

PAS pozitif dermatofitozlarda klinik ve histopatolojik bulguların analizi*Analysis of clinical and histopathological findings of PAS positive dermatophytose cases*

Neşe Çallı Demirkan*, Billur Cosan Sarbay**, Sinem Korkmaz***, Şeniz Ergin****, Çağrı Ergin*****,
Berna Şanlı*****

* Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji AD, Denizli

** Denizli Devlet Hastanesi, Patoloji Kliniği, Denizli

*** Gümüşhane Devlet Hastanesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Kliniği, Gümüşhane

**** Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri Ve Zührevi Hastalıklar AD, Denizli

***** Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Denizli

Özet

Amaç: Genellikle dermatofitozlar rutin hayatta histopatolojik inceleme yapılmadan tanı almaktadır. Biyopside izlenen spongiotik veya psoriasiform dermatit bulguları dermatofitozlarda sık rastlanmakla birlikte, bu bulgular tanı için yeterli değildir. Çalışmamızın amacı dermatofitoz tanısına yardımcı olabilecek spesifik histopatolojik bulguları araştırmak ve Periyodik asit-Schiff [PAS] histokimyasal yönteminin tanısız değerini ortaya koymaktır.

Gereç ve yöntem: Bu çalışmada hematoksilen ve eozin [H&E], PAS boyama teknikleri ile dermatofitoz tanısı alan 19 hastanın boyalı preparatları ve klinik verileri tekrar değerlendirildi. Olguların klinik özellikleri, histomorfolojik ve histokimyasal bulguları, ön tanıları ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Histopatolojik ve PAS inceleme ile tanı alan olgularımızın %68.4'ünde, klinisyenin ön tanıları arasında fungal dermatit tanısı yoktu. PAS histokimyasal boyası ile endotriks tanısı alan biyopsi örneklerinin H&E boyalı kesitlerinde saptanan perifolikülit bulgusu istatistiksel olarak anlamlıydı. Ayrıca eşlik eden parakeratoz bulgusunun sıklığı da anlamlı bulundu.

Sonuç: Spongiotik veya psoriasiform dermatitlerde mantar ön tanısı olmasa da, deri biyopsilerinde rutin histokimyasal PAS boyaması mantar tanısında gereklidir. Ayrıca dermatofitozların bilinen tipik histopatolojik bulgularına ek olarak, parakeratoz ve endotriks varlığı ile birlikte perifolikülit bulgularının da tanıya yardımcı bulgular olabileceği akılda tutulmalıdır.

Pam Tıp Derg 2015;8(3):171-177

Anahtar sözcükler: Dermatofitoz, fungal infection, histopatoloji, PAS.

Abstract

Purpose: In most cases, dermatophytosis is diagnosed routinely without histopathological examination. Spongiotic or psoriasiform features are frequently found in fungal dermatoses but these histopathological findings are not proficient for diagnosis. The aim of the study is to identify characteristic histopathological clues and to emphasize the diagnostic significance of dermatophytosis stained with histochemical method of Periodic acid-Schiff [PAS].

Materials and methods: In this study; PAS and Hematoxylin and eosin [H&E] stained slides and their clinical parameters of 19 dermatophytose cases confirmed by PAS stain were reevaluated. We compared histopathological and histochemical findings with clinical findings of all cases.

Results: Fungal microorganisms were identified with PAS stained slides in 68.4 % cases in which fungal infection had not been suspected clinically. We detected perifolliculitis in all endothrix infection visualised cases. This finding and the presence of parakeratosis were significant for fungal infections.

Conclusion: Therefore, histochemical PAS stain is required for fungal diagnosis in any spongiotic or psoriasiform dermatitis. Also, the presence of parakeratosis and endothrix as well as the perifolliculitis findings should be kept in mind as helpful pathologic clues to facilitate an accurate diagnosis of dermatophytic infections.

Pam Med J 2015;8(3):171-177

Key words: Dermatophytosis, fungal infection, histopathology, PAS.

Neşe Çallı Demirkan

Yazışma Adresi:Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji AD, Denizli

e-mail: ndemirkan@pau.edu.tr

Gönderilme tarihi: 21.06.2014

Kabul tarihi: 20.02.2015

Giriş

Mantar enfeksiyonu taşıyan hastaların büyük bir kısmı biyopsi alınmaksızın, direk baki / kültür / Wood inceleme / potasyum hidroksil (KOH) gibi metodlarla tanı konduktan sonra tedavi edilmektedir. Bu hastalarda deri biyopsisi; ayırıcı tanıda başka inflamatuvar / tümöral deri hastalıkları düşünüldüğü durumlarda veya dermatofitik enfeksiyonların konfirmasyonu amacıyla nadiren planlanmaktadır. Bir grup hasta ise klinik şüphe olmadan direk histopatolojik inceleme sonucunda tanı almaktadır. Derinin mantar hastalıklarında tanı, mantar kültürü sonucunda kesinlik kazanır. Bununla birlikte sürecin uzun olması ve bazı hastalarda kültür alınmadan önce tedaviye başlanması nedeniyle, bazı dezavantajları bulunmuştur [1]. Çalışmamızın amacı 2007-2011 yılları arasında biyopsi materyallerinde Periyodik asit-Schiff (PAS) histokimyasal boyası ile kanıtlanmış fungal dermatitleri retrospektif olarak gözden geçirip, mantara spesifik olabilecek tanımlanmamış histopatolojik bulgular yakalamaya çalışmaktır. Bu nedenle biyopsi ile mantar tanısı alan vakaların klinik ön tanıları ve histopatolojik özellikleri ayrıntılı olarak değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntem

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2007-2011 tarihleri arasında Hematoksilin ve Eosin (H&E), PAS boyama teknikleri ile mantar hifa ve/veya sporu saptanan 19 hasta geriye dönük tekrar değerlendirildi. Olguların klinik özellikleri, histomorfolojik ve histokimyasal bulguları, ön tanıları ile karşılaştırıldı. Biyopsi materyallerinde *belirgin dermal ödem*, korneum tabakasında nötrofil, sepet örgüsü, parakeratoz, endotriks enfeksiyonu, follikül içinde apse, perifollikülit,

eozinofilik infiltrasyon, epidermiste ödem, kompakt ortokeratoz, PAS boyamasında *sandwich* işareti bulguları arandı.

İstatiksel Yöntem

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 & PASS 2008 Statistical Software (Utah, USA) programı kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Fisher's Exact Ki Kare testi kullanılmış, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

Bulgular

Çalışmamızda, 19 hastanın 3 tanesi (%15.79) insizyonel, 16 tanesi (%84.21) punch biyopsi materyaliydi. Hastaların 15 tanesi erkek (%78.95), 4 tanesi kadın olup, yaş dağılımı 11-78 arasında değişmekteydi. 3 hasta çiftçi (%15.79), 1 hasta inşaat işçisi (%5.26) idi. 4 hasta (%21.05) diabetes mellitus nedeniyle takipliyken, birer hasta; ALL, kolon kanseri, multipl myelom nedeni ile kemoterapi, 1 hasta malign melanom nedeni ile interferon tedavisi almaktaydı. 2 tane hasta ise (%10.53) son 2 ay içerisinde mantar tedavisi almıştı.

En sık görülen klinik bulgu, papül olup, 9 hastada (%47.37) izlenirken, klasik olarak mantar hastalıklarında görmeyi beklediğimiz plaklar 6 hastada (%31.58) mevcuttu. 4 hastanın (%21.05) klinik ön tanısında vaskülit, 3 hastanın (%15.79) diskoid lupus eritematozus (DLE) ve 2 hastanın (%10,53) akneiform ilaç erupsiyonu vardı.

Hastaların direk mantar inceleme sonuçları ile H&E / PAS boyaması sonrası biyopsi sonuçları Tablo 1'de karşılaştırılmıştır.

Tablo 1. Dermatofitoz tanılı olguların klinik ve histopatolojik değerlendirme sonuçları

Klinik Tanılar	Histopatoloji ile Tanı Konanlar		
	PAS ile Doğrulanmış Tanı n (%)	PAS ile Yeni Tanı n (%)	Toplam n (%)
Direkt Mantar Bakısı ile Doğrulanmış Tanı	1 (%5.26)	0 (%0)	1 (%5.26)
Ayırıcı Tanıda Mantar Düşünülenler	5 (%26.31)	0 (%0)	5 (%26.31)
Ayırıcı Tanıda Mantar Düşünülmeyenler	0 (%0)	13 (%68.42)	13 (%68.42)
TOPLAM	6	13	19

PAS = Periyodik asit-Schiff

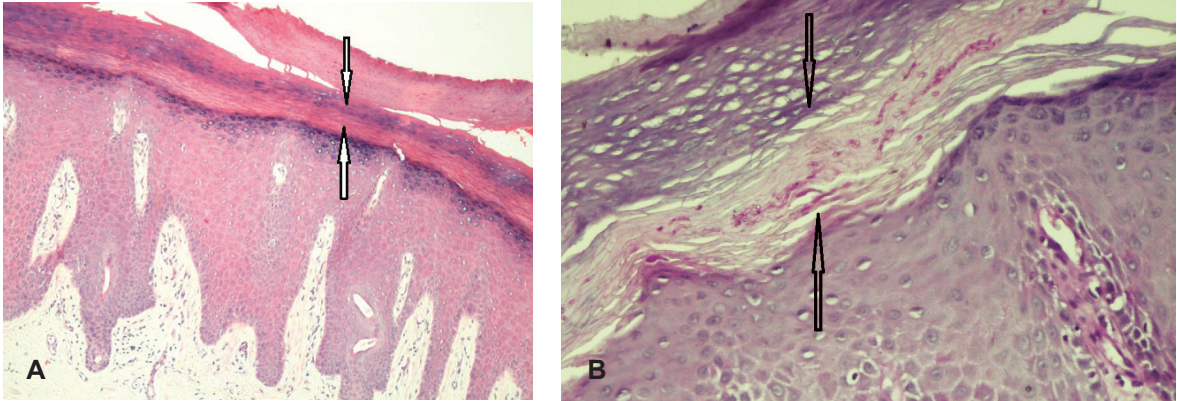
Hastalara tanı sonrası antifungal tedavi uygulanmıştır. Bunların arasından 3 hasta (%15.79) sistemik tedavi, 11 hasta (%57.89) kombine sistemik ve topikal tedavi alırken, 5 hasta (%26.32) tedavi almamıştır. Sistemik tedavi verilen 2 hastada (%66.67), kombine tedavi verilen 4 hastada (%36.36) tedaviye yanıt alınmıştır. Tedavi sonrasında kontrole gelmeyen, tedaviye yanıtı bilinmeyen ve yanıt alınamayan hastalar aynı grup içerisinde değerlendirilmiş, istatistiksel veriler buna göre yorumlanmıştır. Dolayısıyla kontrole gelmeyen hastaların tedaviye yanıtları değerlendirilememiştir. 4 hastada (%21.05) nüks saptanmıştır. Bu hastalardan biri sistemik tedavi, ikisi kombine tedavi almıştır. Sistemik tedavi alanların %33.33'ünde, kombine tedavi alanların %18.18'inde nüks görülmüştür.

PAS histokimyasal boyası ile dermatofitoz tanısı alan biyopsi örneklerinin H&E boyalı

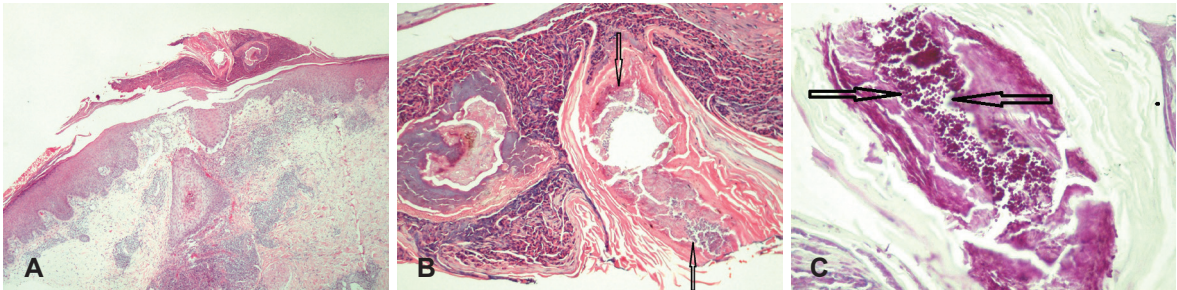
kesitlerinde korneum tabakasında nötrofil varlığı ve sepet örgüsü (sırasıyla: %21.05, %42.11), parakeratoz (%31.58), endotriks infeksiyonu (%26.32), follikül içinde apse (%42.11), perifollikülit (%57.89), eozinofilik infiltrasyon (%15.79), epidermiste hafif ödem (%36.84), kompakt ortokeratoz (%47.37), belirgin dermal ödem (%15.79), PAS boyamasında sandwich işareti (%42.11) (Resim 1a, 1b) bulguları izlendi. Endotriks infeksiyonu olanların hepsinde perifollikülit izlendi, bu bulgu ve ek olarak parakeratoz varlığı mantar infeksiyonu için istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla: $p=0.040$, $p=0.046$) (Resim 2a, 2b, 2c, 2d).

Biyopsi örneklerinde eozinofilik infiltrasyon görülen hastaların tümünün ön tanılarında mantar infeksiyonu düşünülmüştür.

Hastaların klinik öntanımları ve detaylı histopatolojik bulguları Tablo 2'de verilmiştir.



Resim 1. (A, B) Liken skleroatrofikus ve liken planus ön tanılı 12 No'lu hastada Belirgin papiller dermal ödem ve sandwich işareti (1A H&E x 100), (1B PAS x 200).



Resim 2. (A, B, C) Vaskülit ön tanısı ile deri biyopsisi alınan 8 No'lu hastada endotriks bulgusu ve belirgin parakeratoz. Resim 2A H&E x 40, Resim 2B H&E x 200, Resim 2C PAS pozitif hifa ve maya formaları, PAS x 400.

Tablo 2. Deri biyopsisi PAS boyamasında mantar saptanan hastaların klinik öntanımları ve histopatolojik bulguları

Hasta No	Yaş	Cinsiyet	Alındığı Yer	Klinik Öntanı	Histopatoloji
1	37	E	Sol inguinal bölge ve femur laterali	MF	Perifolikülit, epidermiste hafif ödem
2	36	E	Sol medial malleol	Ektima, pyoderma gangrenosum, şarbon	Korneumda nötrofil, parakeratoz, sandwich işareti
3	22	K	Skalp	Alopesi areata	Korneumda sepet örgüsü, perifolikülit, kompakt ortokeratoz
4	60	E	Sol el dorsali	DLE, kronik kontakt dermatit, liken simpleks kronikus	Belirgin papiller dermal ödem, korneumda sepet örgüsü, kompakt ortokeratoz, sandwich işareti
5	63	E	Sağ inguinal bölge	Malign melanom metastazı	Korneumda nötrofil, endotriks infeksiyonu, perifolikülit, epidermiste hafif ödem, sandwich işareti
6	56	E	Sol temporal bölge	Granuloma annulare, tinea fascia, sarkoidoz	Korneumda nötrofil, parakeratoz, folikül içinde apse, perifolikülit, kompakt ortokeratoz
7	48	E	Gövde	Akneiform ilaç erupsiyonu, nodüler akne, kutan vaskülit	Belirgin papiller dermal ödem, folikül içinde apse, perifolikülit, epidermiste hafif ödem, kompakt ortokeratoz
8	22	K	Kruris anterioru	Vaskülit	Endotriks infeksiyonu, folikül içinde apse, perifolikülit, epidermiste hafif ödem
9	70	E	Gövde	Prurigo nodularis, vaskülit	Folikül içinde apse, perifolikülit
10	35	E	Sağ el bileği	MF yama dönemi, Alopesi musinoza, Tinea versikolor alba	Korneumda sepet örgüsü, sandwich işareti
11	46	E	Sol palmar bölge	Tinea inkognito, derin mikoz	Parakeratoz, endotriks infeksiyonu, folikül içinde apse, perifolikülit, eozinofilik infiltrasyon
12	22	E	Sağ inguinal bölge	Liken skleroatrofikus, liken planus	Belirgin papiller dermal ödem, parakeratoz, folikül içinde apse, sandwich işareti
13	53	E	Sol el dorsali ve palmar bölge	Tinea inkognito, granülomatöz dermatit, tinea manum, egzema	Parakeratoz, endotriks infeksiyonu, perifolikülit, eozinofilik infiltrasyon, sandwich işareti
14	37	K	Omuz	Insect bite, kutan vaskülit, dermatitis herpetiformis, eozinofilik folikülit	Korneumda sepet örgüsü
15	78	E	Plantar bölge	Malign melanom, tinea pedis	Korneumda nötrofil, parakeratoz, perifolikülit, eozinofilik infiltrasyon, sandwich işareti
16	70	E	Burun sırtı ve ucu	Aktinik keratoz, DLE, rinofima	Korneumda sepet örgüsü, sandwich işareti
17	44	E	Sol kol laterali	Akneiform ilaç erupsiyonu, kutan vaskülit	Korneumda sepet örgüsü, endotriks infeksiyonu, folikül içinde apse, perifolikülit
18	11	K	Skalp	Alopesi areata, trikotillomani, tinea kapitis	Korneumda sepet örgüsü
19	25	E	Skalp	Liken pilanopilaris, seboreik alopesi, DLE, androgenik alopesi	Korneumda sepet örgüsü, folikül içinde apse

DLE = Diskoid Lupus Eritematozus; MF = Mikozis Fungoides

Tartışma

Kutanöz fungal dermatitler, yüzeysel, derin ve sistemik tutuluma sekonder olarak görülmektedir. Dermatofitler, keratinofilik mantarlar olup, tinea (dermatofitoz) olarak adlandırılan yüzeysel deri enfeksiyonuna neden olan Trikofiton, Mikrosporum ve Epidermofiton türlerine ayrılmaktadır [2]. Konağın immünitesi kutanöz histolojik reaksiyonun paternini belirlemektedir. Süperfisyal fungal enfeksiyonlar genellikle hifa veya psödohifa halinde, bazen de epidermis ve foliküller içinde maya formlarında görülmektedir. Doku reaksiyonu ise hafif fokal spongiostisten, kronik spongiotik-psoriasiform paterne kadar değişmektedir. Dermiste mikst inflamatuvar infiltrat bulunurken, hifa veya sporlar sadece folikül rüptürü olanlarda görülmektedir. Derin kutanöz fungal enfeksiyonlar ise psödoepitelyomatöz hiperplazi ve mikst dermal infiltrat, nadiren de dermal fibrozis ile birlikte. Sistemik tutuluma sekonder mantar enfeksiyonlarında da derin kutanöz fungal enfeksiyondakine benzer bir patern görülmektedir [3].

Günümüzde dermatofitozların tanısında klinik muayene ve KOH ile direkt mikroskopik inceleme uygulanmaktadır. Rutinde histopatolojik inceleme klinik tanıyı doğrulama amacıyla tercih edilmektedir [4]. Klinik öntanı ve histopatolojik tanıda farklılıklara sık rastlanmaktadır [5]. Kültür ile kesin tanı şansı olmasına rağmen, sürecin uzun olması nedeniyle hastalardan kültür alınmadan antibiyotik tedavisine başlanmaktadır. Tedavi sonrası alınan kültür ise yalancı negatiflik şansını arttırmaktadır.

Dermatofitozlarda görülen histopatolojik değişiklikler konağın immün yanıtına, korneum tabakasındaki hasar ve inflamatuvar yanıtı bağlı değişmektedir [6]. Hafif inflamasyonla seyreden hiperkeratoz veya inflamatuvar püstüllerin eşlik ettiği ağır kompakt ortokeratoz ve parakeratoz görülebilmektedir [7]. Bu histopatolojik bulgularla dermatofitozların ayırıcı tanısında non-infeksiyöz ve infeksiyöz hastalıklardan psoriasis, egzema, *pityriasis rosea* ve daha nadir olarak da parapsoriasis, mikozis fungoides (MF), liken simpleks kronikus, *pityriasis lichenoides*, *pityriasis rubra pilaris*, kandida, impetigo ve sifiliz bulunmaktadır [8-10]. Bizim çalışmamızda da bunlara ek olarak ektima, pyoderma gangrenosum, şarbon, alopesi areata, DLE, kronik kontakt dermatit, *granuloma annulare*, sarkoidoz, akneiform ilaç erupsiyonu, nodüler akne, kutan vaskülit, *prurigo nodularis*, MF yama dönemi, alopesi musinoza, liken

sklerotrofikus, liken planus, granümatöz dermatit, *insect bite*, dermatitis herpetiformis, eozinofilik follikülit, aktinik keratoz, rinofima, trikotillomani, liken planoplaris, seboreik alopesi, androgenik alopesi öntanılarını vardı (Tablo 2).

Literatürde dermatofitozların histolojik tanısında önemli olan bazı karakteristik bulgular tanımlanmıştır; stratum korneumda nötrofil varlığı, serum içermeyen keratin lamelleri arasında hifa varlığı, kompakt ortokeratozis ve iki kornifiye hücre zonu arasında hifa varlığı (*sandviç* işareti), ya da hifa ve maya varlığı (*spagetti ve köfte*) [8,9,11]. Diğer mantara eşlik eden nonspesifik bulgular olarak spongiotik psoriaziform, interfaz ve / veya folikülosentrik inflamasyon, hemoraji ve dermal fibrozis sayılabilmektedir [12]. Bu bulgular hiçbir zaman tek başına tanı koymaya yetmemekte, ancak PAS pozitif maya ya da spor varlığında anlam kazanmaktadır.

Biyopsi alınan vakalarda hifa ve sporları H&E kesitlerde görmek oldukça zordur. PAS histokimyasal boyası ile fungal mikroorganizmaların hücre duvarlarındaki sellülöz ve kitin, koyu pembe boyandığı için mantar etkeni kolaylıkla tespit edilmektedir [13], bu nedenle biyopside H&E ile korneum tabakasında nötrofil görülüp, spongiotik veya psoriasiform dermatit düşünülen olgularda PAS boyası bazı patologlarca rutin uygulanmaya başlanmıştır. *Grocott's methenamine silver* boyası da deri biyopsilerinde mantarı göstermektedir, ancak işlem PAS'a göre daha uzun sürede ve komplike olmakta, aynı zamanda tanıda değişken sonuçlar verebilmektedir [14].

Wilsmann-Teis ve ark. [15] 851 vakalık çalışmalarında onikomikozis tanısında PAS boyasını en sensitif (%82) yöntem bulmuşlardır. Kültür %53 ile, direkt mikroskopi ise %48 ile takip etmiştir. Bizim çalışmamızda ise ayırıcı tanıda mantar enfeksiyonu düşünülen 5 olgudan biri direkt mantar bakısı ile doğrulanmıştır. Buna benzer başka çalışmalarda da PAS yöntemi ile benzer sonuçlar bulunmuştur [16,17]. Lawry ve ark. [18] çalışmalarında dermatofitoz tanısında, PAS yönteminin (%85), KOH ile direkt bakıya nazaran daha sensitif olduğunu bulmuştur.

Başka bir çalışmada, onikomikoziste H&E ve PAS boyalı preparatlarda histoloji ve tanı arasındaki korelasyon değerlendirilmiş ve %100 korelasyon saptamıştır [19].

Mohan ve ark. [1] çalışmalarında 403 adet deri biyopsisinden 338'ine PAS uygulamış ve tekrar değerlendirmiştir. Bu olguların 34 tanesinde (%10) mantar görülmüş, bu

34'ün sadece 5'inde klinik olarak fungal enfeksiyondan şüphelenilmiştir. Bizim de 19 vakalık çalışmamızın, 5'inde ayırıcı tanıda mantar enfeksiyonu düşünülmüştür.

Benzer bir başka çalışmada deri biyopsileri retrospektif incelenmiş, 99 vakaya mantar tanısı için PAS histokimyasal boyası uygulanmış ve 7 vakada mantar gösterilmiştir. Bu vakalardan 3'ünde ön tanıda mantardan şüphelenilmiş, 4'ünde beklenmedik bir tanı olmuştur [20]. Bütün bu yapılan çalışmaların ışığında, dermatofitozların tanısında en duyarlı yöntem olarak PAS histokimyasal boyası bulunmuştur.

Başka bir çalışmada tinea tanısı almış 60 vakanın ve tinea dışı tanı almış 21 vakanın H&E boyalı kesitleri tekrar incelenmiş, kesitlerde hifa varlığı, epidermal, dermal ve foliküler değişiklikler detaylı olarak tekrar gözden geçirilmiştir. Hifa varlığı dışında spesifik bir histopatolojik ayırıcı bulgu gözlenmemiştir. Çalışmanın sonucunda hifa varlığının da kolaylıkla atlanabileceği, bu nedenle inflamatuvar deri hastalıkları ayırıcı tanısında dermatofitozun kesin tanısı için mutlaka PAS yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır [10]. Meymandi ve ark. [11] dermatofitoz tanısında karakteristik histopatolojik bulgulardan biri olan korneum tabakasında nötrofil varlığının, tanıda sensitif veya spesifik bir bulgu olmadığını, kesin tanının ancak PAS histokimyasal boyası ile yapılabileceğini çalışmalarında göstermişlerdir.

Yakın zamanda yapılan başka bir çalışmada ise *belirgin papiller dermal ödem* dermatofitozların tanısında yeni bir karakteristik histopatolojik bulgu olarak tanımlanmış ve PAS boyası negatif vakalarda dahi fungal enfeksiyon açısından önemli bir bulgu olabileceği vurgulanmıştır [21]. Bizim serimizde de 3 vakada *belirgin papiller dermal ödem* izlenmiştir.

Özet olarak, spongiotik veya psoriasiform dermatitlerde dermatofitozların atlanmaması için deri biyopsilerinde rutin PAS uygulamasının yararlı olacağını düşünmekteyiz. Dermatofitozların bilinen histopatolojik bulgularına ek olarak, çalışmamızda anlamlı çıkan parakeratoz ve endotriks enfeksiyonlu olgulardaki perifollikülit bulgularının da tanıda yardımcı olabileceği akılda tutulmalıdır.

Çıkar İlişkisi: Yazarlar çıkar ilişkisi olmadığını beyan eder.

Kaynaklar

1. Mohan H, Bal A, Aulakh R. Evaluation of skin biopsies for fungal infections: role of routine fungal staining. *J Cutan Pathol* 2008;35:1097-1099.
2. Stein DH. Tineas – superficial dermatophyte infections. *Pediatr Rev* 1998;19:368-372.
3. Lever WF, Schaumburg-Lever G. *Histopathology of the Skin*. 10th ed. Philadelphia: JB Lippincott-Williams & Wilkins, 2009;591-595.
4. Rebell G, Taplin D. *Dermatophytes: their recognition and identification*. 2nd ed. Coral Gables: University of Miami Press, 1970.
5. Requena L, Sanchez Yus E. Invisible dermatoses additional findings. *Int J Dermatol* 1991;30:552-557.
6. Hay RJ, Moore M. Mycology. In: Champion RH, Burton JL, Burns DA, Breathnach SM, eds. *Rook/Wilkinson/Ebling textbook of dermatology*. 6th ed. Malden MA: Blackwell Science, 1998;1294.
7. Graham JH, Barosso-Tobila C. Dermatophytosis. In: Baker RD, ed. *The pathologic anatomy of the mycosis*. Berlin: Springer-Verlag, 1971;211.
8. Gottlieb GJ, Ackerman AB, MD. The sandwich sign of dermatophytosis. *Am J Dermatopathol* 1986;8:347-350.
9. Ackerman AB. Subtle clues to diagnosis by conventional microscopy – neutrophils within the cornified layer as clues to infection by superficial fungi. *Am J Dermatopathol* 1979;1:69-75.
10. Ollague J, Ackerman AB. Compact orthokeratosis as a clue to chronic dermatophytosis and candidiasis. *Am J Dermatopathol* 1982;4:359-363.
11. Meymandi S, Silver SG, Crawford RI. Intraepidermal neutrophils – a clue to dermatophytosis? *J Cutan Pathol* 2003;30:253-255.
12. Al-Amiri A, Chatrath V, Bhawan J, Stefanato CM. The periodic acid-Schiff stain in diagnosing tinea: should it be used routinely in inflammatory skin diseases? *J Cutan Pathol* 2003;30:611-615.
13. Lever WF, Schaumburg-Lever G. *Histopathology of the Skin*. 10th ed. Philadelphia: JB Lippincott-Williams & Wilkins, 2009;591-592.
14. Swisher BL. Microorganisms. In Bancroft JD, Gamble M, eds. *Theory and practice of histological techniques*. London: Churchill Livingstone, 2002;325.
15. Wilsmann – Theis D, Sareika F, Bieber T, Schmid – Wendtner M – H, Wenzel J. New reasons for histopathological nail-clipping examination in the diagnosis of onychomycosis. *JEADV* 2011;25:235-237.
16. Weinberg JM, Koestenblatt EK, Jennings MB. Utility of histopathologic analysis in the evaluation of onychomycosis. *J Am Podiatr Med Assoc* 2005;95:258-263.

17. Borkowski P, Williams M, Holewinski J, Bakotic B. Onychomycosis: an analysis of 50 cases and a comparison of diagnostic techniques. *J Am Podiatr Med Assoc* 2001;91:351-355.
18. Lawry MA, Haneke E, Strobeck K, Martin S, Zimmer B, Romano PS. Methods for diagnosing onychomycosis: a comparative study and review of the literature. *Arch Dermatol* 2000;136:1112-1116.
19. Moreno-Coutiño G, Toussaint-Caire S, Arenas R. Clinical, mycological and histological aspects of white onychomycosis. *Mycoses* 2010;53:144-147.
20. Murphy JK, Donohue LO. The diagnostic value and cost effectiveness of routine fungal stains in a dermatopathology service of a district general hospital. *J Clin Pathol* 2004;57:139-140.
21. Hoss D, Berke A, Kerr P, Grant-Kels J, Murphy M. Prominent papillary dermal edema in dermatophytosis (tinea corporis). *J Cutan Pathol* 2010;37:237-242.