



DOI: 10.26898/0370-8799-2020-1-6

УДК: 632.401/08:616.5-002.828

## ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА *MICROSPORUM CANIS*

<sup>1</sup>Кухар Е.В., <sup>1</sup>Киян В.С., <sup>2</sup>Глотова Т.И., <sup>2</sup>Глотов А.Г.

<sup>1</sup>Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина

г. Нур-Султан, Республика Казахстан

<sup>2</sup>Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук  
Новосибирская область, р.п. Краснообск, Россия

**Для цитирования:** Кухар Е.В., Киян В.С., Глотова Т.И., Глотов А.Г. Фенотипические и молекулярно-генетические свойства *Microsporium canis* // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2020. Т. 50. № 1. С. 48–56. DOI: 10.26898/0370-8799-2020-1-6.

**For citation:** Kukhar E.V., Kiyan V.S., Glotova T.I., Glotov A.G. Fenotipicheskie i molekulyarno-geneticheskie svoystva *Microsporium canis* [Phenotypic and molecular genetic properties of *Microsporium canis*]. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki* [Siberian Herald of Agricultural Science], 2020, vol. 50, no. 1, pp. 48–56. DOI: 10.26898/0370-8799-2020-1-6.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

## PHENOTYPIC AND MOLECULAR GENETIC PROPERTIES OF *MICROSPORUM CANIS*

<sup>1</sup>Kukhar E.V., <sup>1</sup>Kiyan V.S.,  
<sup>2</sup>Glotova T.I., <sup>2</sup>Glotov A.G.

<sup>1</sup>S. Seifullin Kazakh AgroTechnical University  
Nur-Sultan, Republic of Kazakhstan

<sup>2</sup>Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences

Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russia

Проведены многолетние исследования (2012–2018) культур микроскопических грибов (дерматомицетов), выделенных от клинически больных кошек. Отбор проб биоматериала осуществлен от домашних животных с признаками поражения кожи и шерстного покрова в ветеринарных клиниках Республики Казахстан. Молекулярно-генетические исследования, видовая идентификация и определение свойств выделенных культур проведены с помощью утвержденных методических рекомендаций и определителей патогенных и условно-патогенных грибов. Изучены культурально-морфологические (фенотипические), кератинолитические, биохимические и молекулярно-генетические свойства основного вида микроскопических грибов, вызывающего дерматомикозы, – *Microsporium canis*. В результате исследований получены следующие четыре штамма гриба *Microsporium canis*: 13 Kz, 376 Kz, 384 Kz и 428 Kz. Изученные штаммы характеризовались разнообразием фенотипических свойств (формирование разных по морфологии колоний на пита-

Long-term studies (2012–2018) of cultures of microscopic fungi (dermatomycetes) isolated from clinically sick cats were carried out. Samples of biomaterial were taken from domestic animals with signs of skin and coat damage in veterinary clinics of the Republic of Kazakhstan. Molecular genetic studies, species identification and determination of the properties of selected cultures were carried out in accordance with the approved methodological recommendations and with the use of determinants of pathogenic and potentially pathogenic fungi. Cultural-morphological (phenotypic), keratinolytic, biochemical and molecular genetic properties of the main species of microscopic fungi that cause dermatomycosis – *Microsporium canis* were studied. As a result of research, four strains of the fungus *Microsporium canis*, 13 Kz, 376 Kz, 384 Kz, and 428 Kz, were obtained. The studied strains were characterized by a variety of phenotypic properties (they formed colonies with different morphology on nutrient media and had a different

тельных средах, разнообразная окраска воздушного и субстратного мицелия), сходством микроструктур (септированный бамбукообразный мицелий с характерным ветвлением, двухслойные веретенообразные макроконидии), биохимических свойств (наличие высокой сахаролитической и уреазной активности) и кератинолитической активностью. Фенотипические характеристики полностью соответствовали культуре микроскопического гриба *Microsporium canis*. Молекулярно-генетические исследования установили идентичность последовательностей полученных штаммов гриба *Microsporium canis* 13 Kz, 376 Kz, 384 Kz и 428 Kz с опубликованными в GenBank последовательностями штаммов EU181444.1, EF581130.1 и EF581129.1. Молекулярно-генетические исследования позволили идентифицировать полученные культуры дерматомицетов как анаморфную стадию *Microsporium canis*, а также как стадию телеоморфа (*Arthroderma otae*).

**Ключевые слова:** дерматомицеты, фенотипические свойства, штаммы, воздушный и субстратный м ицелий, макроконидии

## ВВЕДЕНИЕ

*Microsporium canis* – основной вид микроскопических грибов, вызывающих дерматомикозы, которые сопровождаются поражениями кожи и ее производных, передающихся от животного к человеку. В связи с тем, что грибы данной группы поражают кожу, их называют дерматофитами или дерматомицетами. Они широко распространены в природе, имеют большой набор ферментов, легко приспосабливаются к разнообразным источникам питания, могут развиваться на различных субстратах растительного и животного происхождения. По характеру метаболизма, химическому составу клеточных стенок и последовательности рибосомальной РНК данный вид микроскопических грибов относят к эумицетам, классу – аскомицеты. Долгое время их считали типичными представителями несовершенных грибов. Только к концу XX в. благодаря молекулярно-генетическим исследованиям у грибов установлено наличие совершенной стадии, выявлены половые формы – телеоморфы – представители рода *Arthroderma* семейства Arthrodermataceae [1].

color of air and substrate mycelium), as well as similar microstructures (they had septate bamboo-like mycelium with characteristic branching, bilayer spindle-shaped macroconidia), biochemical properties (the presence of high saccharolytic and urease activity) and keratinolytic activity. Phenotypic characteristics fully corresponded to the culture of the microscopic fungus *Microsporium canis*. Molecular genetic studies established the identity of the sequences of the obtained strains of the fungus *Microsporium canis* 13 Kz, 376 Kz, 384 Kz and 428 Kz with the sequences of strains EU181444.1, EF581130.1 and EF581129.1 published in GenBank. Molecular genetic studies made it possible to identify the cultures of dermatomycetes that were obtained as an anamorphic stage of *Microsporium canis*, as well as a teleomorph known as *Arthroderma otae*.

**Keywords:** dermatomycetes, phenotypic properties, strains, air and substrate mycelium, macroconidia

В литературе практически отсутствует информация о молекулярно-генетических свойствах *M. canis*, выделенных от домашних животных в Республике Казахстан. Чаще всего изучали только культурально-морфологические и биохимические свойства выделенных культур грибов [2–5].

Выявление *M. canis* посредством посева проб биоматериала, отобранного из очагов поражения животных, на агар Сабуро – самый информативный, но достаточно длительный метод исследования [3, 5, 6]. В условиях ветеринарных клиник диагностика заболевания, вызванного *M. canis*, большей частью ограничивается исследованием проб биоматериала от больных животных под лампой Вуда и их микроскопией, однако эти методы обладают достаточно низкой чувствительностью.

Изучение фенотипических и молекулярно-генетических свойств новых изолятов гриба *M. canis* необходимо для идентификации этиологического агента и его спецификации на уровне штамма. Исследователи ранее использовали различные молекулярные методы для этих целей: анализ полиморфизма

длины рестрикционных фрагментов митохондрий, секвенирование внутренней транскрибированной области (internal transcribed region – ITS) РНК, секвенирование генов, кодирующих белки, амплификацию полиморфной ДНК с произвольно праймированной ПЦР и ПЦР-фингерпринтинг [7–14]. Применение этих методов привело к значительному прогрессу в видовой идентификации и характеристике штаммов *M. canis*. В ходе исследований установлено, что рибосомные области, состоящие из внутренних транскрибированных областей (ITS-1 и ITS-2) являются вариабельными у *M. canis* [15]. Тест-системы на основе ПЦР, выявляющие регионы ITS, – ценный инструмент для видовой идентификации дерматофитов.

Цель исследований – изучение фенотипических и молекулярно-генетических свойств изолятов *Microsporium canis*, выделенных от клинически больных кошек на территории Республики Казахстан.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в 2012–2018 гг. в ветеринарных клиниках, где отбирали пробы биоматериала от животных с признаками поражения кожи. Молекулярно-генетические исследования проводили в национальной научной лаборатории биотехнологии коллективного пользования Национального центра биотехнологии (ННЛБ КП НЦБ) и лаборатории биотехнологии – диагностическом центре Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока Сибирского федерального научного центра агробιοтехнологий (ИЭВСиДВ СФНЦА РАН).

Поверхностное культивирование для выделения моноспоровых культур грибов и изучение их фенотипических свойств осуществляли на чашках Петри и блоках по Кадену с питательными средами: Сабуро, Чапека, медовый, кукурузный и картофельный агар при температуре 28 °С

Микроморфологию *M. canis* изучали в световом микроскопе при увеличениях 40

и 400. Для этой цели готовили нативные в 50%-м растворе глицерина и окрашенные по Граму препараты через 24, 48, 72 ч и более роста грибов. Видовую идентификацию выделенных культур и определение у них кератинолитической активности проводили с помощью определителя патогенных и условно-патогенных грибов<sup>1</sup>.

Для изучения биохимических свойств у выделенных культур грибов использовали среды Гисса с глюкозой, лактозой, маннозой, маннитом, сахарозой (сахаролитическая активность), среду Кристенсена с 40%-й мочевиной (уреазная активность).

Получение ДНК грибов проводили по описанной методике [16]. Для выделения ДНК использовали цетилтриметиламмония бромид (ЦТАБ). К 0,1 г лиофилизированного мицелия в ступке добавляли жидкий азот и измельчали клетки. Для выделения геномной ДНК измельченный мицелий переносили в пробирку Эппендорфа и добавляли 700 мкл буфера для лизиса (2% ЦТАБ) с добавлением 0,2% (мас./об. – массы к объему) В-меркаптоэтанола (Biomatic). Смесь инкубировали при 65 °С в течение 40 мин. Добавляли равный объем хлороформа к объему изоамилового спирта (24 : 1 об./об. – объема к объему). После гомогенизации смеси и центрифугирования при 13 000 об/мин в течение 10 мин при 4 °С супернатант ресуспендировали в стерильную пробирку Эппендорфа. ДНК осаждали двумя объемами холодного 2-пропанола с добавлением 10% (мас./об.) натрий ацетатного буфера (3 М, рН 8) при минус 20 °С в течение 2 ч, дважды промывали 500 мкл 70% этанола, просушивали и ресуспендировали в 100 мкл ТЕ-буфера (40 ММ Трис/НСl, рН 8,0, 2 мМ ЭДТА). Конечную ДНК обрабатывали РНКазой при инкубации при 37 °С в течение 30–60 мин. ДНК элюировали в конечном объеме 200 мкл, разводили до концентрации 50 нг/мкл в воде класса ПЦР. Образцы ДНК хранили при минус 20 °С для дальнейшего использования.

<sup>1</sup> Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов: пер. с англ. М.: Мир. 2001. 486 с.

Проведена ПЦР-амплификация внутренних транскрибируемых спейсерных (ITS) областей рибосомальной ДНК (рДНК). Область ITS1-5,8S-ITS2 кластера генов ядерной рДНК амплифицирована с использованием пары праймеров: ITS1 (5'-TCGGTAGGTGAACCTGCGG-3'); TS4 (5'-CCTCCGCTTATTGATATGC-3') [17].

ПЦР проводили в общем реакционном объеме 25 мкл, содержащем 5 мкл 5X буфера (Promega), 1 мкл dNTP (20 мМ), 1,5 мкл MgCl<sub>2</sub> (25 мМ), 0,25 U (5 U/мкл) ДНК-полимеразы Taq. 2 мкл праймера (20 пмоль/мкл) и 2 мкл геномной ДНК (50 нг/мкл). Программа амплификации включала в себя начальную денатурацию при 95 °С в течение 3 мин, затем 35 циклов денатурации при 98 °С (15 с), отжиг при 59 °С (60 с), удлинение при 72 °С (120 с) и окончательный период продления 10 мин при 72 °С в термоциклере Biometra (Германия). После амплификации продукты ПЦР подвергали электрофорезу в 1,5%-х агарозных гелях, забуференных 0,5X TBE (4,5 мМ Tris, 4,5 мМ борной кислоты и 1 мМ EDTA, рН 8), окрашивали бромидом этидия и фотографировали.

Продукты ПЦР очищали ферментативными методами с использованием ExoI и SAP, затем последовательности определяли путем секвенирования циклов. Секвенирование проводили с применением BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) согласно инструкции производителя, с последующим разделением фрагментов на автоматическом генетическом анализаторе 3730 × 1 DNA Analyzer (Applied Biosystems) [18–22].

Для сравнительного анализа использовали последовательности штаммов *M. canis* (EU181444.1, EF581130.1, EF581129.1) и *Arthroderma otae* (AB193649.1, AB193632.1, AB193630.1), опубликованные в GenBank.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате микологического исследования проб биоматериала от кошек получены четыре штамма гриба *M. canis*: 13 Kz, 376 Kz, 384 Kz и 428 Kz. Установлено, что

они отличались разнообразием фенотипических признаков (см. рис. 1).

Штамм *M. canis* 13 Kz формировал на агаре Сабуро пушистые круглые, со стелющимся, белым с желтовато-серым оттенком, слегка порошистым в центре воздушным мицелием с исчерченными радиально колониями. Обратная сторона колонии и субстратный мицелий на агаре Сабуро окрашены в оранжево-коричневый цвет. По краю колонии отмечали формирование пушистого мицелия в виде тонких нитей как на поверхности, так и в глубине агара.

Зрелые колонии штамма *M. canis* 376 Kz выглядели мучнистыми и бугристыми в центре. Обратная сторона имела оранжево-коричневый цвет, субстратный мицелий интенсивно желтый. Край колонии представлен в виде клочков ваты, рост субстратного мицелия выражен слабо.

Штамм *M. canis* 384 Kz формировал комковатые в центре и слабо радиально исчерченные на периферии колонии. Воздушный мицелий окрашивался в бело-серый цвет, субстратный – в оранжево-коричневый.

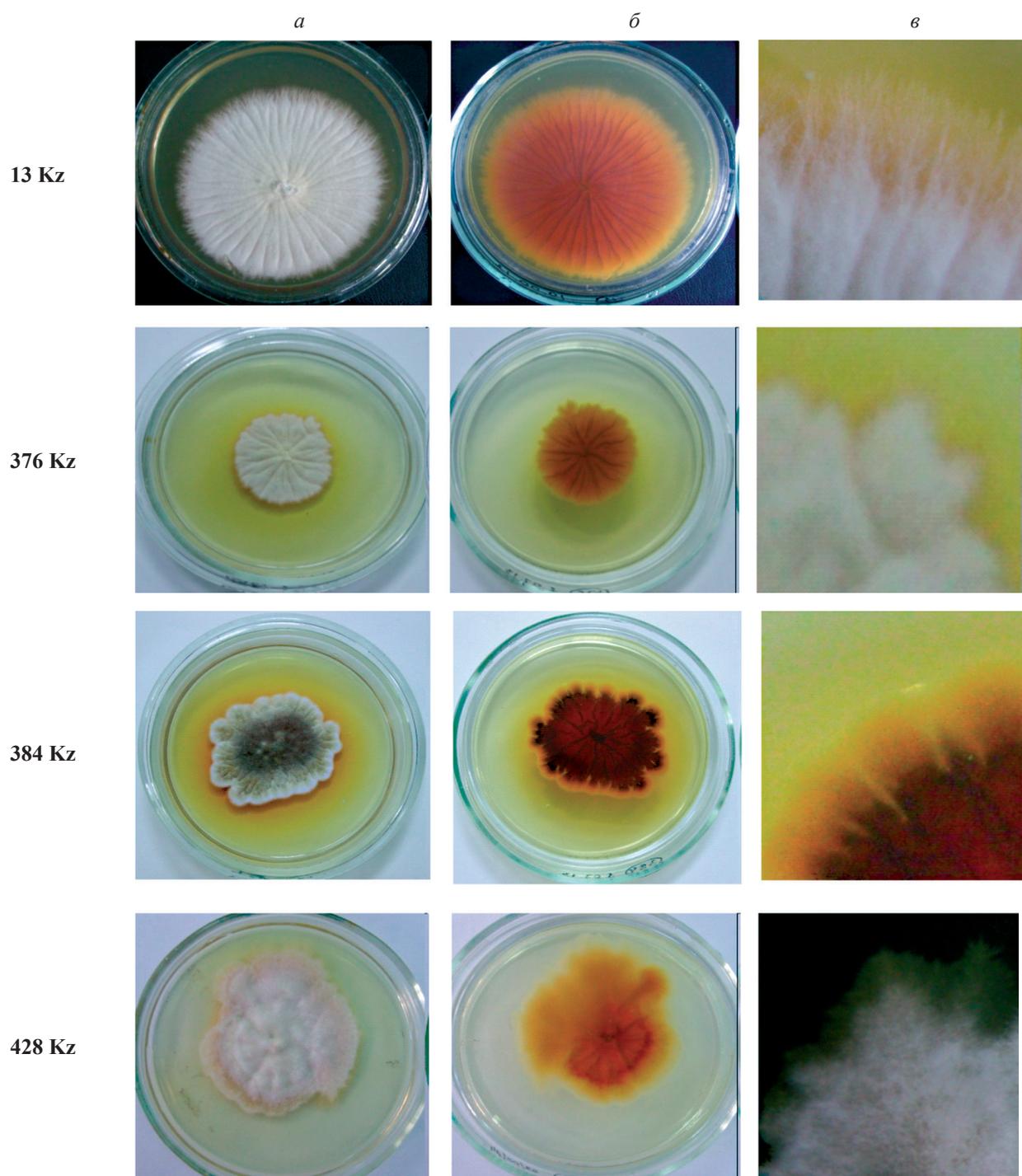
Штамм *M. canis* 428 Kz рос в виде пушистых белых, местами комковатых, неправильной формы с выраженной зональностью колоний. Обратная сторона имела оранжевый цвет. Растущий край колонии *M. canis* отмечен неровным, субстратный мицелий – хорошо выражен в глубине агара.

У всех штаммов гриба *M. canis* выявлено наличие сходных микроструктур – септированного бамбукообразного мицелия с характерным ветвлением (см. рис. 2).

У штамма *M. canis* 376 Kz выявили септированный прямой бесцветный мицелий, 13 Kz и 384 Kz – септированный бамбукообразный, у штамма 428 Kz – септированный бесцветный с выраженным ветвлением.

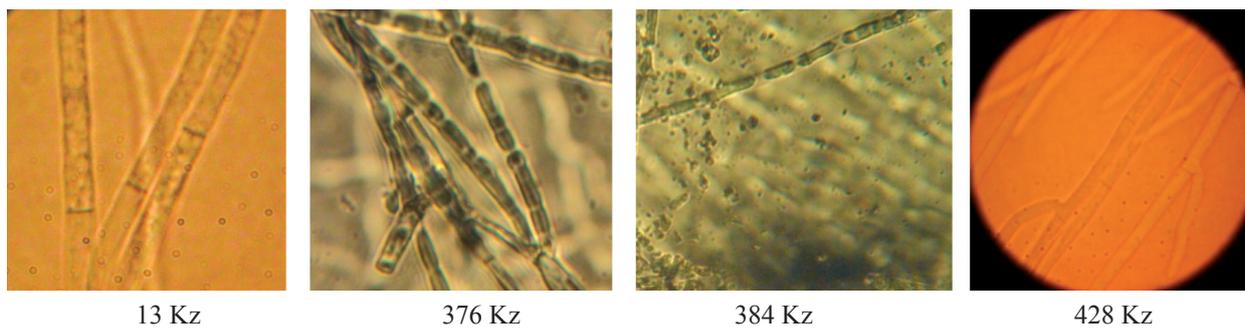
В результате микроскопии у всех штаммов *M. canis* выявлены однообразные, характерные веретенообразные макроконидии с двухконтурной клеточной стенкой (см. рис. 3).

Анализ биохимических свойств позволил выявить у всех тестируемых штаммов гриба *M. canis* выраженную сахаролитическую и уреазную активность.



**Рис. 1.** Колонии штаммов *Microsporium canis* 13 Kz, 376 Kz, 384 Kz и 428 Kz, агар Сабуро, 28 °С, 25 сут (а – лицевая сторона, б – обратная сторона, в – край колонии)

**Fig. 1.** Colonies of strains of *Microsporium canis* 13 Kz, 376 Kz, 384 Kz and 428 Kz, Saburo agar, 28 °C, 25 days (a – front side, b – back side, c – the edge of the colony)



**Рис. 2** Строение мицелия у штаммов *Microsporium canis* на агаровых блоках с агаром Сабуро, 28 °С, × 400, 6 сут

**Fig. 2.** The structure of mycelium in strains of *Microsporium canis* on agar blocks with Saburo agar, 28 °С, × 400, 6 days



**Рис. 3.** Морфология макроконидий *Microsporium canis* на агаровых блоках с агаром Сабуро, 28 °С, × 400, 14 сут

**Fig. 3.** Morphology of macroconidia *Microsporium canis* on agar blocks with Saburo agar, 28 °С, × 400, 14 days

Все выделенные штаммы *M. canis* проявили выраженную кератинолитическую активность при проведении теста на перфорацию волоса, что является доказательством их этиологической роли в выявленной патологии кожи и ее производных у домашних животных.

При идентификации культур зоофильных штаммов *Microsporium* spp., выделенных от домашних кошек стандартным диагностическим методом, проведенным посредством посева проб биоматериала на глюкоз-

ный агар Сабуро, установлено следующее. Фенотипически все штаммы 13 Kz, 376 Kz, 384 Kz и 428 Kz являлись видом *M. canis*, обладали характерными культуральными и морфологическими признаками. Также штаммы практически не отличались по наличию сахаролитической активности. Все четыре штамма активно сбраживали глюкозу, сахарозу, мальтозу, лактозу и маннит, которые входили в состав среды Гисса. Штамм 13 Kz отличался от других штаммов более слабо выраженной уреазной активностью.

Установлено, что классическая морфологическая диагностика достаточно достоверно позволяет идентифицировать штаммы *M. canis*. На высокий процент диагностической достоверности указывает и наличие клинически выраженных признаков заболевания у больных животных.

В результате молекулярно-генетических исследований культуры дерматомицетов идентифицировали как анаморфную стадию *M. canis* и в то же время – как стадию телеоморфа (*Arthroderma otae*). Подтверждено, что выделенные от кошек микроскопические грибы принадлежали роду *Microsporium*, виду *canis*. Нуклеотидные последовательности штамма *M. canis* 376 Kz депонированы в GenBank под номером SUB6566355 Seq\_376-Kz MN661346. Анализ нуклеотидной последовательности штаммов *M. canis* посредством анализа ITS региона подтвердил результаты изучения их культурально-морфологических и биохимических свойств.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Штаммы дерматомицетов, выделенные от клинически больных кошек на территории Республики Казахстан, в результате исследований определены как представители зоофильных дерматофитов *Microsporium canis*. Штаммы *M. canis* характеризуются разнообразием фенотипических признаков, наличием типичных морфологических структур, сахаролитической, уреазной и кератинолитической активностью. Анализ нуклеотидных последовательностей внутренних транскрибированных областей позволил подтвердить результаты изучения культурально-морфологических свойств выделенных культур гриба и идентифицировать штаммы как анаморфы *Microsporium canis* и как телеоморфы *Arthroderma otae*.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Weitzman I., McGinnis M.R., Padhye A., Ajello L. The genus *Arthroderma* and its later synonym *Nannizzia*. *Mycotaxon*. 1986. Vol. 25. P. 505–518.
2. Глотова Т.И. Вспышка микроспории у домашних кошек // *Ветеринария*. 1997. № 11. С. 47–50.
3. Глотова Т.И. Дерматомикозы собак и кошек в условиях города // *Ветеринария*. 1998. № 1. С. 32–33.
4. Шалаев И.М., Глотова Т.И., Тузунова Т.Б., Лайшев К.А., Глотов А.Г. Особенности распространения и лечения дерматофитозов собак и кошек в условиях Крайнего Севера // *Российский ветеринарный журнал*. 2007. № 3. С. 6–9.
5. Кухар Е.В., Глотова Т.И., Глотов А.Г. Серологическая диагностика микроспории у собак и кошек // *Российский ветеринарный журнал*. Мелкие домашние и дикие животные. 2016. № 4. С. 6–9.
6. Frymus T., Gruffydd-Jones T., Pennisi M.G., Addie D., Belák S., Boucraut-Baralon C., Egberink H., Hartmann K., Hosie M.J., Lloret A., Lutz H., Marsilio F., Möstl K., Radford A.D., Thiry E., Truyen U., Horzinek M.C. Dermatophytosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management // *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 2013. Vol. 15(7). P. 598–604. DOI: 10.1177/1098612X13489222.
7. Kawasaki M., Aoki M., Ishizaki H., Nishimura K., Miyaji M. Phylogeny of *Epidermophyton floccosum* and other dermatophytes // *Mycopathologia*. 1996. Vol. 134 (3). P. 121–128. DOI: 10.1007/bf00436718.
8. Graser Y., Kuijpers A.F., El Fari M., Presber W., De Hoog G.S. Molecular and conventional taxonomy of the *Microsporium canis* complex // *Medical Mycology*. 2000. Vol. 38. P. 143–153. DOI: 10.1080/mmy.38.2.143.153.
9. Sharma R., Rajak R.C., Pandey A.K., Graser Y. Internal Transcribed Spacer (ITS) of rDNA of appendaged and non-appendaged strains of *Microsporium gypseum* reveals *Microsporium appendiculatum* as its synonym // *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2006. Vol. 89 (1). P. 197–202. DOI: 10.1007/s10482-005-9018-x.
10. Jung H.J., Kim S.Y., Jung J.W., Park H.J., Lee Y.W., Choe Y.B., Ahn K.J. Identification of dermatophytes by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis of metalloproteinase-1 // *Ann Dermatol*. 2014. Vol. 26 (3). P. 338–342.
11. Kano R., Okabayashi K., Nakamura Y., Ooka S., Kashima M., Mizoguchi M. Differences among chitin synthase 1 gene sequences in *Trichophyton rubrum* and *T. violaceum* // *Medical Mycology*. 2000. Vol. 38 (1). P. 47–50. DOI: 10.1080/mmy.38.1.47.50.
12. Mochizuki T., Tanabe H., Kawasaki M., Ishizaki H., Jackson C.J. Rapid identification of *Trichophyton tonsurans* by PCR-RFLP analysis of ribosomal DNA regions // *Journal of Dermatological Science*. 2003. Vol. 32 (1). P. 25–32. DOI: 10.1016/s0923-1811(03)00030-6.
13. Liu D., Coloe S., Baird R., Pedersen J. // Application of PCR to the identification of dermatophyte fungi. *Journal of Medical Microbiology*. 2000. Vol. 49 (6). P. 493–497. DOI: 10.1099/0022-1317-49-6-493
14. Graser Y., El Fari M., Presber W., Sterry W., Tietz H.J. Identification of common dermatophytes (*Trichophyton*, *Microsporium*, *Epidermophyton*) using polymerase chain reactions // *British Journal of Dermatology*. 1998. Vol. 138 (4). P. 576–582. DOI: 10.1046/j.1365-2133.1998.02165.x.
15. Turin L., Riva F., Galbiati G., Cainelli T. Fast simple and highly sensitive double-rounded polymerase chain reaction assay to detect medically relevant fungi in dermatological specimens // *European Journal of Clinical Investigation*. 2000. Vol. 30 (6). P. 511–518. DOI: 10.1046/j.1365-2362.2000.00659.x.
16. Sadfi-Zouaoui N., Hannachi I., Rouaissi M., Hajlaoui M.R., Rubio M.B., Monte E., Boudabous A., Hermosa M.R. Biodiversity of *Tricho-*

- derma* strains in Tunisia // Canadian Journal of Microbiology. 2009. Vol. 55 (2). P. 154–162. DOI: 10.1139/w08-101.
- White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, T.J. White (ed.). PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, Inc., New York, 1990. P. 315–322.
  - White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: a guide to methods and applications. USA. New York: Academic Press, 1990. 482 p.
  - Werle E., Schneider C., Renner M., Völker M., Fiehn W. Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing // Nucleic Acids Research. 1994. Vol. 22. P. 4354–4355. DOI: 10.1093/nar/22.20.4354.
  - Korf I., Yandell M., Bedell J. BLAST. O'Reilly Media, 2003. 360 p.
  - Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment // Briefings in bioinformatics. 2004. Vol. 5. P. 150–163.
  - Clayton R.A., Sutton G., Hinkle P.S., Bult Jr.C., Fields C. Intraspecific variation in small-subunit rRNA sequences in GenBank: why single sequences may not adequately represent prokaryotic taxa // International Journal of Systematic Bacteriology. 1995. Vol. 45. P. 595–599. DOI: 10.1099/00207713-45-3-595.
- ## REFERENCES
- Weitzman I., McGinnis M.R., Padhye A., Ajello L. The genus *Arthroderma* and its later synonym *Nannizzia*. *Mycotaxon*, 1986, vol. 25, pp. 505–518.
  - Glотова Т.И. Вспышка микроспории у домашних кошек [Microsporia outbreak in domestic cats]. *Veterinariya* [Veterinary Science], 1997, vol. 11, pp. 47–50 (In Russian).
  - Glотова Т.И. Дерматомикозы собак и кошек в условиях города [Dermatomycosis of dogs and cats in the city]. *Veterinariya* [Veterinary Science], 1998, vol. 1, pp. 32–33 (In Russian).
  - Shalaev I.M., Glотова Т.И., Тугунова Т.Б., Лажшев К.А., Глотов А.Г. Особенности распространения и лечения дерматофитозов собак и кошек в условиях Крайнего Севера [Features of the spread and treatment of dermatophytosis in dogs and cats in the Far North]. *Rossiiskij veterinarnyj zhurnal* [Russian Veterinary Journal], 2007, vol. 3, pp. 6–9. (In Russian).
  - Kuhar E.V., Glotova T.I., Glotov A.G. Serologicheskaya diagnostika mikrosporii u sobak i koshek [Serological diagnosis of microsporia in dogs and cats] *Rossiiskij veterinarnyj zhurnal. Melkie domashnie i dikiye zhivotnye* [Russian Veterinary Journal. Small pets and wild animals] 2016, vol. 4, pp. 6–9. (In Russian).
  - Frymus T., Gruffydd-Jones T., Pennisi M.G., Addie D., Belák S., Boucraut-Baralon C., Egberink H., Hartmann K., Hosie M.J., Lloret A., Lutz H., Marsilio F., Möstl K., Radford A.D., Thiry E., Truyen U., Horzinek M.C. Dermatophytosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 2013, vol. 15 (7), pp. 598–604. DOI: 10.1177/1098612X13489222.
  - Kawasaki M., Aoki M., Ishizaki H., Nishimura K., Miyaji M. Phylogeny of Epidermophyton floccosum and other dermatophytes. *Mycopathologia*, 1996, vol. 134 (3), pp. 121–128. DOI: 10.1007/bf00436718.
  - Graser Y., Kuijpers A.F., El Fari M., Presber W., De Hoog G.S. Molecular and conventional taxonomy of the *Microsporium canis* complex. *Medical Mycology* 2000, vol. 38, pp. 143–153. DOI: 10.1080/mmy.38.2.143.153.
  - Sharma R., Rajak R.C., Pandey A.K., Graser Y. Internal Transcribed Spacer (ITS) of rDNA of appendaged and non-appendaged strains of *Microsporium gypseum* reveals *Microsporium appendiculatum* as its synonym. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2006, vol. 89 (1), pp. 197–202. DOI: 10.1007/s10482-005-9018-x.
  - Jung H.J., Kim S.Y., Jung J.W., Park H.J., Lee Y.W., Choe Y.B., Ahn K.J. Identification of dermatophytes by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis of metalloproteinase-1. *Ann Dermatol*, 2014, vol. 26 (3), pp. 338–342.
  - Kano R., Okabayashi K., Nakamura Y., Ooka S., Kashima M., Mizoguchi M. Differences among chitin synthase 1 gene sequences in *Trichophyton rubrum* and *T. violaceum*. *Medical Mycology*, 2000, vol. 38 (1), pp. 47–50. DOI: 10.1080/mmy.38.1.47.50.
  - Mochizuki T., Tanabe H., Kawasaki M., Ishizaki H., Jackson C.J. Rapid identification of *Trichophyton tonsurans* by PCR-RFLP analysis of ribosomal DNA regions. *Journal of Dermatological Science*, 2003, vol. 32 (1), pp. 25–32. DOI: 10.1016/s0923-1811(03)00030-6.

13. Liu D., Coloe S., Baird R., Pedersen J. Application of PCR to the identification of dermatophyte fungi. *Journal of Medical Microbiology*, 2000, vol. 49 (6), pp. 493–497. DOI: 10.1099/0022-1317-49-6-493.
14. Graser Y., El Fari M., Presber W., Sterry W., Tietz H.J. Identification of common dermatophytes (Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton) using polymerase chain reactions. *British Journal of Dermatology*, 1998, vol. 138 (4), pp. 576–582. DOI: 10.1046/j.1365-2133.1998.02165.x.
15. Turin L., Riva F., Galbiati G., Cainelli T. Fast simple and highly sensitive double-rounded polymerase chain reaction assay to detect medically relevant fungi in dermatological specimens. *European Journal of Clinical Investigation*, 2000, vol. 30 (6), pp. 511–518. DOI: 10.1046/j.1365-2362.2000.00659.x.
16. Sadfi-Zouaoui N., Hannachi I., Rouaissi M., Hajlaoui M.R., Rubio M.B., Monte E., Boudabous A., Hermosa M.R. Biodiversity of Trichoderma strains in Tunisia. *Canadian Journal of Microbiology*, 2009, vol. 55 (2), pp. 154–162. DOI: 10.1139/w08-101.
17. White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J. (ed.). *PCR protocols: a guide to methods and applications*. New York, Academic Press, Inc., 1990, pp. 315–322.
18. White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: a guide to methods and applications*. USA. New York: Academic Press, 1990, 482 p.
19. Werle E., Schneider C., Renner M., Volker M., Fiehn W. Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing. *Nucleic Acids Research*, 1994, vol. 22, pp. 4354–4355. DOI: 10.1093/nar/22.20.4354.
20. Korf I., Yandell M., Bedell J. *BLAST*. O'Reilly Media, 2003, 360 p.
21. Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in bioinformatics*. 2004, vol. 5, pp. 150–163.
22. Clayton R.A., Sutton G., Hinkle P.S., Bult Jr. C., Fields C. Intraspecific variation in small-subunit rRNA sequences in GenBank: why single sequences may not adequately represent prokaryotic taxa. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1995, vol. 45, pp. 595–599. DOI: 10.1099/00207713-45-3-595.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Кухар Е.В.**, доктор биологических наук, доцент, e-mail: kucharev@mail.ru

**Киян В.С.**, доктор PhD, руководитель, e-mail: vskiyan@gmail.com

✉ **Глотова Т.И.**, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, **адрес для переписки:** Россия, 630501, Новосибирская область, р.п. Краснообск; СФНЦАРАН, а/я 463, e-mail: t-glotova@mail.ru

**Глотов А.Г.**, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий лабораторией, e-mail: glotov\_vet@mail.ru

#### AUTHOR INFORMATION

**Kukhar E.V.**, Doctor of Science in Biology, Assistant Professor, e-mail: kucharev@mail.ru

**Kiyan V.S.**, PhD, Head, e-mail: vskiyan@gmail.com

✉ **Glotova T.I.**, Doctor of Science in Biology, Professor, Head Researcher; **address:** PO Box 463, SFSCA RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, 630501, Russia, e-mail: t-glotova@mail.ru

**Glotov A.G.**, Doctor of Science in Veterinary Medicine, Professor, Head of the Laboratory, e-mail: glotov\_vet@mail.ru

Дата поступления статьи 27.12.2019  
Received by the editors 27.12.2019