

РОЛЬ ГРИБОВ В ЭТИОЛОГИИ МАССОВЫХ КОЖНЫХ ПОРАЖЕНИЙ У СОБОЛЯ *Martes zibellina* L. 1758 В ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ\*

Р.С. ОВЧИННИКОВ<sup>1</sup> ✉, А.В. ЖИГАЛИН<sup>2, 3</sup>, А.Г. ГАЙНУЛЛИНА<sup>1</sup>,  
А.Г. ЮЖАКОВ<sup>1</sup>, О.Ю. ТЮТЕНЬКОВ<sup>2</sup>, В.А. САВИНОВ<sup>1</sup>, Н.С. МОСКВИТИНА<sup>2</sup>,  
А.В. КАПУСТИН<sup>1</sup>, А.И. ЛАЙШЕВЦЕВ<sup>1</sup>, А.М. ГУЛЮКИН<sup>1</sup>

Массовые кожные заболевания у промысловых соболей (*Martes zibellina* L. 1758) на территории Сибири известны с XVIII века, однако их этиология до сих пор недостаточно изучена. Заболевание поражает до 62 % промысловых соболей, вызывая повреждения кожного покрова, и наносит серьезный экономический ущерб. В настоящей работе впервые установлено, что в этиологии кожного заболевания соболей участвуют кератинофильные грибы-дерматофиты различных видов, часть из которых впервые обнаружена на территории Российской Федерации. Целью работы было выявление и идентификация клинически значимых микроскопических грибов у соболей с проявлениями кожных заболеваний. Патологический материал (волосы, корочки), отобранные с пораженных участков шкур диких соболей (*Martes zibellina*), добытых при пушном промысле сезона 2018-2019 годов в разных районах Томской области. Всего было изучено 28 образцов патологического материала. Микологическое исследование включало тест с лампой Вуда, прямую микроскопию патологического материала, посев на микологические среды с последующей идентификацией выделенных культур грибов. Посев проводили на дифференциально-диагностическую среду для дерматофитов ДТМ-Эксперт (ФНЦ ВИЭВ РАН, Россия) и на среду Сабуро с хлорамфениколом («HiMedia Laboratories Pvt. Ltd.», Индия). Посевы инкубировали в аэробных условиях при 26-28 °С, срок инкубирования — до 21 сут. Для изучения культурально-морфологических признаков делали пересев культур уколом на агар Сабуро в чашках Петри, инкубировали 10-14 сут. Для молекулярно-генетической идентификации отбирали изолированные колонии грибов, выращенных на среде Сабуро в течение 10 сут при 26-28 °С. ДНК выделяли с помощью набора GeneJET Plant Genomic DNA Purification Kit («Thermo Fisher Scientific», США) в соответствии с инструкцией изготовителя. Полученную ДНК использовали для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР). Секвенировали участки внутреннего транскрибируемого спейсера гена рибосомальной РНК (ITS). Филогенетический анализ полученных нуклеотидных последовательностей проводили с помощью приложения SeqMan (DNASTAR Lasergene v.7.1.0, <https://www.dnastar.com/software/lasergene/>). Выравнивание последовательностей с имеющимися в базе данных GenBank выполняли с использованием пакета программ Standard Nucleotide BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Нуклеотидные последовательности, представляющие особый интерес, депонированы в базе данных GenBank NCBI. При осмотре шкур соболей были обнаружены кожные поражения, которые локализовались в основном в области спины, поясницы, боков и характеризовались выпадением остевых волос, алопециями, образованием корочек и струпьев. Часто в области поражений со стороны мездры имелись темные пятна. Поражения наблюдали как у самцов, так и у самок, преимущественно у молодняка. Образцы патологического материала представляли собой слипшиеся пучки волос (пуховые, реже остевые) с засохшими корочками и чешуйками у основания. Результат люминесцентного теста с лампой Вуда во всех образцах был отрицательным. При микроскопии наблюдали пучки слипшихся пуховых волос и большое количество гнилого дебриса, затрудняющего обнаружение грибных элементов. В результате культурального микологического анализа была выделена 51 культура, идентифицировано 18 таксонов (видов и родов) грибов. При этом из 12 % образцов были изолированы кератинофильные грибы-дерматофиты (*Arthroderma uncinuli*, *Chrysosporium carmichaelii*, *Chrysosporium* spp.), вероятно, выступающие в качестве этиологических агентов дерматоза. Рост дерматофитов наблюдался только на селективной дифференциально-диагностической среде ДТМ-Эксперт, на обычных средах росли быстрорастущие недерматофитные грибы. Также были изолированы недерматофитные грибы с кератинолитическими свойствами — *Scopulariopsis brevicaulis* (16 %), *Acremonium* spp. (14 %), *Aspergillus* spp. (36 %), которые могут выступать в качестве вторичных оппортунистических патогенов.

Ключевые слова: патогенные грибы, микозы животных, дерматомикозы, дерматофиты, *Arthroderma*, *Chrysosporium*, соболь, *Martes zibellina*.

\* Исследование выполнено в рамках государственных заданий Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проекты № 0721-2020-00190 и № FGUG-2022-0009) и при поддержке гранта РФФИ 20-04-60010 «Изучение разнообразия, циркуляции и патогенного потенциала коронавирусов в природных резервуарах на территории Западной и Восточной Сибири».

В последние десятилетия среди домашних и диких животных отмечают резкий всплеск заболеваемости оппортунистическими микозами. Некоторые микозы высококонтагиозны, способны вызывать летальный исход и поражать значительные популяции в природе (1). Характерные примеры — хитридиомикоз амфибий, синдром белого носа (white nose syndrome, WNS) у рукокрылых, грибковая болезнь змей (snake fungal disease, SFD) (2-4). Микогенные инфекции наносят значительный ущерб биоразнообразию природных экосистем. При поражении промысловых животных микозы также приводят к существенным экономическим потерям.

В этой связи важное значение приобретает детальное изучение микобиоты диких животных, которая может быть представлена как контаминантами и сапробионтами, так и потенциально патогенными видами грибов (патобионтами). При исследовании микробиома человека и животных акцент делается на прокариотах, в то время как грибы изучены в гораздо меньшей степени (5). Видовой состав микобиоты диких животных в Российской Федерации и за рубежом изучен недостаточно (6).

Некоторые представители микобиоты животных могут быть опасны для человека, то есть имеют эпидемиологическое значение. Так, возбудители адиаспиромикоза способны вызывать респираторные микозы (7). В 2015 году обнаружен новый вид *Emmonsia* spp., вызывающий не только респираторные, но и диссеминированные микозы, при этом отмечен резкий рост заболеваемости (8). В 2018 году в Бразилии было предпринято одно из первых эколого-эпидемиологических исследований по детекции грибных патогенов у диких животных. Грибы обнаружили в 102 из 1063 образцов, в том числе патогенные виды — в 89 образцах (9).

В России важное промысловое значение имеют представители семейства Куны (*Mustelidae*), куда входят виды с ценным мехом, включая соболя (*Martes zibellina* L. 1758).

Первые упоминания о кожном заболевании вольных соболей в Сибири встречались еще в XVIII веке, однако его этиология долгие годы оставалась невыясненной. Заболевание регистрируют по всему ареалу вида. Микогенным инфекциям диких соболей посвящена единственная отечественная работа Н.Д. Степаненко, написанная в конце 1960-х годов, длительное время закрытая для читателей и переизданная только в 2007 году (10). В ней описана массовая грибная инфекция соболей, протекающая в форме хронических кожных поражений и наносящая огромный экономический ущерб пушному промыслу. Н.Д. Степаненко с коллегами впервые провели микологическое исследование пораженных шкур. В большинстве образцов были выделены грибы рода *Cephalosporium* (syn. *Acremonium*), которые названы в качестве возбудителей заболевания.

В 1960-е годы кожные дефекты, известные как «оспины», поражали до 70 % промысловых сибирских соболей (10). В настоящее время кожные поражения по-прежнему носят массовый характер. О.Ю. Тютеньков с соавт. (11) провели осмотр более 2 тыс. шкурок соболей в заготовительных организациях, а также анкетный опрос охотников. В объединенной выборке была выявлена значительная доля пораженных шкурок —  $53,5 \pm 1,1$  % (11). По мнению авторов, массовые кожные поражения соболей вызваны грибами, однако надлежащие микологические диагностические исследования до сих пор не проводились.

В настоящей работе впервые установлено, что в этиологии кожного заболевания соболей участвуют кератинофильные грибы-дерматофиты различных видов, часть из которых впервые обнаружена на территории РФ.

Целью работы было выявление и идентификация клинически зна-

чимых микроскопических грибов у соболей с проявлениями кожных заболеваний.

*Методика.* Патологический материал (волосы, корочки) отбирали с пораженных участков шкур диких соболей (*Martes zibellina*), добытых при пушном промысле сезона 2018–2019 годов в различных районах Томской области: Колпашевский район — 3 пробы, Бакчарский район — 19 проб, южные районы (Томский, Кожевниковский и Шегарский) — 6 проб. Всего было изучено 28 образцов патологического материала.

Микологическое исследование включало тест с лампой Вуда, прямую микроскопию патологического материала, посев на микологические среды с последующей идентификацией выделенных культур грибов. Посев проводили на дифференциально-диагностическую среду для дерматофитов ДТМ-Эксперт (ФНЦ ВИЭВ РАН, Россия) и на среду Сабуро с хлорамфениколом («HiMedia Laboratories Pvt. Ltd.», Индия).

Посевы инкубировали в аэробных условиях при 26–28 °С, срок инкубирования — до 21 сут. Для изучения культурально-морфологических признаков делали пересев культур уколком на агар Сабуро в чашках Петри, инкубировали 10–14 сут. Готовили препараты культур грибов (раздавленная капля) и микроскопировали в сухой системе микроскопа Microoptix MX 100 («West Medica», Австрия) при увеличении  $\times 100$  и  $\times 400$ .

Видовую фенотипическую идентификацию грибов проводили в соответствии с определителем (12).

Для прямой микроскопии готовили препараты патологического материала в 15 % растворе гидроксида калия (КОН) и микроскопировали при  $\times 100$  и  $\times 400$ .

Для молекулярно-генетической идентификации отбирали изолированные колонии грибов, выращенных на среде Сабуро в течение 10 сут при 26–28 °С. ДНК выделяли с помощью набора GeneJET Plant Genomic DNA Purification Kit («Thermo Fisher Scientific», США) в соответствии с инструкцией изготовителя. Полученную ДНК использовали для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Для амплификации внутреннего транскрибируемого спейсера рибосомальной РНК (ITS) использовали праймеры (5' → 3'): ITS1Fwfun TTGGT-CATTTAGAGGAAGTAAAGTC; ITS1Rvfun CTGCGTTCTTCATCGATGC. Амплификацию (амплификатор DTprime 5, ООО «ДНК-Технологии», Россия) проводили в следующем температурном режиме: 5 мин при 94 °С; 15 мин при 94 °С; 20 с при 50 °С; 20 с при 72 °С (35 циклов); 5 мин при 72 °С.

Секвенировали участки внутреннего транскрибируемого спейсера гена рибосомальной РНК (ITS) с теми же праймерами. Секвенирование проводили с помощью набора для секвенирования ДНК Big Dye Terminator v.3.1 Cycle Sequencing Kit («Applied Biosystems», США).

Для секвенирования по двум цепям использовали те же праймеры, что и для ПЦР. Определение нуклеотидной последовательности проводили на автоматическом секвенаторе ABI Prism 3100 («Applied Biosystems», США) по инструкции производителя.

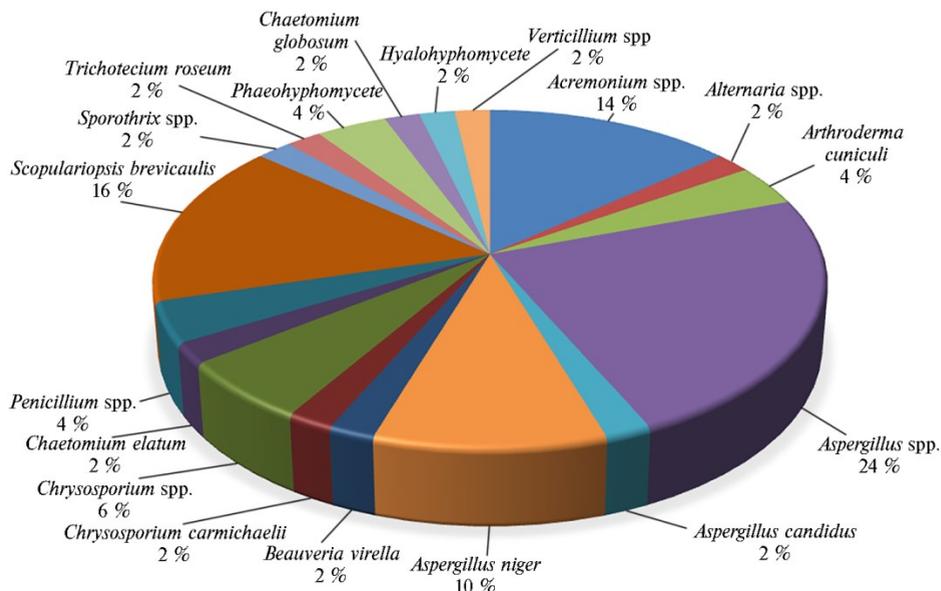
Филогенетический анализ полученных нуклеотидных последовательностей выполняли с помощью приложения SeqMan (DNASTAR Lasergene v.7.1.0, <https://www.dnastar.com/software/lasergene/>). Для выравнивания последовательностей с имеющимися в базе данных GenBank использовали пакет программ Standard Nucleotide BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Нуклеотидные последовательности, представляющие особый интерес, депонировали в базе данных GenBank NCBI <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>).

**Результаты.** При осмотре шкур соболей были обнаружены кожные поражения, которые локализовались в основном в области спины, поясницы, боков. Они характеризовались выпадением остевых волос, алопециями, образованием корочек и струпьев. Волосистой покров неравномерной длины, волосы выдергивались пучками. Часто в области поражений со стороны мездры наблюдали темные пятна. Часть поражений была скрыта под шерстком и обнаруживалась при пальпации (бугорки, корочки). Поражения наблюдали как у самцов, так и у самок, преимущественно у молодняка.

При визуальном исследовании образцы патологического материала представляли собой слипшиеся пучки волос (пуховые, реже остевые) с засохшими корочками и чешуйками у основания. Результат люминесцентного теста с лампой Вуда во всех образцах был отрицательный.

При микроскопии наблюдали пучки слипшихся пуховых волос и большое количество гнойного дебриса, затрудняющего обнаружение грибных элементов, из-за чего споры и мицелий грибов в образцах обнаружить не удалось.

В результате культурального микологического анализа 28 образцов патологического материала из 25 проб (89,2 %) были выделены грибы. Всего выделена 51 культура, идентифицировано 18 таксонов (видов и родов) грибов (рис. 1).



**Рис. 1.** Таксономический состав и процентное соотношение грибов, выделенных из проб патологического материала с пораженных участков шкур диких соболей (*Martes zibellina* L. 1758) (Томская обл., 2018-2019 годы).

В микобиоте кожных поражений соболей доминировали грибы рода *Aspergillus* — их доля составила 36 % (*Aspergillus spp.* — 24 %, *A. niger* — 10 %, *A. candidus* — 2 %). Среди наиболее распространенных видов были также представлены *Scopulariopsis brevicaulis* (16 %) и *Acremonium spp.* (14 %). Помимо этого, выделили несколько видов кератинофильных грибов-дерматофитов — *Arthroderma cuniculi* (4 %), *Chrysosporium carmichaelii* (2 %), *Chrysosporium spp.* (6 %). В общей сложности доля кератинофильных грибов составила 12 %. Доля остальных таксонов грибов — 2-4 % (*Alternaria spp.*, *Beauveria virella*, *Chaetomium elatum*, *Chaetomium globosum*, *Penicillium spp.*, *Sporothrix spp.*, *Trichotecium roseum*, *Verticillium spp.*, *Phaeohyphomycete*, *Hyalohyphomycete*).

Встречаемость грибов составляла от 0 до 4 видов в одном образце. Из большинства проб выделили по два вида. Особый интерес представляют два изолята грибов-дерматофитов (изоляты № 1.1-19 и № 3.11-19), изначально идентифицированных по морфологическим признакам как *Trichophyton* spp. Оба изолята были выделены от соболей из Бакчарского района. На 7-9-е сут роста оба изолята вызывали покраснение среды ДТМ-Эксперт, формировали белые бархатисто-порошистые колонии, присущие грибам-дерматофитам (рис. 2).



Рис. 2. Рост дерматофита *Trichophyton* spp. № 3.11-19, выделенного из проб патологического материала с пораженных участков шкур диких соболей (*Martes zibellina* L. 1758), на селективной среде ДТМ-Эксперт.

При пересеве уколом на агар Сабуро наблюдали белые бархатисто-шерстистые колонии, слегка выпуклые, края реснитчатые, гиалиновые. Обратная сторона колоний светло-коричневого цвета. Диаметр колоний составлял 30-40 мм на 14-е сут роста. При микроскопии наблюдали гиалиновый ветвящийся мицелий и многочисленные одноклеточные микроконидии овальной и каплевидной формы. Многоклеточные споры (макроконидии) не встречались. При длительном инкубировании культур наблюдали образование спирально-извитых гиф.

Для уточнения видовой принадлежности провели молекулярно-генетическую идентификацию изолятов *Trichophyton* spp. № 1.1-19 и № 3.11-19 методом секвенирования ITS-региона (табл.).

По результатам ITS-секвенирования, оба изолята *Trichophyton* spp. (№ 1.1-19 и № 3.11-19) проявили наибольшую гомологию (соответственно 100 и 97,7 %) со штаммом *Trichophyton* spp. IFM 41172, выделенным от барсука. Значительное сходство изоляты проявили со штаммом *Trichophyton* spp. NWHC 44736-43-02-01B, выделенным от гоферовой змеи. Третьим ближайшим гомологом оказался штамм *Arthroderma cuniculi* CBS 492.71, выделенный от человека (см. табл.). Таким образом, ближайший идентифицированный до вида гомолог для обоих изолятов — *Arthroderma cuniculi*.

Как видно из дендрограммы, построенной по результатам секвенирования ITS-регионов изолятов *A. cuniculi* № 1.1-19 и *A. cuniculi* № 3.11-19 (рис. 3), они образуют отдельный кластер вместе со штаммом *Trichophyton* spp. IFM 41172, рядом с кластерами трех штаммов *A. cuniculi* и двух штаммов *A. tuberculatum*.

Еще один изолят (№ 3.5-19), предположительно относящийся к дерматофитам, был фенотипически идентифицирован как *Chrysosporium* spp. При росте на агаре Сабуро наблюдали белые равномерно окрашенные колонии, бархатисто-пушистые, выпуклые, с радиальной складчатостью. Края ровные. Обратная сторона колоний от желтого до светло-коричневого, с радиальными бороздами. Диаметр колоний на 14-е сут роста — 30-40 мм. Культура образовывала многочисленные овальные и округлые микроконидии, присущие роду *Chrysosporium*. При секвенировании ITS-региона изолят *Chrysosporium* spp. № 3.5-19 проявил 100 % гомологии со штаммом *Chrysosporium carmichaelii* E00083342, выделенным из ногтя человека (GenBank: KC923439.1, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/KC923439.1>).

Кроме трех указанных культур, еще три были идентифицированы на основании морфологических признаков как *Chrysosporium* spp., однако их видовая принадлежность требует дальнейшего уточнения молекулярными методами.

**Результаты BLAST-анализа ITS-сиквенсов изолятов *Trichophyton* spp. № 1.1-19 и № 3.11-19, выделенных из проб патологического материала с пораженных участков шкур диких соболей (*Martes zibellina* L. 1758) (Томская обл., 2018-2019 годы)**

Ближайший по гомологии штамм	Степень гомологии, %		Номер в GenBank, ссылка	Источник выделения штамма
	изолят № 1.1-19	изолят № 3.11-19		
<i>Trichophyton</i> sp. IFM 41172.	100,00	97,73	AB458161.1 <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AB458161.1">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AB458161.1</a>	Барсук ( <i>Meles meles</i> )
<i>Trichophyton</i> sp. NWHC 44736-43-02-01B	93,24	92,56	KX148667.1 <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KX148667.1">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KX148667.1</a>	Береговая гоферовая змея ( <i>Pituophis catenifer</i> )
<i>Arthroderma cuniculi</i> CBS 492.71	90,59	90,94	NR_077138.1 <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NR_077138.1">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NR_077138.1</a>	Человек, кожные поражения

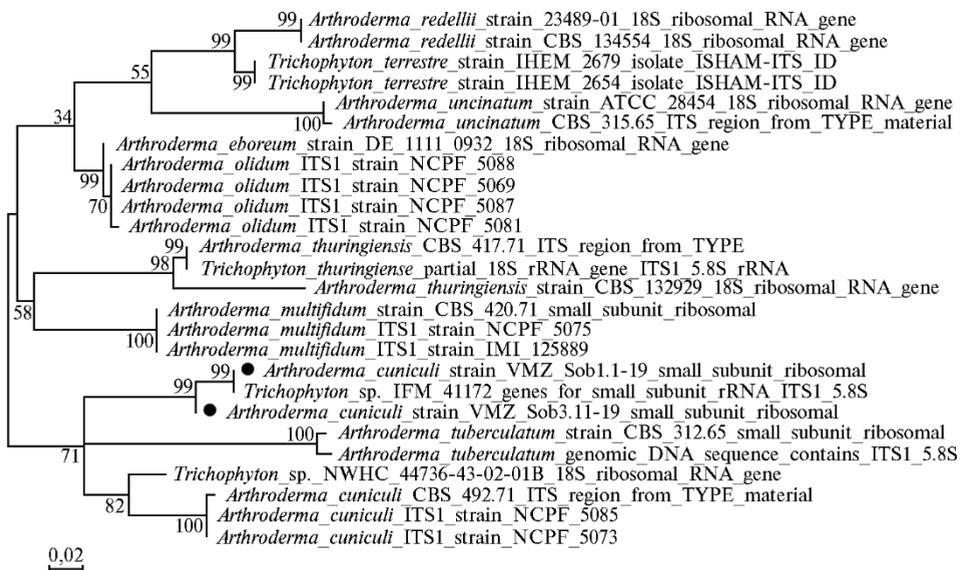


Рис. 3. Филогенетическая дендрограмма, построенная на основе секвенирования ITS-регионов изолятов *Arthroderma cuniculi* № 1.1-19 и *A. cuniculi* № 3.11-19 (отмечены кружками), выделенных из проб патологического материала с пораженных участков шкур диких соболей (*Martes zibellina* L. 1758) (Томская обл., 2018-2019 годы).

ITS-последовательности трех изолятов дерматофитов, идентифицированных методом секвенирования, были депонированы в международном репозитории GenBank NCBI под номерами MN534766.1 (*A. cuniculi* 1.1-19), MN653980.1 (*A. cuniculi* 3.11-19), MT556012.1 (*C. carmichaelii* 3.5-19).

Клиническая картина кожных поражений соболей в настоящем исследовании во многом схожа с описанием, сделанным ранее другими авторами. Поражения характеризовались как «оспины», «плешины», «коросты», «стриженный и свалывшийся волос», выпадение волос пучками (10). Такие описания характерны для хронического воспалительного процесса. Прямая микроскопия патологического материала была неинформативной из-за большого количества гнойного дебриса. Культуральный метод микологического анализа показал значительное видовое разнообразие грибов, составляющих микобиоту кожных поражений диких соболей. Подавляющее большинство изученных образцов (89,2 %) содержали от 1 до 4 видов грибов.

При этом 88 % выделенных грибов оказались недерматофитными плесневыми грибами. Очевидно, они играют роль контаминантов кожного покрова соболей. Часто встречался вид *Scopulariopsis brevicaulis* (16 %). Этот вид, хотя и не относится к дерматофитам, обладает кератинолитической активностью (13) и способен вызывать поверхностные микозы человека (14) и животных (15). Выделение от соболей может свидетельствовать об его определенной этиологической значимости в качестве оппортунистического патогена.

Особого внимания заслуживает выделение представителей рода *Acremonium*, чья доля составила 14 %. Пробы от некоторых животных содержали по два морфотипа *Acremonium* spp. (белые и желтые морфотипы). Их видовая принадлежность требует уточнения. Грибы рода *Acremonium* также обладают кератинолитической активностью (16) и вызывают заболевания человека (17) и животных (15).

В исследовании Н.Д. Степаненко (10) именно грибы рода *Acremonium* (по старой номенклатуре *Verticillium*) были выделены из большинства

образцов и признаны главным этиологическим фактором заболевания. На наш взгляд, этот таксон может играть определенную роль в патогенезе заболевания, но не служит основным (первичным) возбудителем.

Наиболее вероятные возбудители, приводящие к кожным поражениям, — кератиофильные грибы-дерматофиты (пор. *Onygenales*), чья доля в микобиоте составила 12 %. Были выделены два изолята *Arthroderma cuniculi*, составляющие отдельный кластер наряду со штаммом *Trichophyton* sp. IFM 41172, полученным от барсука. Молекулярно-генетические особенности выделенных нами штаммов *A. cuniculi* и их таксономическое положение требуют дальнейшего изучения.

Род *Arthroderma* (сем. *Arthrodermataceae*) — наиболее крупный род грибов-дерматофитов, который включает 27 видов (18). Вид *A. cuniculi* плохо изучен, и пока не вполне ясна его экологическая ниша и клиническая значимость. Он был выделен и впервые описан в 1963 году (19). Его выделяли в единичных случаях как с шерсти, так и из почвы в местах обитания животных, в частности зайцев (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/KT155576.1>). Филогенетически близкие изоляты были выделены из кожных поражений змей (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/KX148667.1>) и дерматофитозного поражения человека ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/NR\\_077138.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/NR_077138.1)), что указывает на патогенный потенциал *A. cuniculi*. На наш взгляд, этот вид вполне может быть основным этиологическим фактором кожных инфекций соболей. Мы впервые обнаружили *A. cuniculi* на территории России, также впервые он был выделен от соболей. Возможно, *A. cuniculi* является зооантропофильным и представляет опасность для людей, как и многие другие виды дерматофитов, поражающие животных (20).

Кроме того, от соболей выделили кератиофильные грибы рода *Chrysosporium*. Один изолят был определен до вида с помощью секвенирования — *Chrysosporium carmichaelii*. Видовая принадлежность трех других изолятов *Chrysosporium* spp. требует уточнения. Экология вида *C. carmichaelii* изучена недостаточно. Он был выделен из почвы и пыли (21), от летучих мышей, из человеческого ногтя (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/KC923439.1>), что свидетельствует об его патогенном потенциале. Грибы рода *Chrysosporium* известны как возбудители поверхностных и глубоких микозов человека и животных (22) и могут рассматриваться в качестве возможных возбудителей кожных инфекций у соболей. На территории Российской Федерации вид *C. carmichaelii*, судя по доступной литературе, выделен впервые.

Важно отметить, что кератиофильные грибы-дерматофиты, такие как *A. cuniculi* и *Chrysosporium* spp., прихотливы и медленно растут в культуре, их рост легко подавляют быстрорастущие плесневые грибы. Культуры *A. cuniculi* удалось получить только на селективной среде для дерматофитов ДТМ-Эксперт, недавно разработанной в ФНЦ ВИЭВ РАН (Москва) (23). Большинство изолятов *Chrysosporium* spp. также были выделены на среде ДТМ-Эксперт, в то время как на стандартной среде Сабуро их рост, очевидно, ингибировали быстрорастущие плесени.

Мы предполагаем, что из-за отсутствия селективной среды для дерматофитов в исследованиях Н.Д. Степаненко (10) от соболей не удалось выделить грибы-дерматофиты, а были выделены только недерматофитные грибы с преобладанием рода *Acremonium*, которые приняли за возбудителей инфекции. Хотя в нашей работе доля грибов-дерматофитов составила 12 %, в действительности их распространенность у соболей может быть выше, но далеко не во всех случаях такие грибы удастся изолировать из клинического материала. Истинное распространение патогенных грибов может быть изучено в дальнейшем с помощью современных высокочувствительных

диагностических техник, в частности метагеномного секвенирования (24).

Существуют лишь единичные публикации, посвященные изучению микобиоты кунных в аспекте различных заболеваний. В Чехословакии среди кунных была диагностирована высокая (от 30 до 73 %) распространенность адиаспиромикоза — респираторного заболевания, вызываемого видами рода *Emmonsia* (прежде относились к роду *Chrysosporium*). Основной возбудитель *Emmonsia parva* — типичный сапротроф, обитающий в почве, на растительных остатках (25). В Великобритании адиаспиромикоз в дикой природе был диагностирован почти у трети (28 %) обследованных животных разных видов. Основной обнаруженный возбудитель — *Emmonsia crescens*, способный также поражать человека (26). Нельзя исключать, что виды рода *Emmonsia*, морфологически близкие к роду *Chrysosporium*, также циркулируют в популяции сибирских соболей, что может быть выявлено в дальнейших исследованиях.

Следует отметить, что в зарубежной литературе инфекционные болезни соболей освещены очень скудно, поскольку в природе этот вид обитает только на территории России, Казахстана, Монголии, Китая, Кореи и Японии.

Таким образом, от соболей с кожными поражениями, добытых в Томской области, были выделены представители 18 различных таксонов грибов, в том числе кератинофильные грибы-дерматофиты (*Arthroderma cuniculi*, *Chrysosporium carmichaelii*, *Chrysosporium* spp.), вероятно, выступающие в качестве этиологических агентов массового дерматоза. Виды *A. cuniculi* и *C. carmichaelii* не были диагностированы ранее на территории Российской Федерации, также это первое сообщение об их встречаемости у соболей. Недерматофитные грибы с кератинолитическим свойством (*Scopulariopsis brevicaulis*, *Acremonium* spp., *Aspergillus* spp.) могут играть роль вторичных оппортунистических патогенов при этом заболевании. Проведенные исследования продемонстрировали присутствие в дикой природе грибов-дерматофитов, что указывает на необходимость дальнейшего изучения распространенности клинически значимых грибов среди диких животных. Целесообразна разработка комплекса мер борьбы с грибными инфекциями промысловых животных, наносящими значительный экономический ущерб.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Seyedmousavi S., Bosco S.D.M., De Hoog S., Ebel F., Elad D., Gomes R.R., Jacobsen I.D., Jensen H.E., Martel A., Mignon B., Pasmans F., Piecková E., Rodrigues A.M., Singh K., Vicente V.A., Wibbelt G., Wiederhold N.P., Guillot J. Fungal infections in animals: a patchwork of different situations. *Medical Mycology*, 2018, 56(suppl\_1): S165-S187 (doi: 10.1093/mmy/myx104).
2. James T.Y., Toledo L.F., Rödder D., da Silva Leite D., Belasen A.M., Betancourt-Román C.M., Jenkinson T.S., Soto-Azat C., Lambertini C., Longo A.V., Ruggeri J., Collins J.P., Burrowes P.A., Lips K.R., Zamudio K.R., Longcore J.E. Disentangling host, pathogen, and environmental determinants of a recently emerged wildlife disease: lessons from the first 15 years of amphibian chytridiomycosis research. *Ecology and Evolution*, 2015, 5(18): 4079-4097 (doi: 10.1002/ece3.1672).
3. Hoyt J.R., Kilpatrick A.M., Langwig K.E. Ecology and impacts of white-nose syndrome on bats. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, 19(3): 196-210 (doi: 10.1038/s41579-020-00493-5).
4. Davy C.M., Shirose L., Campbell D., Dillon R., McKenzie C., Nemeth N., Braithwaite T., Cai H., Degazio T., Dobbie T., Egan S., Fotherby H., Litzgus J. D., Manorome P., Marks S., Paterson J. E., Sigler L., Slavic D., Slavik E., Urquhart J., Jardine C. Revisiting ophidiomycosis (snake fungal disease) after a decade of targeted research. *Frontiers in Veterinary Science*, 2021, 8: 665805 (doi: 10.3389/fvets.2021.665805).
5. Ross A.A., Rodrigues Hoffmann A., Neufeld J.D. The skin microbiome of vertebrates. *Microbiome*, 2019, 7: 79 (doi: 10.1186/s40168-019-0694-6).
6. Williams C.L., Caraballo-Rodríguez A.M., Allaband C., Zarrinpar A., Knight R., Gauglitz J.M. Wildlife-microbiome interactions and disease: exploring opportunities for disease mitigation across ecological scales. *Drug Discovery Today: Disease Models*, 2018, 28: 105-115 (doi: 10.1016/j.ddmt.2018.05.002).

10.1016/j.ddmod.2019.08.012).

7. Anstead G.M., Sutton D.A., Graybill J.R. Adiaspiromycosis causing respiratory failure and a review of human infections due to *Emmonsia* and *Chrysosporium* spp. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012, 50(4): 1346-1354 (doi: 10.1128/JCM.00226-11).
8. Schwartz I.S., Kenyon C., Feng P., Govender N.P., Dukik K., Sigler L., Stielow J.B., Mucoz J.F., Cuomo C.A., Botha A., Stehigel A.M., de Hoog G.S. 50 years of emmonsia disease in humans: the dramatic emergence of a cluster of novel fungal pathogens. *PLoS Pathogens*, 2015, 11(11): e1005198 (doi: 10.1371/journal.ppat.1005198).
9. Losnak D.O., Rocha F.R., Almeida B.S., Batista K.Z.S., Althoff S.L., Haupt J., Ruiz L.S., Anversa L., Lucheis S.B., Paiz L.M., Donalísio M.R., Richini Pereira V.B. Molecular detection of fungi of public health importance in wild animals from Southern Brazil. *Mycoses*, 2018, 61(7): 455-463 (doi: 10.1111/myc.12767).
10. Степаненко Н.Д. *Кожное заболевание соболей в природных условиях*. Киров, 2007.
11. Тютеньков О.Ю., Соколова Н.М., Трифонова М.Г. Дерматомикоз соболя (*Martes zibellina*) Томского Приобья. *Териофауна России и сопредельных территорий: международное совещание: X съезд Териологического общества при РАН*. М., 2016: 433.
12. de Hoog G.S., Guarro J., Gené J., Figueras M.J. *Atlas of clinical fungi*. CBS, Utrecht, 2000.
13. Anbu P., Gopinath S.C.B., Hilda A., Mathivanan N., Annadurai G. Secretion of keratinolytic enzymes and keratinolysis by *Scopulariopsis brevicaulis* and *Trichophyton mentagrophytes*: regression analysis. *Canadian Journal of Microbiology*, 2006, 52(11): 1060-1069 (doi: 10.1139/W06-067).
14. Tosti A., Piraccini B., Stinchi C., Lorenzi S. Onychomycosis due to *Scopulariopsis brevicaulis*: clinical features and response to systemic antifungals. *The British Journal of Dermatology*, 1996, 135(5): 799-802 (doi: 10.1111/J.1365-2133.1996.TB03895.X).
15. Маноян М.Г., Овчинников Р.С. Микобиота кожных поражений животных. *Тез. докл. «Современная микология в России: Первый съезд микологов России»*. М., 2002: 414-415.
16. Rodrigues Marcondes N., Ledesma Taira C., Cirena Vandresen D., Estivalet Svidzinski T.I., Kadowaki M.K., Peralta R.M. New feather-degrading filamentous fungi. *Microbial Ecology*, 2008, 56(1): 13-17 (doi: 10.1007/s00248-007-9319-x).
17. Perdomo H., Sutton D.A., García D., Fothergill A.W., Cano J., Gené J., Summerbell R.C., Rinaldi M.G., Guarro J. Spectrum of clinically relevant *Acremonium* species in the United States. *Journal of Clinical Microbiology*, 2011, 49(1): 243-256 (doi: 10.1128/JCM.00793-10).
18. Hainsworth S., Kučerová I., Sharma R., Cañete-Gibas C.F., Hubka V. Three-gene phylogeny of the genus *Arthroderma*: basis for future taxonomic studies. *Medical Mycology*, 2021, 59(4): 355-365. (doi: 10.1093/mmy/myaa057).
19. Dawson C.O. Two new species of *Arthroderma* isolated from soil from rabbit burrows. *Sabouraudia*, 1963, 2(3): 185-191 (doi: 10.1080/00362176385190301).
20. Baumbach C.M., Müller S., Reuschel M., Uhrlaß S., Nenoff P., Baums C.G., Schrödl W. Identification of zoophilic dermatophytes using MALDI-TOF mass spectrometry. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2021, 11: 631681 (doi: 10.3389/fcimb.2021.631681).
21. Zaki S.M., Mikami Y., El-Din A.A.K., Youssef Y.A. Keratinophilic fungi recovered from muddy soil in Cairo Vicinities, Egypt. *Mycopathologia*, 2005, 160(3): 245-251 (doi: 10.1007/S11046-005-0143-X).
22. Ovchinnikov R.S., Vasylyev D.B. Pathogenic chrysosporium-related fungi in reptiles and other animals. In: *Recent trends in human and animal mycology* /K. Singh, N. Srivastava (eds.). Springer, Singapore, 2019: 47-80 (doi: 10.1007/978-981-13-9435-5\_3).
23. Savinov V.A., Ovchinnikov R.S., Kapustin A.V., Laishevcev A.I., Gulykin A.M. Development of a differential diagnostic nutrient medium for the express diagnosis of animal dermatophytosis. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. V. 315. IOP Publishing, 2019, 315(2): 022071 (doi: 10.1088/1755-1315/315/2/022071).
24. Dekker J.P. Metagenomics for clinical infectious disease diagnostics steps closer to reality. *Journal of Clinical Microbiology*, 2018, 56(9): e00850-18 (doi: 10.1128/JCM.00850-18).
25. Krivanec K., Otčenášek M. Importance of free living mustelid carnivores in circulation of adiaspiromycosis. *Mycopathologia*, 1977, 60(3): 139-144.
26. Borman A.M., Simpson V.R., Palmer M.D., Linton C.J., Johnson E.M. Adiaspiromycosis due to *Emmonsia crescens* is widespread in native British mammals. *Mycopathologia*, 2019, 168(4): 153-163 (doi: 10.1007/s11046-009-9216-6).

<sup>1</sup>ФГБНУ ФНЦ Всероссийский НИИ экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН, 109428 Рязань, г. Москва, Рязанский просп., 24, к. 1, e-mail: rsovchinnikov@mail.ru ✉, gainullinaalla@gmail.com, Anton\_oskol@mail.ru, visik06@mail.ru, kapustin\_andrei@mail.ru, a-laishevcev@bk.ru, admin@viev.ru;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Поступила в редакцию  
23 июля 2022 года

634056 Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36,  
e-mail: alex-zhigalin@mail.ru, tutenkov@mail.ru, mns\_k@mail.ru;  
<sup>3</sup>Дагестанский государственный университет,  
Институт экологии и устойчивого развития,  
367000 Россия, Республика Дагестан, г. Махачкала,  
ул. М. Гаджиева, 43а

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2023, V. 58, № 4, pp. 745-756

## THE ROLE OF FUNGI IN THE ETIOLOGY OF MASS SKIN LESIONS IN SABLES *Martes zibellina* L. 1758 IN TOMSK REGION

R.S. Ovchinnikov<sup>1</sup> ✉, A.V. Zhigalin<sup>2, 3</sup>, A.G. Gaynullina<sup>1</sup>, A.G. Yuzhakov<sup>1</sup>,  
O.Yu. Tutenkov<sup>2</sup>, V.A. Savinov<sup>1</sup>, N.S. Moskvitina<sup>2</sup>, A.V. Kapustin<sup>1</sup>, A.I. Laishevcev<sup>1</sup>,  
A.M. Gulykin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Federal Scientific Centre Skryabin and Kovalenko All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary RAS, 24/1, Ryazanskii Prosp., Moscow, 109428 Russia, e-mail rsovchinnikov@mail.ru (✉ corresponding author), gainnullinaalla@gmail.com, Anton\_oskol@mail.ru, visik06@mail.ru, kapustin\_andrei@mail.ru, a-laishevcev@bk.ru, admin@viev.ru;

<sup>2</sup>National Research Tomsk State University, 36, Prosp. Lenina, Tomsk, 634056 Russia, e-mail alex-zhigalin@mail.ru, tutenkov@mail.ru, mns\_k@mail.ru;

<sup>3</sup>Dagestan State University, Institute of Ecology and Sustainable Development, 43a, ul. Gadzhieva, Makhachkala, Republic of Dagestan, 367000 Russia

ORCID:

Ovchinnikov R.S. [orcid.org/0000-0001-6634-9879](https://orcid.org/0000-0001-6634-9879)

Zhigalin A.V. [orcid.org/0000-0003-4661-0560](https://orcid.org/0000-0003-4661-0560)

Gaynullina A.G. [orcid.org/0000-0002-0545-0559](https://orcid.org/0000-0002-0545-0559)

Yuzhakov A.G. [orcid.org/0000-0002-0426-9678](https://orcid.org/0000-0002-0426-9678)

Tutenkov O.Yu. [orcid.org/0009-0003-2844-9635](https://orcid.org/0009-0003-2844-9635)

The authors declare no conflict of interests

Savinov V.A. [orcid.org/0000-0003-1891-0005](https://orcid.org/0000-0003-1891-0005)

Moskvitina N.S. [orcid.org/0000-0002-3425-7723](https://orcid.org/0000-0002-3425-7723)

Kapustin A.V. [orcid.org/0000-0003-0136-2487](https://orcid.org/0000-0003-0136-2487)

Laishevcev A.I. [orcid.org/0000-0002-5050-2274](https://orcid.org/0000-0002-5050-2274)

Gulykin A.M. [orcid.org/0000-0003-2160-4770](https://orcid.org/0000-0003-2160-4770)

Acknowledgements:

The study was carried out within the framework of the state assignments of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (projects No. 0721-2020-00190 and No. FGUG-2022-0009), and with the support of the Russian Foundation for Basic Research (RFBR) grant No 20-04-60010 "Study of the diversity, circulation and pathogenic potential of coronaviruses in natural reservoirs on the territory of Western and Eastern Siberia"

Final revision received July 23, 2022

Accepted February 2, 2023

doi: 10.15389/agrobiology.2023.4.745eng

### Abstract

Mass skin lesions in sables *Martes zibellina* in Siberia have been known since the 18th century, but their etiology is still not well understood. The disease affects up to 62 % of hunted sables, causing damage to the skin and causing serious economic loss. One of the versions suggests the participation of microscopic fungi in the occurrence of this dermatosis. In the present work, it was established for the first time that keratinophilic dermatophyte fungi of various species are involved in the etiology of skin disease in sables, some of which were discovered in the territory of the Russian Federation for the first time. The aim of the work was to reveal and identify clinically significant fungi in sables with clinical manifestations of skin diseases. Pathological material (hair, crusts) was taken from the affected areas of the skins of wild sables (*Martes zibellina* L. 1758), hunted during the 2018-2019 hunting season in various areas of the Tomsk region. A total of 28 samples of pathological material were studied. Mycological examination included a Wood's lamp test, direct microscopy of the pathological material, inoculation on mycological media, followed by identification of isolated fungal cultures. Inoculation was performed on DTM-Expert, a differential diagnostic medium for dermatophytes (FNTs VIEV RAS, Russia) and on Sabouraud medium with chloramphenicol (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India). The incubation was carried out under aerobic conditions at 26-28 °C, the incubation period was up to 21 days. To study the cultural and morphological features, the cultures were re-inoculated on Sabouraud agar in Petri dishes, incubated for 10-14 days. For molecular genetic identification, isolated colonies of fungi grown on Sabouraud's medium were selected for 10 days at 26-28 °C. DNA was isolated using the GeneJET Plant Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, USA) according to the manufacturer's instructions. The resulting DNA was used to carry out the polymerase chain reaction (PCR). Regions of the internal transcribed spacer (ITS) of the ribosomal RNA gene were sequenced. Phylogenetic analysis of the obtained nucleotide sequences was performed using the SeqMan application (DNASTAR Lasergene v.7.1.0, <https://www.dnastar.com/software/laser-gene/>). Sequence alignment with those available in the GenBank database was performed using the Standard Nucleotide BLAST software package (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). The resulting nucleotide sequences of particular interest were deposited to the GenBank NCBI database. When

examining the affected sables, skin lesions were found, which were localized mainly in the back, waist, and sides. They were characterized by loss of guard hairs, alopecia, formation of crusts and scabs. Dark spots were often observed in the area of lesions from the side of the skin. Lesions were observed both in males and females, mainly in young animals. During visual examination, samples of pathological material were sticky bundles of hair (downy, less often guard hair) with dried crusts and scales at the base. The result of the fluorescent test with a Wood's lamp in all samples was negative. Microscopy revealed bundles of downy hairs stuck together and a large amount of purulent debris, which made it difficult to detect fungal elements. As a result of cultural mycological analysis, 51 cultures were isolated, 18 taxa (species and genera) of fungi were identified. At the same time, keratinophilic dermatophyte fungi (*Arthroderma cuniculi*, *Chrysosporium carnichaelii*, *Chrysosporium* spp.) were isolated from 12 % of the samples, probably acting as etiological agents of dermatosis. Growth of dermatophytes was observed only on the DTM-Expert selective differential diagnostic medium; fast-growing non-dermatophyte fungi grew on ordinary media. Non-dermatophyte fungi with keratinolytic properties were also isolated — *Scopulariopsis brevicaulis* (16 %), *Acremonium* spp. (14 %), *Aspergillus* spp. (36 %), which can act as secondary opportunistic pathogens.

Keywords: pathogenic fungi, animal mycoses, dermatomycoses, dermatophytes, *Arthroderma*, *Chrysosporium*, *Martes zibellina*, sable.