

DOPORUČENÝ POSTUP LABORATORNÍ DIAGNOSTIKY U DERMATOMYKÓZ

Karel Mencl, Vladimír Buchta, Naděžda Mallátová, Petr Hamal, Iva Kocmanová, Vít Hubka

ÚVOD

V rutinní mykologické laboratoři jsou vyšetřeny kůže a kožních adnex s podezřením na mykotickou etiologii běžným biologickým materiálem. Pokud se týká nutné vybavenosti laboratoře, zůstává konzervativní (mikroskop a termostaty), i když i do této oblasti pronikají novější technologie k identifikaci kvasinek a plísní (MALDI TOF, PCR, sekvenace). Minimální požadavky jsou řešeny v Nepodkročitelném minimu laboratorní diagnostiky invazivních mykotických infekcí. Toto minimum je zveřejněno na webových stránkách Společnosti pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP.

Co je však hned v úvodu potřeba zmínit, to je nutnost dodržení standardizace jednotlivých postupů a to zvláště v oblasti kultivačních médií, kultivační teploty, velikosti inokula a délky kultivace. Většina akreditovaných mykologických laboratoří má takovou standardizaci zabudovanou do svých standardních operačních postupů (SOP). Tyto SOP se mohou u jednotlivých laboratoří technicky lišit, avšak z důvodu mezilaboratorní srovnatelnosti výsledků by měly být pečlivě dodržovány.

Vzhledem k tomu, že se u dermatomykóz jedná téměř výhradně o postižení kůže a kožních adnex, tedy míst většinou dobře viditelných a snadno přístupných, a že se nejedná o život ohrožující infekce, nehrozí nebezpečí z prodlení. V případě sporných, nebo raritních nálezů je také možné odběry biologického materiálu a jejich mykologické vyšetření pro verifikaci etiologie opakovat.

Původci dermatomykóz bývají nejčastěji dermatofyty a kandidy, ale zejména u onychomykóz se můžeme setkat i s méně obvyklými druhy kvasinek a vláknitých hub. Laboratornímu postupu k zachycení výše uvedených mikromycetů a interpretaci nálezů je věnováno následující doporučení, doplněné obrazovou dokumentací z přednášky na toto téma, která se uskutečnila v Lékařském domě dne 3. 3. 2020.

OBECNÉ ZÁSADY DERMATOMYKOLOGICKÉHO VYŠETŘENÍ

Tyto obecné zásady lze rozdělit do šesti skupin, kdy část úspěchu vyšetření závisí na klinickém pracovišti. Jsou to:

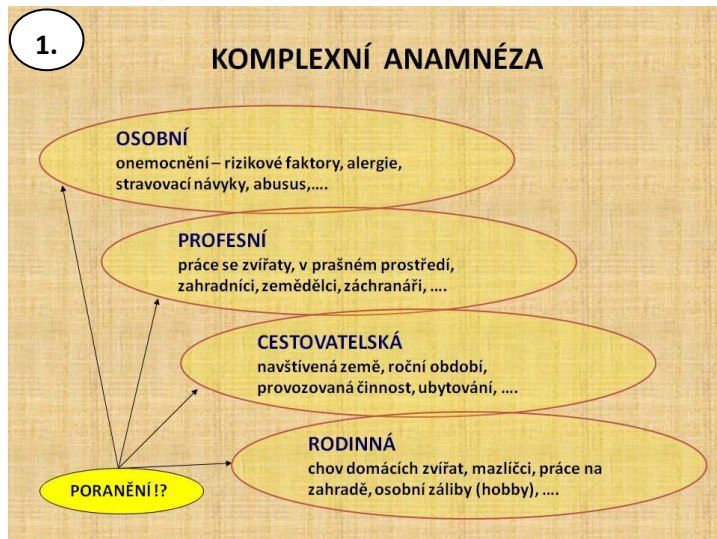
- KOMPLEXNÍ ANAMNÉZA
- SPRÁVNÁ TECHNIKA ODBĚRU
- KVALITNÍ MIKROSKOPICKÉ VYŠETŘENÍ
- ODPOVÍDAJÍCÍ KULTIVACE VZORKŮ
- DETERMINACE IZOLOVANÝCH MIKROSKOPICKÝCH HUB

- INTERPRETACE NÁLEZU MIKROMYCET

Jak lze předpokládat, na klinikovi jsou většinou závislé první dvě zásady a to pokud se nejedná o odběr přímo v dermatomykologické laboratoři.

KOMPLEXNÍ ANAMNÉZA

Sběr anamnestických dat je velmi důležitou částí celého vyšetření a jeho provedení musí splňovat několik procesních postupů uvedených na Obr.1.



Na základě zhodnocení, zda se primárně jedná o traumatické postižení kůže, nebo je postižení spontánní, je třeba získat data, která umožní bližší orientaci v případě a co nejvyšší provedení laboratorního vyšetření. Tato data nám mohou také přispět ke správné identifikaci agens v případě pozitivní kultivace.

Pokud jde o **osobní anamnézu**, je zjištění rizikových faktorů směrodatné nejen pro finální rozhodování o etiologické účasti kultivovaných hub, ale také pro odhad úspěšnosti terapie a možných budoucích recidiv mykotické infekce. Zvláštní pozornost je třeba věnovat onemocněním jako jsou diabetes mellitus, poruchy imunity a u protinádorové terapii.

Profesní anamnéza představuje velmi důležitou část získaných dat, protože s sebou nese forenzní důsledky, pokud se prokáže, že postižení kůže je v přímé souvislosti se zaměstnáním.

Anamnéza cestovatelská, která bývá často opomíjena, může však výrazně ovlivnit spektrum provedených kultivačních metod a v případě podezření možného získání některé z endemických mykotických infekcí působených např. rody *Blastomyces*, nebo *Coccidioides* je zásadní pro ochranu laboratorních pracovníků při manipulaci s biologickým vzorkem i s následnou identifikací kultury mikromycety.

Rodinná anamnéza bývá téměř stejně důležitá jako ta cestovatelská, zvláště při kontaktu s domácími mazlíčky a to i s kontaktem náhodným, ke kterému došlo např. při návštěvě, nebo při chalupaření a pohybu v místech kontaminovaných přítomností divoce žijících druhů zvířat. Rizikem se také stávají různé sportovní aktivity, zejména plavání (návštěva plaveckých zařízení a společných sprch).

Jako poznámku ke sběru anamnestických dat si dovoluji připomenout „výchovu“ dermatologů, kteří provádí odběry biologického materiálu sami a vzorek pošlou jen s minimem informací. V takových případech je nutné edukační činností žadatele přesvědčit o nutnosti poskytnutí anamnestických informací pro kvalitní vyšetření.

SPRÁVNÁ TECHNIKA ODBĚRU

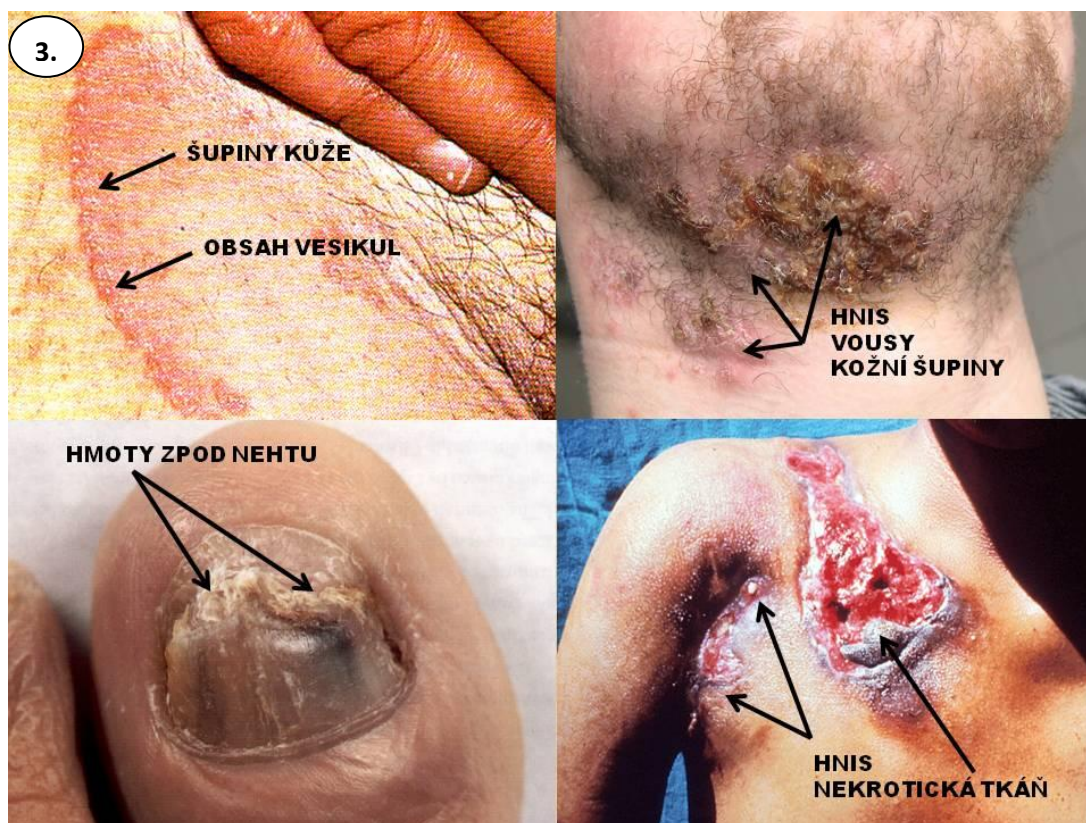
Odběry kůže a kožních adnex většinou provádí dermatologové přímo ve svých ordinacích. I v případě odběrů přímo v laboratoři je nezbytně nutná a kvalitně provedená dekontaminace místa odběru, viz. Obr.2. V případě nemožnosti dekontaminovat (např. u malých dětí) je potřeba tuto skutečnost zapsat na průvodní list.



Odběry je nutno provádět až po dokonalém zaschnutí léze po dekontaminaci, kdy k odběru používáme sterilní skalpel, kterým snášíme kožní šupiny a úlomky nehtů (zvláště hmoty zpod nehtové ploténky) do sterilní Wassermannovy zkumavky. Pro odběr vlasů, vousů a chlupů používáme sterilní epilační pinzetu. Do sterilní zkumavky, případně jiné sterilní soupravy pak umístíme maximálně cca 1-2 cm dlouhý úsek s vlasovým „kořínkem“, kdy přebytečný materiál odstříhneme sterilními, případně dekontaminovanými nůžkami.

Odběr mokvajících nebo hnisavých ložisek provádíme stejnými technikami jako v bakteriologii, kdy preferujeme zaslání/odebrání tekutého materiálu např. v injekční

stříkačce, v případě jeho nedostatku je vhodné přímo při odběru provést jiným sterilním tampónem také roztěr na mikroskopické podložní sklíčko a to zaslat společně s odběrem na kultivaci. Ukázky odběrových míst jsou umístěny na Obr.3.



MIKROSKOPICKÉ VYŠETŘENÍ

Přímé mikroskopické vyšetření biologického materiálu je základním vyšetřením a v případě dermatomýkóz by nemělo být nikdy opomenuto a to i v případě, že od klinika získáme velmi málo materiálu. Jde totiž o to, že v případě prokázané positivity tohoto materiálu mikroskopickou technikou otevírá dermatologovi šanci zahájit terapii systémovými antimykotiky.

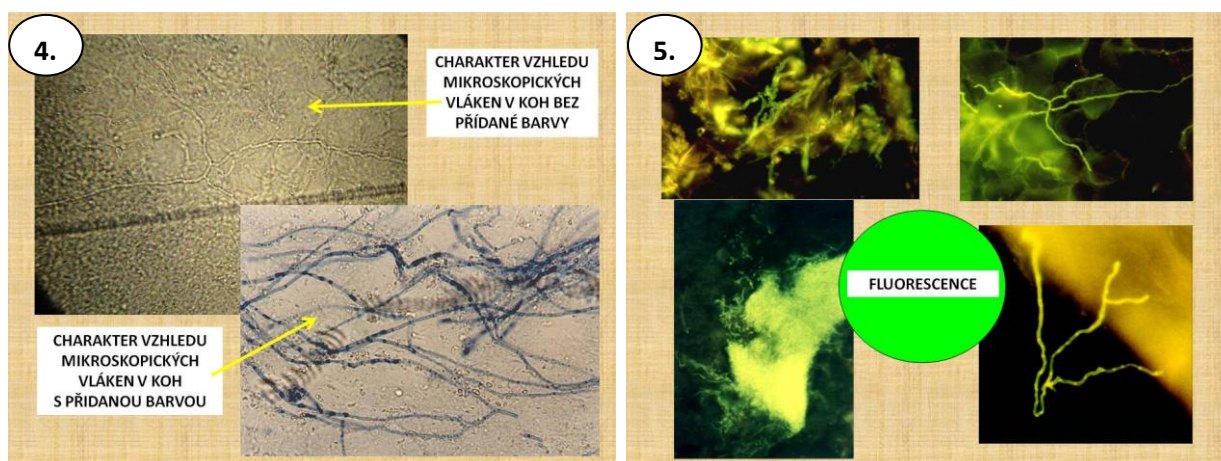
Vlastní laboratorní příprava preparátu je poměrně jednoduchá. Protože se jedná o materiál obsahující keratin, je potřeba jeho strukturu nejprve rozvolnit. K tomuto účelu používáme nejčastěji 20% roztok hydroxidu draselného (KOH). Lze sice použít KOH od 5% do 40%, ale nízká koncentrace pracuje pomalu a ta vysoká zase moc rychle a často nám v krátké době zničí všechny v preparátu přítomné struktury. Pracujeme buď s KOH čistým, nebo s přidavkem nějakého barviva, např. bavlnová modrá a/nebo s přidavkem fluorochromu pro vyšetření ve fluorescenčním mikroskopu. Výhodou přidané barvy je lepší viditelnost mikromycetu, která zvyšuje citlivost zachytu.

Postup přípravy klasického louhového preparátu: Na střed podložního mikroskopického sklíčka umístíme kapku KOH a do ní vložíme částky biologického

materiálu, přikryjeme krycím sklíčkem, případně přes jeho hranu doplníme KOH (buď čistý a/nebo s přidavkem barvy) tak, aby byl biologický materiál zcela smočen, a necháme minimálně 1 hodinu macerovat (doba macerace je odvislá od velikosti částec). Také je možné připravený preparát umístit do vlhké komůrky a mikroskopické vyšetření provést následující den. Toto lze doporučit zvláště v případě, že byl k maceraci použitý louh s barvou. Přítomné houbové struktury tak nabývají na kontrastu.

Postup přípravy louhového preparátu pro fluorescenční mikroskop: Na střed podložního mikroskopického sklíčka umístíme kapku KOH s přidaným fluorochromem (např. v případě použití Rylux BSU v koncentraci 0,2%) a do ní vložíme částčky biologického materiálu. Také zde se staráme, aby byl biologický materiál zcela smočen. V odkryté podobě necháme minimálně 1 hodinu macerovat (doba macerace je odvislá od velikosti částec). Během doby macerace buď přidáváme čistý KOH při vysychání preparátu, nebo preparát umístíme do vlhké komůrky. Po uplynutí doby macerace se doporučuje přebytečný louh s fluorochromem opatrně odsát a nahradit čistým KOH. Preparát následně přikryjeme krycím sklíčkem a mírným tlakem na krycí sklíčko provedeme rozvolnění biologického materiálu (tlakový preparát). V případě potřeby doplníme přes jeho hranu další louh.

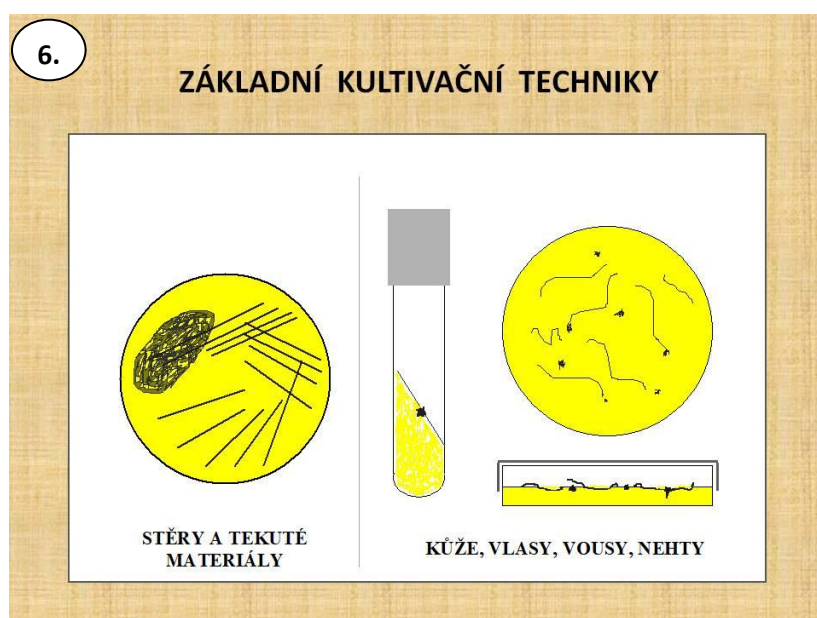
Ukázky pozitivního výsledku vyšetření jsou na Obr. 4 (preparát s čistým KOH a s přidavkem barvy) a na Obr. 5 (preparát s fluorochromem).



KULTIVACE VZORKŮ

Pro kultivaci mikroskopických hub z kůže a kožních adnex používáme Sabouraudův agar, případně jeho modifikace, jako jsou např. selektivní půdy s ATB a cykloheximidem. Pro inokulaci volíme raději menší částčky materiálu na více kultivačních souprav. Techniky kultivací jsou v podstatě tři. Pro tekuté materiály a stěry používáme agarovou půdu v Petriho miskách, kdy provádíme inokulaci obdobně jako v bakteriologii, minimálně na třiisky a to včetně ředícího typu rozočkování po povrchu půdy. Pro kožní šupiny a úlomky nehtů se jeví jako

nejvhodnější použít techniku vpichu šupin pod povrch šikmo vylitého agaru ve Wassermannově zkumavce (pro vyšetření jedné lokalizace lze doporučit použití 4 zkumavek). Co do použitého média může být akceptován jak agarový monotyp (SA s chloramfenikolem ve všech zkumavkách, tak systém 2+2 (2 zkumavky s SA+CHLMF a 2 zkumavky SA s chykloheximidem). Zde je potřeba připomenout zachovávání standardu určeného v SOP jednotlivých laboratoří. Použití zkumavek snižuje riziko kontaminace vzdušnou flórou, na druhou stranu je jejich počet optimální pro záchyt mykotického agens. V případě inokulace vlasů, vousů a chlupů je vhodné použít agarovou půdu v Petriho miskách, kdy materiál rozmístíme po povrchu média a sterilní mykologickou jehlou lehce zatlačíme pod jeho povrch. Použití Petriho misek lze akceptovat také v případě nemožnosti použít zkumavky. Techniky jsou zobrazeny na Obr. 6.



TEPLOTA A DÉLKA KULTIVACE

Lidská pokožka má teplotu přibližně $25 \pm 2^\circ\text{C}$ a s výhodou lze tuto teplotu využít při kultivaci dermatologických vzorků. Většina mikromycet roste při této teplotě v morfologicky typických koloniích, což následně usnadňuje jejich správnou identifikaci. Na základě zkušeností je třeba důrazně doporučit, aby kultivace probíhala pouze v termostatu nastavenému na uvedenou teplotu a ne při tzv. „pokojové teplotě“ (kolísání hodnot $^\circ\text{C}$).

Délka kultivace může být variabilní. Doporučuje se však sledovat růst mykoorganismů již od 6. dne kultivace a následně pak kontrolovat po dalších 4 dnech.

Dermatofyta: Jako základní (bez znalosti epidemiologických souvislostí) je doporučeno při teplotě $25 \pm 2^\circ\text{C}$ kultivovat 14 dnů v případě negativity růstu. Pokud je známa anamnéza, zvláště pracovní, je v případě podezření z možné

přítomnosti velmi pomalu rostoucích dermatofytů (*Trichophyton verrucosum*, *T. violaceum* apod.) kultivaci prodloužit na 3 – 4 týdny.

Kvasinky: Jsou-li ve vzorku přítomny jako etiologické agens kvasinky, je jejich růst většinou zřetelný již 6. den inkubace a je možné zahájit proces jejich identifikace.

Saprofytní mikromycety: Oproti dermatofytům roste řada saprofytů podstatně rychleji. Proto je možné, stejně jako u kvasinek, pozorovat růst již po 6 dnech inkubace (aspergily, fusaria a dal.). Vzhledem k tomu, že se jedná o mladé kultury, je tak možná bližší identifikace již při zhotovení přímého preparátu ze zkumavky.

DETERMINACE IZOLOVANÝCH MIKROSKOPICKÝCH HUB

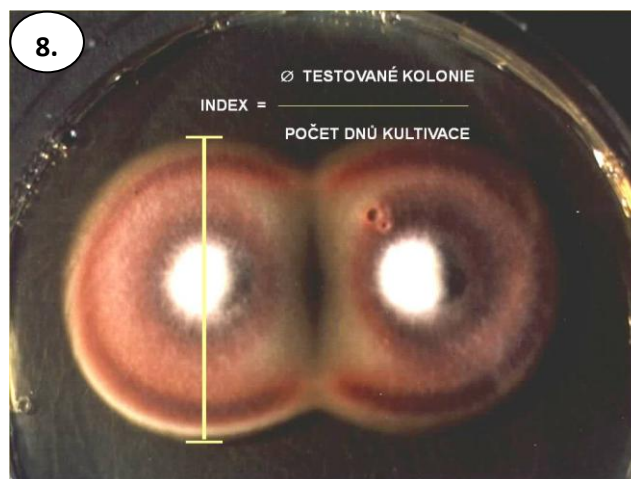
V případě pozitivní kultivace mykotických agens je potřeba provést jejich rodovou a druhovou identifikaci. Pro orientační i cíleně zaměřené postupy je vhodné použít jako první krok mikroskopické vyšetření kultury, kdy pro dermatofyty a kvasinky lze jako médium doporučit Lugolův roztok, případně Laktofenol s barvou (bavlnová modrá a pod). Preparát s Laktofenolem má navíc delší trvanlivost. Pro saprofyty se doporučuje použít čistý Laktofenol s ohledem na to, že tak zůstane zachována barevnost mikroskopických struktur, které jsou důležité pro identifikaci a současně dojde k určitému projasnění preparátu.

V případě kvasinek je možné k identifikaci využít jejich biochemických a mikromorfologických vlastností, případně moderních identifikačních postupů v podobě např. MALDI TOF.

U vláknitých mikromycet bývá postup složitější. Jednotlivé kroky jsou uvedeny na Obr. 7. Při identifikaci dermatofytů je vhodné využít jako první krok zhodnocení růstového indexu (Obr. 8).

7. POSTUP IDENTIFIKACE VLÁKNITÝCH HUB

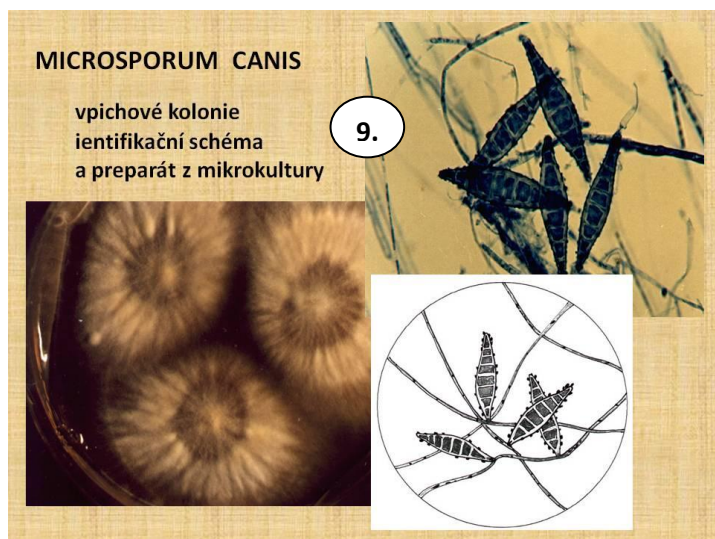
1. KROK	hodnocení anamnestických údajů
2. KROK	rychlost růstu mikromycetu - u dermatofytů růstový index
3. KROK	korelace s výsledkem přímé mikroskopie
4. KROK	textura povrchu kolonie
5. KROK	produkce pigmentů
6. KROK	charakter spodiny kolonie
7. KROK	charakter okrajů kolonie
8. KROK	mikroskopické vyšetření kultury - charakter myceliálních hyf - produkce mikrokonidií - produkce makrokonidií - produkce chlamydospor - další znaky a zvláštnosti



Obecně pak platí, že je potřeba identifikaci řídit podle klíčů uvedených v odborné literatuře. Velmi dobré výsledky pro mikroskopické vyšetření identifikovaného agens můžeme získat také pomocí tzv. mikrokultury, která v časové ose umožní postupně

sledovat prostorový a charakteristický růst identifikované houby. Tímto postupem získané detaily lze pak výhodně použít pro detailní zařazení kultury podle

identifikačních schémat v odborné literatuře. Ukázka je uvedena na Obr. 9.



Také je možné u dermatofytů a některých vláknitých hub využít mykologické databáze v přístroji MALDI TOF, příprava vzorku k vyšetření je však v tomto případě poněkud složitější. Vzhledem k ne vždy spolehlivým výsledkům a neúplné databázi knihovny MALDI, je dobré nespolehat se výhradně na tuto metodu, ale raději kombinovat tento přístup s klasickou diagnostikou (např. mikrokultury).

Rovněž lze k identifikaci rodu a druhu mikromycety použít PCR vyšetření, které však zatím není běžným vybavením laboratoří a bývá součástí vyšetřovacího spektra pouze některých specializovaných laboratoří.

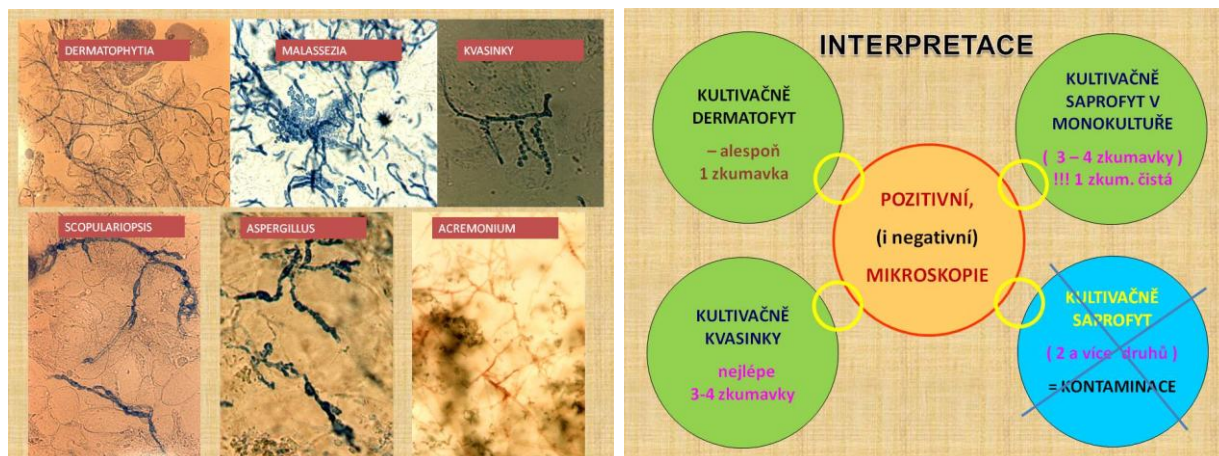
INTERPRETACE NÁLEZU MIKROMYCET

Tato část diagnostického procesu je velmi zodpovědnou činností, protože dáváme klinikovi informace, podle kterých se bude rozhodovat o diagnóze a terapii pacienta. Jak již bylo zmíněno, je-li pozitivní přímá mikroskopie biologického materiálu, případně i charakteristický obraz pro některá agens (Obr. 10), je hlavní část pro interpretaci hotová, neboť je prokázána fyzická přítomnost houby ve tkáni. V případě negativní mikroskopie je pak nutné jako hlavní rozhodnutí posoudit charakter kultivace. Na kultivačním médiu rostoucí mykotická agens mohou být jak dermatofyta, tak kvasinky nebo houby saprofytní.

NÁLEZ DERMATOFYTŮ

Kultivace dermatofytů jako etiologického agens může být i ojedinělá (1 zkumavka), protože takový nálezní svědčí o jeho vztahu k poškození tkáně a to i v případě negativní přímé mikroskopie. Při kultivačním nálezu kvasinek a saprofytů je potřeba

pečlivě zvážit význam takového nálezu, zvláště pak u negativní přímé mikroskopie. Návod k rozhodování je uveden na Obr.



11 .

11

NÁLEZ KVASINEK

Při pozitivní přímé mikroskopii je třeba, aby nálezu kvasinek mohl být hodnocen jako masivní (4 zkumavky), případně četný (3 zkumavky). Vzhledem k tomu, že kvasinky bývají často součástí mikrobiomu tělesného povrchu, je jejich ojedinělý nálezu možné hodnotit pouze jako kolonizaci.

Při negativní přímé mikroskopii platí pro interpretaci nálezu kvasinek prakticky totéž, zde však lze doporučit zhotovit z případného zbytku biologického materiálu kontrolní přímou mikroskopii (KOH).

NÁLEZ SAPROFYTŮ

Při pozitivní přímé mikroskopii je pro vydání nálezu saprofyta jako etiologického agens mykózy potřeba, aby byl kultivován pouze v čisté kultuře a to na 3-4 zkumavkách. Při kvantitativně menším nálezu (1-2 zkumavky) se může jednat o kontaminaci vzorku, ke které mohlo dojít jak při odběru, tak při zpracování v laboratoři a je doporučeno tento stav nehodnotit jako pozitivní. Pokud by bylo nutné znát kauzální agens, je třeba opakovat odběr a celé mykologické vyšetření. Jak již bylo zmíněno, pozitivita přímého mikroskopického vyšetření biologického materiálu dermatologovi stačí k rozhodování o systémové terapii. V takovém případě však musí kliník zvážit, které systémové antimykotikum k léčbě použije.

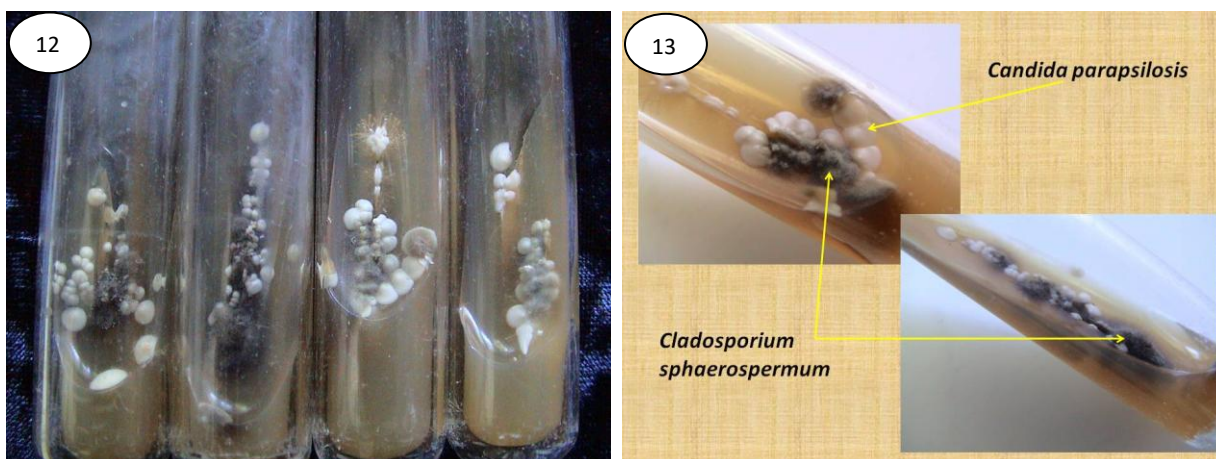
Při negativní přímé mikroskopii je rozhodování složité i při nálezu masivní čisté kultury houby saprofytního charakteru. V takovém případě se může jednat jak o etiologické agens, tak o masivní kontaminaci vzorku, což bývá pozorováno zvláště u vyšetření vzorků z nehtů dolních končetin, kde bývá problematická dekontaminace

alkoholem. Opět jako doporučení lze uvést, že je-li k dispozici zbytek příslušného biologického vzorku, zopakovat jeho přímou mikroskopii v KOH. Daleko výhodnější je však dohodnout s dermatologem opakování celého mykologického vyšetření na základě nového odběru.

Při nálezů směsi saprofytní mykoflóry (2 i více druhů současně) je nutno takový obraz hodnotit jako **masivní kontaminace**.

SMÍŠENÁ MYKÓZA

Jako smíšenou mykózu označujeme současný nález dvou mikromycet v jednom vyšetřovaném vzorku. Tento stav je spíše vzácností, nicméně je s ním potřeba také počítat a v případě výskytu velmi pečlivě zvážit své interpretační rozhodnutí, protože na něm závisí následující terapie. Jako nejčastěji možné přichází do úvahy kombinace dvou druhů/rodů, ze skupiny dermatofytů, nebo kombinace dermatofyta s kvasinkami. U dermatofytů může být kombinace se saprofytní houbou pouze raritním nálezem. To kombinace kvasinek a saprofytů jsou častější. V kterémkoli případě konkurentní mykózy je doporučeno pro verifikaci nálezů provést nový odběr a kompletní mykologické vyšetření. Ukázka jednoho z hledu identifikované smíšené infekce je na Obr. 12 a 13.



ZÁVĚR

Jako jakési nepodkročitelné minimum pro laboratorní diagnostiku dermatomykóz lze doporučit:

1. Splnit všechny obecné zásady dermatomykologického vyšetření a nepodcenit ani otázky komplexní anamnézy, zvláště z forenzních důvodů. Rovněž nepodcenit nutnost dekontaminace kožního ložiska před odběrem.
2. Jako zcela nepominutelné brát přímé mikroskopické vyšetření biologického materiálu pomocí louhového preparátu. Pokud bylo do laboratoře dodáno malé množství vzorku, má přímá mikroskopie přednost před kultivací.

3. Při kultivaci vzorku inokulovat menší částčky materiálu na větší počet kultivačních souprav a dodržet stabilní inkubační teplotu.
4. Při identifikaci a následné interpretaci nálezu mykotických agens pečlivě zvážit jejich možnou účast na infekčním procesu a při pochybnostech o jejich označení jako etiologické agens konzultovat situaci s klinikem a v případě nutnosti žádat o opakování mykologického vyšetření.

LITERATURA

Buchta V., Hamal P., Mallátová N., Kocmanová I., Chrenková V., Roubalová M. a Olišarová P.: Nepodkročitelné minimum laboratorní diagnostiky invazivních mykotických infekcí. Postgraduální medicína, 2010, roč. 12 (příloha 5, s. 76 – 81.

Campbell, C.K. et all. : Identification of Pathogenetic Fungi, Pub.Health Labor. Service, ISBN 0 901 14439 8, 298 stran, 1996

Fragner P., Hejtmánek M.: Určování dermatofytů. Univerzita Palackého v Olomouci, 1.vydání, 189 stran, 1990

Hoog de, G.S. et all.: Atlas of Clinical Fungi. 2. vydání, Centraalbureau voor Schimmelcultures, The Netherlands, ISBN 90-70351-43-9, stran 1126, 2000

Hubka V., Mencl K., Skorepova M., Lyskova P., Zalabska E.: Phaeohyphomycosis and onychomycosis due to *Chaetomium* spp., including the first report of *Chaetomium brasiliense* infection. Med. Mycol., 49(7), 724-733, 2011

Mallátová N., Mencl K., Tesařová M.: Mykologické vyšetřovací metody. (in ...) *Vnitř. Lék.*, 53(Suppl): S12-13, 2007

Mencl K.: Výskyt dermatofytóz nohou u vojáků základní služby. *Voj.Zdrav.Listy*, 51: 256-260, 1982

Mencl K.: Význam mikrokultur pro diagnostiku vláknitých mikromycetů. *Remedia Klin Mikrobiol.*, 3: 124 - 125, 1998

Mencl K.: Praktické zkušenosti z mykologické laboratoře (názorný appendix). *Postgrad.med.*, 12(příloha 5), 71-75, 2010

Otčenášek M., Dvořák J.: Pictorial Dictionary of Medical Mycology. Academia, 229 stran, 1973

Skořepová M.: Dermatomykologie v obrazech. Galén, ISBN 978-80-7262-465-2, 95 stran, 2008

Stuchlik D., Mencl K., Hubka V., Skorepova M.: Fungal melanonychia caused by *Onychocola canadensis*: first records of nail infections due to *Onychocola* in the Czech Republic. Czech. Mycol. 63(1), 83–91, 2011

Hubka V., Čmoková A., Skořepová M., Mallátová N., Dobiášová S., Lysková P., Mencl K., Janouškovcová H., Buchta V., Větrovský T., Kolařík M.: Současný vývoj v taxonomii dermatofytů a doporučení pro pojmenovávání klinicky významných druhů Čes-slov dermat, 89, 2014, No. 4, p. 149-212

Hubka V., Čmoková A., Peano A., Větrovský T., Dobiáš R., Mallátová N., Lysková P., Mencl K., Janouškovcová H., Stará J., Kuklová I., Doležalová J., Hamal P., Svobodová L., Koubková J., Kolařík M.: Zoonotické dermatofytózy: klinický obraz, diagnostika, etiologie, léčba, epidemiologická situace u nás Čes-slov Derm, 93, 2018, No. 6, p. 205–292

G. Sybren de Hoog, Dukik K., Monod M., Packeu A., Stubbe D., Hendrickx M., Kupsch Ch., Stielow J.B., Freeke J., Göker M., Rezaei-Matehkolaei A., Mirhendi H., Gräser Y.: Toward a Novel Multilocus Phylogenetic Taxonomy for the Dermatophytes. Mycopathologia (2017) 182 (5)–31