

DERMATOPHYTES İZOLASYONU VE ÇABUK TANINMASINDA KULLANILAN YENİ BİR BESİYERİ

Rüknettin ÖĞÜTMAN (x)

Ö Z E T

Deri hastalıkları klinik ve polikliniklerine baş vuran hastalardan saç, deri ve tırnaktan alınan Materialden Dermatophytes aranırken zaman kazandırıcı bir yöntem aranmış ve DTM (Dermatophytes Test Medium) diye adlandırılan bir besiyeri geliştirilmiştir. Bu ufak çalışmanın ilk bölümünde bu besiyerinde bilinen dermatophytes'ler ile bilinen diğer grup funguslar üretilip karşılaştırılmış ve dermatophyterin daha çabuk ürediği ve sür'atle renk değişimine sebep olduğu gözlenip faydalı olduğu kanısına varılmıştır.

GİRİŞ

Son yıllarda bakteriyel hastalıkların antibiyotiklerle daha kolay kontrol altına alınabilmesi mikotik infeksiyonların ve bu arada deri ve anneksleri mikotik infeksiyonlarının daha ilgiyi çeker hâl almasına yol açmıştır. Bu nedenle gerek deri hastalıkları polikliniklerine baş vuran veya kliniklerine yatırılanlarda fungal deri infeksiyonların sür'atli tanınma yolları aranmıştır. Bilindiği gibi dermatophytes'ler deri hastalıkları içinde önemli bir yer işgal etmekte ve kaba- ca deri hastalıklarının % 10 unun funguslarla meydana geldiği ve deri hastalıkları polikliniklerine başvuran hastalık-

ların ise % 30 unda fungus infeksiyonu tesbit edilmektedir. Deri ve annekslerine yerleşen dermatophytes'ler izole edildikleri yerlere bağlı olarak:

1- Trichophyton (Saç, deri ve tırnakta)

2- Microsporum (Saç ve deride)

3- Epidermophyton (Deri ve tırnaktan) diye ayrılmaktadır.

Bunların dışında deriye yerleşerek infeksiyon yapan Candida türleri, Sporotrichum'lar, Blastomyces'ler, Geotrichum'lar, Nocardia'lar, Streptomyces'ler söylenebilir. Günlük pratikte sonuncu-

(x)Prof. Dr.-Atatürk Üniv. Tıp Fak. Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon hastalıkları Kürsü Yöneticisi- Misafir Profesör- Jefferson Medical College Dept. of Microbiology - Philadelphia, PA.-U.S.A.

ların infeksiyonlarını dermatophyte infeksiyonlarından ayırmak gerekmektedir. zirâ tedavi ona göre düzenlenmektedir. Bilindiği gibi dermatophyte infeksiyonlarında ayırım mikroskopik ve kültürel metodlara dayanmakta ve bilhassa kültürlerin tanım ve tefsiri ileri derecede bilgi ve tecrübe istemektedir. Hasta sayısı yüklü olan poliklinikler saha taramalarında, yatılı okul, öğrençi yurtları ve askeri birliklerde yapılan araştırmalarda kullanılmak üzere kolayca tefsir edilebilecek bir metod ve besiyeri geliştirmeğe çalışılmış ve bu nedenle Blank ve Rebell (1) iki şişe tekniğini geliştirmişlerdi ki bunda griseofulvinli besiyeri ile griseofulvinsiz besiyeri ayrı ayrı şişelerde kullanılmış ve böylece duyarlı dermatophyte'lerle duyarsız saprofitler ayrılmağa çalışılmıştır. Son yıllarda ise Taplin, Zaias, Rebell ve Blankten (2) kurulu bir ekip küf inhibitörü ile antibakteriyel iki antibiyotik ve bir pH. indikatörü taşıyan yeni ve tek tüple çalışan bir besiyeri geliştirmiş ve buna Dermatopytes Test Medium (DTM) adını vermişlerdir.

Bu besiyerinde üreyen dermatophyte'ler besiyerinin rengini sarıdan kırmızıya çevirerek kolayca tanınmasını sağlamaktadırlar.

GAYE :

Bu çalışmanın iki basamakta yürütülmesi planlanmıştır. Birincisinde daha önce uygulamaları yapılmış olan DTM besiyerinin çeşitli dermatophyt'leri üretme ve renk değişikliği olasılığı hızı ile deride yerleşebilecek diğer fungusların DTM besiyerinde üreme hızı ve renk değiştirme olanakları bilinç n fungus kültür suşları ile karşılaştırmalı denenmiştir. (Bu çalışma A.B.D.de Philadelphia şeh-

rindeki Jefferson Medical College'in Microbiology departmanında Mycology seksiyonundaki stok suşlardan faydalanılarak yürütülmüştür).

İkinci basamak da ise deri, saç ve tırnaktan alınan materyelin karşılaştırmalı uygulanması yapılacaktır.

MATERYEL VE METOD :

Burada karşılaştırma yapmak için aşağıdaki besiyerleri seçilmiştir:

I- Vidalı kapaklı 10 cm. lik tüplerdeki besiyerleri :

- a- Sabouraud dextrose agar
- b- Potato dextrose agar
- c- Dermatophytes Test Medium (DTM)

Bunlardan ilk ikisinin klâsik kitaplarda terkihi bulunduğundan sadece üçüncünün terkihi verilecektir. DTM besiyeri:

- Phytone, 10 gr.
- Dextrose, 10 gr.
- Agar agar, 20 gr.
- Distile su, 1000 ml.
- Phenol red sol., 40 ml.
- 0,8 M HCl, 6 ml.
- Cycloheximide, 0,5 gr.
- Gentamycin sulfate, 100 u/ml.
- Chlortetracycline HCl., 100 u/ml.

DTM'nin hazırlanışı :

- 1- Phytone'u, dextrose'u ve agar'ı 1000 ml. distile suya koyup agar eriyinceye kadar kaynatın,
- 2- 40 ml. lik phenol red solüsyonunu karıştırarak ekleyin (Phenol-red solüsyonu için : 0,5 gr. Difco Bacto-Phenol red'i 15 ml. 0,1-N NaOH ile

karıştırıp distile su ile 100 ml. ye tamamlanır).

- 3- Besiyerinin pH. sınını, ona 6 ml. 0,8 M HCl. ekleyip karıştırarak ayarlayın,
- 4- 0,5 gr. Cycloheximide'i 2 ml. acetone'da eritip sıcak besiyerine karıştırarak ekleyin,
- 5- Gentamycinsulfate'ı 2ml. distile suda eritip karıştırarak besiyerine ekleyin,
- 6- Besiyerini 1,5 atmosfer basınçta 10 dakika otoklavda tutup sonra yaklaşık olarak 47 C ye soğutun,
- 7- Chlortetracycline'i 25 ml. distile su ile steril erlenmayerde eritip karıştırarak besiyerine ekleyin,
- 8- 5 ml. lik miktarlarda 10 cm. lik vidalı tüplere dağıtıp yatık olarak soğumaya terkedin.
- 9- Kullanıncıya kadar buzdolabında saklayın (+4°C).

II- Ekim öze ve iğneleri,

III- Likid parafinde saklanmakta olan bilinen Dermatophytes ve listedeki diğer fungus suşları:

a- Dermatophytes :

- Microsporium gypseum
- Misrosporium fulvum
- Microsporium canis
- Microsporium canis (ayrı suş)
- Microsporium audouinii
- Microsporium nanum
- Microsporium nanum (ayrı suş)
- Epidermophyton floccosum
- Trichophyton verrucosum
- Trichophyton schoenleinii
- Trichophyton rubrum

- Trichophyton mentagrophytes
- Trichophyton mentagrophytes (ayrı suş)
- Trichophyton megninii
- Trichophyton megninii (ayrı suş)
- Trichophyton geallinae
- Trichophyton verrucosum
- Trichophyton tonsurans
- Trichophyton tonsurans (ayrı suş)
- Trichophyton tonsurans (ayrı suş)

b- Diğer Suşlar

- Aspergillus fumigatus
- Aspergillus niger
- Blastomyces dermatitis
- Candida albicans
- Candida krusei
- Candida tropicalis
- Candida pseudotropicalis
- Cryptococcus neoformans
- Geotrichum candidum
- Saccharomyces cerviciae
- Streptomyces somaliensis

METOD :

a- İlk önce yukarıda listede isimleri bildirilen ve likid parafin altında saklanan stok suşlardan Sabouraud besiyerine ekim yapılarak üremeleri sağlandı,

b- İkinci olarak Sabouraud besiyeri kadar üreme gösteren suşlardan yukarıda bildirilen üç besiyerine aynı günde ekim yapılarak oda derecesinde (19°-21°-C) gözleme alındı. Burada her gün kültürler kontrol edilerek bu üç çeşit besi yerinde üremenin başladığı gün tesbit edildi ve ayrıca DTM besi yerinde bir renk değişikliği olup olmadığı gözlemlendi.

BULGULAR:

a- Bilinen dermatophytes suşlarının bildirilen üç besi yerindeki üreme hızları ile DTM besiyerindeki renk değişikliği günleri Tablo 1 de gösterilmiştir.

Tablonun incelenmesinden anlaşılacağı gibi ekimden 24 saat sonra hiç bir tüpte üreme görülmemiş 48 saat sonra ise sabouraud agarında *M. audouinii*, *T. rubrum* ve *M. canis*'in bir suşu müstesna hepsi; patatesli dekstroroz agarında *M. gypseum*, *M. nanum*, *T. gallinae* ve *T. megninii* hariç hepsi üreme göstermiş; DTM de ise *M. audouinii*, *E. floccosum*, *T. megninii* hariç hepsi üremiş ve besiyerinin rengini sarıdan aşikâr kırmızı rengine dönüştürmüştür. 72 saat sonra bütün tüplerde üreme görülmüş ve 96 saat sonra ise ise her üç besiyeninde üremeyen hiç bir suş kalmamış ve bütün suşlar kırmızı renge çevirmiştir. Karşılıklı yapılan kıyaslamalarda suşların DTM besiyeri üzerinde çok daha bol şekilde ürediği saptanmıştır.

b- Diğer suşlarda da aynı şekilde dermatophytes'lerde olduğu gibi hareket edilmiş önce stoktan sabouraud agarına ekim yapılmış ve üreme sağlandıktan sonra üç besiyerine ayrı ayrı ekime geçilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo - 2 de gösterilmiştir.

Tablonun incelenmesinden anlaşılacağı üzere dermatophytes dışındaki bir takım fungusların seçilen üç değişik besiyeri üzerindeki üreme hızları biraz değişiklik göstermektedir. *Nocardia* türleri hariç seçilen fungusların hemen hepsi 3 ilâ 4 gün içinde her üç besiyerinde de üreme göstermiş ve fakat DTM üzerindeki üremenin, diğer iki besiyeri

ile kıyaslandığında, çok yavaş olduğu dikkati çekmiştir. Diğer taraftan DTM üzerindeki renk değişikliği incelendiğinde hiç bir kırmızılendirme görülmemiş ve fakat sekizinci günden sonra *Blasotomyces* tüpünde, 10 uncu günden sonra, *Geotricum candidum* tüpünde ve 40 inci günden sonra ise *Candida pseudotropicalis* ve *Saccharomyces cervisiae* tüplerinde kırmızılaştırma meydana geldiği görülmüştür.

TARTIŞMA :

Burada üzerinde çalışma yapılan besiyeri geniş karşılaştırmalı çalışmalara konu teşkil etmiş bir besiyeridir (1) Bizim sınırlı çalışmalarımızdaki ilk basamak bildirilen besiyerini bilinen funguslarda kullanarak karşılaştırma yapmaktı. Bu besiyerinde seçilen unsurlar daha önceki çalışmalara dayanmakta ve dermatophytes'lerin çabuk tanınmasına yardımcı olması düşünülerek seçilmiş bulunmaktadır.

Besiyerine eklenen antibiyotik ve kimyasal maddeler ise gerek bakteriyostatik ve gerekse fungal etkileri geniş çapta incelenmiş çeşitli maddeler arasından seçilmiş bulunmaktadır (4,5). Bu iş için denenmiş çeşitli madde ve antibiyotiklere ait liste ve terk nedenleri (Tablo - 3) de verilmiştir. Bu besiyerinin bütün özelliği bakterileri ve saprofit buluşları baskı altına alıp dermatophyte'lerin üremesini kolaylaştırmak ve onların alkali ürünleri ile besiyerindeki phenol red indikatörünün sarıdan kırmızıya dönüşmesi ile göze hitap eden bir sonuç sağlamasıdır. Eklenen antibiyotiklerden gentamycin hemen hemen bütün bakteri üremelerini durdurmuş ve fakat en konsantre halde bile *pseudomonas* üremesini ve besi-

yerini kırmızıya döndürmesini engelleyememiştir. Bunun üzerine denenen diğer ilâve antibiyotiklerden tetracycline en etkili olarak bulunmuştur.

İndikatör olarak phenol red'in seçilmesi sebebine gelince :

Bilindiği gibi dermatophytes'ler üredikleri yapma besiyelerinin pH. sını yükseltmektedirler (5). Bu değişimi göstermek üzere aşağıdaki sıralanan indikatörler kullanılabilir ve fakat yanlarında açıklanan mahsurlarından sonra en tercih edileni olarak phenol red seçilmiştir.

a- Ink Blue : Bu indikatör çok dar bir pH. alanında hassas olması nedeni ile fazla pratik bulunmamıştır, zira bazı saprofitler kolayca renk değişikliği meydana getirebilmektedir.

b- Brom-tymol Blue: Besiyerindeki pH. değişikliğini göstermek üzere faydalı ise de yapılan denemelerde dermatophytes'lerin üremesini hafif derecede inhibe ettiği gözlenmiştir.

Bu nedenle phenol red tercih edilmiş bulunmaktadır. Burada iyi sonuç alınması için ekilen besiyelerinin vidalı kapaklarının gevşek kapatılması gerekmektedir. Zira üreme ve renk değişimi için yeteri kadar oksijenizasyona gerek bulunmaktadır.

Şunu hemen belirtmek gerekirken, besiyelerinde alkali teşkili ve rengin kırmızıya dönüşürülmesi sadece dermatophytes'lere has bir özellik değildir. Bazı saprofit funguslar ve bakteriler de besiyerinin rengini kırmızıya çevirebilmektedirler. Yalnız tecrübeli bir gözlemci şu hususlara dikkat ettiği takdirde kolaylıkla yanılgılar önlenebilir:

a- Saprofit funguslar besiyeri pH. sını dermatophytes'lerinki kadar hızlı değiştiremediklerinden bir mesele teşkil etmezler,

b- Saprofit fungusların çoğu ürediklerinden yeşilimsi veya siyah tüylümsü veya köpük görünümünde gelişme gösterdiklerinden kaba bir bakışla dermatophytes'lerden ayrılabilirler,

c- Bakterilerin koloni teşkili şekli ise kolaylıkla dermatophytes'leri miçelial görünümünden ayırdığı nedenle bir problem olmazlar. Sadece eğer besiyerinin rengini değiştiren bir bakteri ile miçelyel fungusun müşterek üremesi varsa yanıltıcı bir durum yaratabilir ki bu da % 1-1,5 den fazla bir oran taşımamaktadır.

Bu duruma bilhassa sulardan menşe alan bazı pseudomonas suşları sebep olmaktadır.

Şunu unutmamak gerekir ki, hazırlanan besiyerinde üreyebilecek saprofit funguslar şu üç koşulu yenebilecek durumda olmalıdırlar :

- 1- Ürerken pH. 5,5 ğa dayanabilme
- 2- Alkali teşkil edebilmeli,
- 3- Cycloheximide'e dirençli olmalı, Bakterilerin üreyebilmesi için ise :
 - 1- pH. 5,5 da üreyebilmeli,
 - 2- Gentamycin'e dirençli olmalı,
 - 3- Clortetrazycline'e dirençli olmalı
 - 4- Alkali meydana getirebilmeli.

Denemelerde kullanılan besiyeri dermatophytes'lerin üreme hızını değiştirmemekte ve hattâ bazı hallerde diğer kontrol besiyelerine kıyasla daha çabuk üreme sağlanmaktadır. Dermatophytes

dışındaki diğer patojen fungusların üremesi ile kıyaslandığında seçilen fungusların DTM besiyerinde daha yavaş bir üreme gösterdikleri dikkati çekmiş bulunmakta ve bu durum Tablo-2 de gözlenmektedir.

Diğer taraftan dermatophytes'ler üremeye başladıkları 2 en çok 3

gün içinde ortamı alkalileştirmekle besiyerinin rengini kızartılmağa başlamakta ve bu renk kızarması her gün geçtikçe daha artıp koyulaşmaktadır. Bu durum Tablo-1 de gözlenmektedir. Halbuki dermeatophytes dışında seçilen diğer fungusların DTM besiyerinde üremelerine karşı besiyerini

TABLO: 1- ÇEŞİTLİ DERMATOPHYTES'LERİN ÜÇ BESİYERİNDETKİ ÜREME HIZLARI VE DTM'YE ETKİSİ

Fungusların Cinsleri	Ekim Günü	BESİYERLERİ			
		Ü r e m e G ü n ü			
		Sabouraud agar	Patates agar	D T M	D T M Kırmızı Renk
Microsporum gypseum	19/3/1975	12/3/1975	24/3/1975	21/3/1965	24/3/1975
Microsporum fulvum	19/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975
Microsporum canis	19/3/1975	23/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975
Microsporum canis (değişik suş)	19/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975
Microsporum audouinii	19/3/1975	24/3/1975	21/3/1975	24/3/1975	24/3/1975
Microsporum nanum	19/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1965	21/3/1975
Microsporum nanum (değişik suş)	19/3/1975	21/3/1975	24/3/1975	21/3/1975	21/3/1975
Epidermophyton floccosum	19/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	24/3/1975	24/3/1975
Trichophyton verrucosum	19/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975
Trichophyton verrucosum (değişik suş)	19/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975
Trichophyton schoenleinii	19/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975
Trichophyton rubrum	19/3/1975	24/3/1975	21/3/1975	24/3/1975	24/3/1975
Trichophyton mentagrophytes	19/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975
Trichopyton mentagrophytes (değişik suş)	19/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975
Trichophyton megninii	19/3/1975	21/3/1975	24/3/1975	21/3/1975	21/3/1975
Trichophyton megninii (değişik suş)	19/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	24/3/1975	24/3/1975
Trichophyton gallinae	19/3/1975	21/3/1975	24/3/1975	21/3/1975	21/3/1975
Trichophyton tohnsurans	19/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975
Trichophyton tonsurans (değişik suş)	19/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975	21/3/1975

alkalileştirerek renk kızartmasına sebep olmadıkları ancak bazı suşların (Blastomyces dermatitis) bir haftadan (Geotricum candidum) 10 günden sonra, Candida pseudotropicalis ile Sacchoromyces 30 günden sonra besiyerini hafifçe kızartmağa başlamışlardır ki tanı için kullanılan süreden çok uzun bir zamanı kapsamaktadır.

Bu duruma göre :

- Kullanılan DTM besiyeri dermatophytes'lerin çabuk üremesini sağladığı gibi 2-3 gün gibi kısa bir sürede renk değişikliği göstererek çabuk tanınıp ayrılmasını sağlamakta,
- Dermatophytes dışındaki funguslar aynı besiyerinde daha geç üremekte ve ancak bazı suşlar çok geç olarak renk değişikliğine sebep olmakta,
- Saprofit fungusların bu besiyerinde üreyip aldatıcı sonuç ver-

ebilmesi için pH 5,5 ға dayanıklıve cycloheximide dirençli olması gerekmektedir,

- Bakterilerin üreyip aldatıcı sonuç verebilmesi için pH. 5,5 da üreyebilmesi ve Gentamycin ve Clortetaracycline'e dirençli olması gerekmektedir.

Bu besiyeri kullanılırken şu hususları da akıldan çıkarmamak gerekir:

- Bu besiyeri pigment teşkilini gözleme için kullanılmaz, zira besiyeri çok koyu kırmızıya dönüşmektedir,
- DTM besiyeri dermatophytes'leri morfolojisini değiştirmemekte bu nedenle boya tekniği için kullanılabilir.,
- DTM dermatophytes'lere çabuk üreme sağlayıp, gösterdiği renk değişikliği ile pek tercübeli olmayan kimse-ler tarafından da kolayca kullanılabil-mekte,
- Ancak dermatophytae'leri kabaca ayırma yaramakta, dermatophyte tip-lerini ayırmağa yaramamaktadır.

TABLO : 2- ÇEŞİTLİ DİĞER FUNGUS'LARIN ÜÇ BESİYERDEKİ ÜREME HIZI VE DTM'YE ETKİSİ

Fungus Cinsi	Ekim Günü	BESİYERLERİ			
		Ü r e m e G ü n ü			
		Sabouraud agar	Patates agar	DTM D T M	DTM'de Kırmızı Renk
Aspergillus fumigatus	31/3/1975	2/4/1975	3/4/1975	3/4/1975	—
Aspergillus niger	31/3/1975	2/4/1975	3/4/1975	3/4/1975	—
Blastomyces dermatitis	31/3/1975	2/4/1975	2/4/1975	6/4/1975	8/4/1975→
Candida albicans	31/3/1975	2/4/1975	2/4/1975	2/4/1975	—
Candida krusei	31/3/1975	2/4/1975	2/4/1975	3/4/1975	—
Candida tropicalis	31/3/1975	2/4/1975	2/4/1975	3/4/1975	—
Candida pseudotropicalis	31/3/1975	3/4/1975	3/4/1975	3/34/1964	10/5/1975→
Cryptococcus neoformans	31/3/1975	3/4/1975	3/4/1975	3/4/1975	—
Geotricum candidum	31/3/1975	2/4/1975	2/4/1975	3/4/1975	10/4/1975→
Nocardia astroides	31/3/1975	10/4/1975	10/4/1975	12/4/1975	—
Nocardia brasiliensis	31/3/1975	2/4/1975	10/4/1975	12/4/1975	—
Sacchoromyces cervisiae	31/3/1975	3/4/1975	3/4/1975	8/4/1975	12/5/1975→

TABLO : 3- DENENEN BESİYERLERİNE EKLENMİŞ OLAN ANTİBAKTERİYEL MADDELERİN ETKİLERİ

Eklenen Madde	Terkediliş Sebebi
1- Aspirin	Antibateryel dozda dermatohphyte'leri inhibe ediyor
2- Chlorhexidine	Antibakteryel dozda dermatophyte'leri inhibe etti
3- Colistin sulfat	Gentanmycin'e üstünlüğü yok
4- Yüksek doz gentamycin	Bütün bakterileri elimine eden 2000 ug/ml. lik doz dermatophyte'leri de ihhibe etti
6- Lactic acid	HCl aside bir üstünlüğü yok
7- Nalidixic acid	Dermatophyte'leri inhibe etti
8- Novobiocin	Alkali yapan bakterileri inhibe edemedi
9- Phenyl ethylalcohol	Dermatophyte'leri inhibe etti
10- Sodium tellürite	Dermatophyte'leri inhibe edip morfolojisini deęiřtirdi
11- Vancomycin	Alkali yapan bakterileri inhibe edemedi

S U M M A R Y

A new medium for rapid isolation and identification of dermatophytes

A new medium named DTM (Dermatophytes Test Meridium) developed to facilitate the isolation of the dermatophytes from the clinical materials of skin scrapings, nails and hairs. In this small research the growth rate and the reddening of the color of this new medium by known dermatophytes and other fungi has been compared and found dependable.

L İ T E R A T Ü R

- 1- Blank, H., and Rebell, G.: Griseofulvin containing medium for simplified Diagnosis of dermatophytes, Arch. Derm. 92: 319-322 (Sept.) 1965.

- 2- Taplin, D., Zaias, N., Rebell, H.: Isolation and Recognition of Dermatophytes on a New Medium (DTM). Arc. Derm. 99:203-209, 1969.
- 3- Rebell, G., Taplin, D., Blank, H.: Dermatophytes, Recognition and identification. Dermatology foundation of Miami 1964.
- 4- Taplin, D.; The use of gentamycin in Mycology Media. J. Invest. Derm. 45: 549-550 (Dec.) 1965.
- 5- Stockdale, P. M.: Nutritional Requirements of the Dermatophytes. Biol. Rev. 28: 84-104, 1953.
- 6- Baxter, M., : The Use of Ink Blue in the identification of Dermatophytes. J. Invest. Derm, 44: 23-25 (Jan) 1965.