *in-vivo* và *in-vitro* trong điều trị bệnh vi nấm ngoài da. Các nghiên cứu trong tương lai cần chú trọng nhiều hơn về cơ chế đề kháng thuốc ở mức độ sinh học phân tử.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ của ThS.BS. Nhữ Thị Hoa, Phó Trưởng Phân môn Vi sinh – Ký sinh học của Khoa Y – Đại học Quốc gia và các thành viên trong nhóm nghiên cứu của cô đã hỗ trợ kết quả nghiên cứu của bài báo này. Đồng thời, nhóm nghiên cứu biết ơn sự giúp đỡ của Phòng khám Đa khoa Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch về cơ sở vật chất của nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Đ. Hữu Nghị và c.s., “Mô hình bệnh da thường gặp của bệnh nhân tại 10 tỉnh trong đợt điều tra dịch tễ năm 2022 của Bệnh viện Da Liễu Trung Ương”, *Tạp chí Da liễu học Việt Nam*, số 40. 2023.

doi: 10.56320/tcdlhn.40.97.

- [2] T. Narang and et al., “Quality of life and psychological morbidity in patients with superficial cutaneous dermatophytosis”, *Mycoses*, vol 62. số p.h 8. tr 680–685. 2019. doi: 10.1111/myc.12930.
- [3] B. H. Oh and K. J. Ahn, “Drug Therapy of Dermatophytosis”, *J. Korean Med. Ass.*, vol 52. no 11. pp. 1109–1114. 2009. doi: 10.5124/jkma.2009.52.11.1109.
- [4] C. Kruithoff, A. Gamal, T. S. McCormick, và M. A. Ghannoum, “Dermatophyte Infections Worldwide: Increase in Incidence and Associated Antifungal Resistance”, *Life*, vol 14. no 1. 2024. doi: 10.3390/life14010001.
- [5] T. H. Tăng, P. M. S. Trần, và Q. Đ. Ngô, “Các chủng vi nấm ngoài da phân lập được và độ nhạy cảm với các thuốc kháng nấm hiện nay trên bệnh nhân đến khám tại Bệnh viện Da Liễu Thành phố Hồ Chí Minh năm 2021”, *Tạp chí Y học Việt Nam*, tập 508. số 2. 2021. doi: 10.51298/vmj.v508i2.1672.
- [6] E. I. Nweze, P. K. Mukherjee, and M. A. Ghannoum, “Agar-Based Disk Diffusion Assay for Susceptibility Testing of Dermatophytes”, *J. Clin. Microbiol.*, vol 48. no 10. pp. 3750–3752. 2010. doi: 10.1128/JCM.01357-10.
- [7] K. Pakshir, L. Bahaedinie, Z. Rezaei, M. Sodaifi, và K. Zomorodian, “In vitro activity of six antifungal drugs against clinically important dermatophytes”, *Jundishapur J. Microbiol.*, vol 2. no 4. 2009.
- [8] T. H. Mạnh, H. V. Quang, S. T. P. Mạnh, và N. Q. Minh, “Một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, dịch tễ trên bệnh nhân nhiễm nấm da tại Bệnh viện Da Liễu TP. HCM”, *Tạp chí Y học Việt Nam*, tập 23. số 3. tr 194–199. 2019.
- [9] Bộ Y tế, *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị các bệnh Da Liễu*, vol số 75/QĐ-BYT. 2015. tr 330 trang.
- [10] Bệnh viện Da Liễu Thành phố Hồ Chí Minh, *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị*, 2017.
- [11] J. Faergemann, “Pharmacokinetics of fluconazole in skin and nails”, *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol 40. no 6. pp. S14-20. 1999. doi: 10.1016/s0190-9622(99)70393-2.
- [12] A. Hryniewicz-Gwóźdź, E. Plomer-Niezgoda, K. Kalinowska, A. Czarnecka, J. Maj, và T. Jagielski, “Efficacy of fluconazole at a 400 mg weekly dose for the treatment of onychomycosis”, *Acta Derm. Venereol.*, vol 95. no 2. pp. 251–252. 2015. doi: 10.2340/00015555-1913.
- [13] R. C. Savin and et al., “Pharmacokinetics of three once-weekly dosages of fluconazole (150. 300. or 450 mg) in distal subungual onychomycosis of the fingernail”, *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol 38. no 6. pp. S110-116. 1998. doi: 10.1016/s0190-9622(98)70494-3.
- [14] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi*, Wayne, Pennsylvania 19087 USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.
- [15] S. Uhrlab and et al., “Trichophyton indotineae - An Emerging Pathogen Causing Recalcitrant Dermatophytoses in India and Worldwide - A Multidimensional Perspective”, *J. Fungi*, vol 8. no 7. 2022. doi: 10.3390/jof8070757.