

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 08/02/2020.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Botucatu



INTEIN PRP8 EM FUNGOS DERMATÓFITOS: IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E ASPECTOS EVOLUTIVOS.

HANS GARCIA GARCES

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração *Biologia de Parasitas e Microrganismos*.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Bagagli

**Botucatu - SP
2017**

Instituto de Biociências - Seção Técnica de Pós-Graduação
Distrito de Rubião Júnior s/n CEP 18618-970 Cx Postal 510 Botucatu-SP Brasil
Tel (14) 3880-0780 posgraduacao@ibb.unesp.br



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Julio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

**INTEIN PRP8 EM FUNGOS DERMATÓFITOS:
IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E ASPECTOS EVOLUTIVOS.**

HANS GARCIA GARCES

ORIENTADOR: EDUARDO BAGAGLI

CO-ORIENTADOR: RAQUEL THEODORO CORDEIRO

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração *Biologia de Parasitas e Microrganismos*.

Eduardo Bagagli

**BOTUCATU – SP
2017**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM. DIVISÃO
TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Garces, Hans Garcia.

Intein PRP8 em fungos dermatófitos : identificação molecular e aspectos evolutivos / Hans Garcia Garces. - Botucatu, 2017

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Eduardo Bagagli Coorientador:

Raquel Theodoro Cordeiro Capes: 21201030

1. Dermatófitos. 2. Filogenia. 3. Fungos patogênicos.
4. Inteínas. 5. Taxonomia numérica.

Palavras-chave: Dermatófitos; Filogenia; Identificação molecular;
Intein PRP8.

Agradecimentos

As vezes agradecer é a parte mais difícil. Vêm tantas lembranças, tantas pessoas aos meus pensamentos, que é impossível escrever todas em uma folha. Em especial agradeço a:

- CAPES PEC-PG (12481-13-0) pela bolsa outorgada para realizar os estudos no Brasil.
- CNPq (306590/2015-8) pelo apoio financeiro.
- À grande família que é o departamento de Microbiologia e Imunologia do IBB.
- Aos meus amigos que têm apoiado nestes 4 anos (Lesvi, David, Yahima e Manolo).
- Ao meu orientador Eduardo Bagagli, fonte inesgotável de conhecimentos e esforços.
- A minha co-orientadora Raquel Theodoro Cordeiro por seus oportunos conselhos e ensinamentos.
- Aos meus companheiros de trabalho: Marluce, Juliana, Thales, Gabriel.
- Ao Luciano Bettiol, por ser apoio e amigo nestes 4 anos. Muito Obrigado!
- A minha família, que mesmo com a distância, permanecem sempre em meu coração. Te amo meu irmãozinho (Ati).
- A minha mãe. A quem agradeço por ser a pessoa que sou. Amarei você para sempre.

Obrigado a todos que de uma forma ou outra ajudaram durante estes 4 anos de lutas e vitórias.

“ Al mundo nuevo corresponde la Universidad Nueva. A nuevas ciencias que todo lo invaden, reforman y minan nuevas cátedras. Es criminal el divorcio entre la educación que recibe una época y la época... En tiempos teológicos, universidad teológica. En tiempos científicos, universidad científica. ”

José Martí (1853-1895)

Resumo.

Os dermatófitos são um grupo de fungos constituídos pelos gêneros *Trichophyton*, *Epidermophyton* e *Microsporum* que têm a habilidade de degradar a queratina. É por essa razão que podem colonizar a pele do homem e dos animais, embora também possam crescer no ambiente, geralmente em solos com restos de queratina. As características morfológicas permitem a identificação e classificação taxonômica das espécies, mas realizar um diagnóstico baseado nestas características pode levar a erros. As técnicas moleculares ajudam a realizar diagnósticos mais rápidos baseados em uma identificação molecular e também têm possibilitado importantes avanços quanto aos estudos filogenéticos, sendo as sequências ITS1-5.8S-ITS2 as mais utilizadas. No entanto, estes marcadores não são suficientes para identificar e elucidar todas as relações filogenéticas e taxonômicas dos dermatófitos devido à ampla variedade de espécies existentes, -sendo necessário novos marcadores genéticos, como o intein PRP8. Os inteins são elementos genéticos parasitas, de natureza proteica, presentes em alguns fungos e estão associados a importantes genes altamente conservados. O intein PRP8 está localizado no gene *PRP8* que codifica para a proteína PRP8 associada ao complexo do spliciosoma. O presente estudo visa caracterizar o intein PRP8 em fungos dermatófitos, de forma a empregar estes elementos genéticos como marcadores moleculares para uma correta identificação destas espécies e elucidar as relações filogenéticas do grupo. Para realizar este objetivo, foram caracterizadas molecularmente 45 cepas usando as regiões nucleares ribossomais ITS1-5.8S-ITS2 e D1/D2 e posteriormente a região do intein PRP8 de 40 cepas foi sequenciada para determinar as características do intein. A presença do intein foi comprovada em todas as espécies avaliadas, apresentando um full-intein com uma Homing Endonuclease presumivelmente ativa. As construções filogenéticas obtidas usando as sequências do intein são correspondentes as construídas a partir de genes nucleares ribossomais, demonstrando a validade do intein para ser incluído em futuros estudos filogenético associados a taxonomia e determinação de espécies. O polimorfismo na região da Homing Endonuclease permitiu a identificação de algumas espécies de *Microsporum* mediante um ensaio de PCR-Eletroforese.

Palavras chaves: Dermatófitos, Intein PRP8, Identificação molecular, filogenia.

Abstract

Dermatophytes are a fungal group composed by the genera *Trichophyton*, *Epidermophyton* and *Microsporum* with the ability to degrade keratin. That is why they can colonize the skin of man and animals, although they can also grow in the environment, usually in soils with remains of keratin. The morphological characteristics allow the identification and taxonomic classification of the species, but a diagnosis based on these characteristics is difficult. Molecular techniques made diagnoses based on molecular identification faster and made possible important advances in phylogenetic studies, with ITS1-5.8s-ITS2 sequences being the most used. However, these markers are not enough to elucidate all the phylogenetic relationships and taxonomic of dermatophytes due to the wide variety of existing species, and new genetic markers may be needed for correct identification and phylogenetic studies, such as the PRP8 intein. Inteins are parasitic genetic elements of a protein nature present in some fungi and are associated with important highly conserved genes. The PRP8 intein is located within the *PRP8* gene coding for the PRP8 protein associated with the spliceosome complex. The present study aims to characterize the PRP8 intein in dermatophyte fungi, in order to use these genetic elements as molecular markers for a correct identification of these species and elucidations of the phylogenetic relationships of the group. To accomplish this goal, 45 strains were molecularly characterized using the ITS1-5.8S-ITS2 and D1 / D2 ribosomal nuclear regions and subsequently the PRP8 intein region of 40 strains was sequenced to determine the intein characteristics. The presence of intein was confirmed in all evaluated species, presenting a full-intein with a presumably active Homing Endonuclease. The phylogenetic construction obtained using the intein sequences correspond to those constructed from ribosomal nuclear genes, demonstrating the intein validity to be included in future phylogenetic studies associated with taxonomy and species determination. Polymorphism in the Homing Endonuclease region allowed the identification of some *Microsporum* species by a PCR-Electrophoresis assay.

Key words: Dermatophytes, PRP8 intein, molecular identification, phylogeny.

Lista de abreviaturas:

BLAST: Basic Local Alignment Search Tool (Inglês).

BLASTn: BLAST nucleotide (Identificação baseada nas sequências de DNA).

BLASTp: BLAST protein (Identificação baseada nas sequências de proteínas).

CBS: Centraal bureau voor schimmelcultures (Centro de estudos na área da Micologia, localizado na Holanda).

cDNA: DNA codificante.

CHSI: Chitin Synthase Class I.

D1/D2: Região variável da subunidade maior 28S do rRNA.

dS/dN rate: ratio de substituições sinônimas e não- sinônimas.

HE: Homing endonuclease (Inglês).

IGS: Intergenic spacers (espaçadores intergênicos).

ITS: Internal Transcribed Spacer. (Presente na região nuclear ribossomal).

LSU: Large subunit (subunidade maior). Referido ao rRNA.

mDNA: DNA mitocondrial.

mRNA: RNA mensageiro.

ML: Maximum Likelihood method.

NCBI: National Center for Biotechnology Information (Inglês).

PRP8: Proteína central do spliceosomo.

PCR: Polymerase Chain Reaction (Inglês).

rDNA: Ribossomal DNA (rRNA ao nível gênico).

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism (Inglês).

rRNA: Ácido ribonucleico ribossomal.

SSUrDNA: Small Subunit ribosomal DNA (sequência de DNA que codifica para a subunidade menor do rRNA).

ThrRS: RNA de transferência para o aminoácido treonil (referido como Intein ThrRS).

TOP2: Topoisomerase tipo II.

tRNA: RNA de transferência.

VMA: ATPase da membrana vacuolar (Referido como Intein VMA).

WGS: Whole Genome Shotgun (Inglês).

Índice

1.Introdução.....	1
Os dermatófitos.....	1
Aspectos Morfológicos.....	3
Ecologia e epidemiologia.....	4
Distribuição de espécies.....	4
Manifestações clínicas.....	5
Diagnóstico de laboratório convencional.....	5
Métodos diagnósticos baseados na Biologia Molecular.....	6
Métodos para a detecção e/ou identificação de dermatófitos.....	7
Estudos moleculares aplicados à filogenia.....	7
Inteins.....	9
Justificativa e Objetivos.....	13
Referências Bibliográficas.....	13
2. Capítulo 1: Molecular identification and phylogenetical analysis of dermatophyte fungi from Latin America.	20
3. Capítulo 2: PRP8 intein in dermatophytes: Evolution and species identification.	41

1. Introdução

Os dermatófitos.

Os dermatófitos são ascomicetos da ordem Onygenales, família Arthrodermataceae que pertencem aos gêneros do estágio anamorfo (assexual ou imperfeito) *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*. Estes organismos têm a capacidade de invadir tecidos queratinizados (pele, pelos e unhas) resultando numa doença chamada dermatofitose ou tinea. Visando sua ecologia, podem ser classificados como espécies antropofílicas (espécies que afetam primariamente ao homem), zoofílicas (espécies que afetam primariamente os animais) e geofílicas (espécies que costumam ter vida livre, sendo moradores do solo). Os gêneros *Trichophyton* e *Microsporum* são compostos por várias espécies, que podem ser geofílicas, zoofílicas e antropofílicas. Já o gênero *Epidermophyton*, contém uma única espécie (*E. floccosum*) que só afeta os humanos. Os membros dos gêneros *Trichophyton* e *Microsporum* costumam infectar pêlo, pele e unhas e *E. floccosum* só infecta pele e unhas, não invadindo o cabelo. Em pacientes imunocomprometidos, as infecções por dermatófitos podem ser formas severas e insidiosas se manifestando como granulomas dermatofíticos e kerion (Rippon, 1988; Da Silva Lacaz *et al.*, 2002; Jung *et al.*, 2009; Lourdes *et al.*, 2014; John *et al.*, 2016; Hay, 2017; Trocoli Drakensjo *et al.*, 2017)

A similaridade dos dermatófitos consiste em seu requerimento nutricional, pois todos eles têm a capacidade de digerir a queratina. A queratina é uma proteína altamente insolúvel e seu uso como substrato é raro na natureza. Ela forma parte da capa protetora externa dos répteis, aves e mamíferos em estruturas como o estrato córneo, garras, bicos, unhas e penas (Rippon, 1988). Sua natureza queratinofílica sugere que estes fungos foram originados quando a vida chegou na terra desde a água porque os vertebrados aquáticos (ex. baleias) carecem de anexos que apresentem queratina. Não existe nenhum dermatófito que seja aquático, sendo inibidos por altas concentrações de sal (Sharma e Gräser, 2011).

Algumas espécies são cosmopolitas (Nweze e Eke, 2016; Hay, 2017; Zhan e Liu, 2017), no entanto, outras possuem limites geográficos bem estabelecidos como ocorre com *T. soudanense* (espécie classificada como *T. rubrum* de população africana segundo Gräser *et al.* 2008) encontrado na África e *T. concentricum* próprio da Oceania e Ásia (Gräser, De Hoog, *et al.*, 2000; Da Silva Lacaz *et al.*, 2002).

Os dermatófitos já foram descritos desde o século XIX. O gênero *Microsporum* foi descrito pelo húngaro David Gruby em 1843 (Gruby, 1843). O gênero *Trichophyton* foi descrito

pelo sueco *Malmsten*, em 1845, e *Epidermophyton* foi individualizado por Sabouraud em 1907. De início, só foram descritas as formas assexuadas ou imperfeitas de tais microrganismos. Com numerosas espécies, algumas delas foram mal identificadas e colocadas com nomes duvidosos (Da Silva Lacaz *et al.*, 2002).

Logo veio um enorme avanço no estudo dos dermatófitos com a prática do isolamento de algumas espécies do solo pelo método da isca (hairbait), utilizado pela primeira vez pelo micólogo belga Raymond Vanbreuseghem em 1952 (Vanbreuseghem, 1952). Esse processo permitiu descobrir o estágio perfeito ou teleomorfo dos gêneros *Trichophyton* e *Microsporum*, com as denominações iniciais de *Nannizzia* e *Arthroderma*. Mais tarde, concluíram que *Arthroderma* e *Nannizzia* são congêneros, considerando *Nannizzia* sinônimo de *Arthroderma* (Rippon, 1988; Da Silva Lacaz *et al.*, 2002). Porém, de Hoog *et al.* sugeriram voltar a desagregar e a considerar *Nannizzia* como estágio perfeito das espécies do complexo *A. gypseum* (De Hoog *et al.*, 2017).

As espécies das formas anamorfias dos dermatófitos são diferenciadas pela macromorfologia das colônias e a presença ou ausência de macro e microconídios (número, forma, tamanho, dimensões, etc). As formas teleomorfas são diferenciadas pelos seus gimnotécios. Todas as espécies de *Arthroderma* conhecidas são heterotáticas, com exceção da espécie homotática *A. ciferri* (Da Silva Lacaz *et al.*, 2002; Metin e Heitman, 2017).

Como já foi descrito, as diferentes espécies de dermatófitos podem se agrupar com base na sua preferência ecológica. Estes agrupamentos ecológicos são observados nos clusters filogenéticos obtidos por mtDNA ou rDNA (Gräser, De Hoog, *et al.*, 2000; Gräser *et al.*, 2008; Kanbe, 2008; Mochizuki *et al.*, 2017; Verrier e Monod, 2017). Estes estudos sugerem que inicialmente todos eles eram moradores do solo e costumavam prosperar na queratina espalhada na terra. O contato direto com animais e o homem fez com que eles se adaptassem ao seu estilo de vida zoofílico ou antropofílico respectivamente. Uma teoria sugere que o *Homo sapiens* moderno desenvolveu a capacidade de apresentar menos pêlos corporais para evitar os parasitas, podendo estar entre eles os dermatófitos. Para se adaptar a esta carência de pêlos em humanos, os dermatófitos que evoluíram desde a terra e os animais até o homem, perderam gradualmente sua capacidade de produzir macroconídios para se transmitir e reproduzir, produzindo artroconídios, que possibilitaram uma transmissão por contato direto. Os macroconídios podem se pegar aos pêlos dos animais para se dispersarem, podendo ser este animal um portador sem sintomas da

doença (ex: gatos); estes macroconídios são raros ou ausentes nas cepas antropofílicas. Devido ao número crescente de pessoas no planeta, o fungo evoluiu perdendo a capacidade de produzir esporos adaptados a se transmitir por animais peludos para produzir esporos mais resistentes frente às novas condições (arthrosporos ou chlamidosporos). O gene ou genes responsáveis por disparar esta inibição ou inativação da produção de macroconídios ainda estão sendo pesquisados para estas espécies antropofílicas (Da Silva Lacaz *et al.*, 2002; Sharma e Gräser, 2011; Cafarchia *et al.*, 2013).

Referências.

ALBANO, A. P. et al. Isolation of dermatophytes in wild felids from screening centers. **Braz J Microbiol**, v. 44, n. 1, p. 171-4, 2013. ISSN 1517-8382 (Print) 1517-8382 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24159301> >.

ALBERTS, B. **Molecular biology of the cell**. 5th. New York: Garland Science, 2008. ISBN 9780815341055 (hardcover) 0815341059 (hardcover).

BURT, A.; KOUFOPANOU, V. Homing endonuclease genes: the rise and fall and rise again of a selfish element. **Curr Opin Genet Dev**, v. 14, n. 6, p. 609-15, Dec 2004. ISSN 0959-437X (Print) 0959-437X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15531154> >.

BUTLER, M. I.; GOODWIN, T. J.; POULTER, R. T. A nuclear-encoded intein in the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*. **Yeast**, v. 18, n. 15, p. 1365-70, Nov 2001. ISSN 0749-503X (Print) 0749-503X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11746598> >.

BUTLER, M. I. et al. The distribution and evolutionary history of the PRP8 intein. **BMC Evol Biol**, v. 6, p. 42, 2006. ISSN 1471-2148 (Electronic) 1471-2148 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16737526> >.

BUTLER, M. I.; POULTER, R. T. The PRP8 inteins in *Cryptococcus* are a source of phylogenetic and epidemiological information. **Fungal Genet Biol**, v. 42, n. 5, p. 452-63, May 2005. ISSN 1087-1845 (Print) 1087-1845 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15809009> >.

CAFARCHIA, C. et al. Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of dermatophytes. **Infect Genet Evol**, v. 20, p. 336-51, Dec 2013. ISSN 1567-7257 (Electronic) 1567-1348 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24060735> >.

CHEN, S. C.-A. et al. Trichophyton. In: LIU, D. (Ed.). **Molecular detection of human fungal pathogens**. Boca Raton, Fla. : CRC, 2011. cap. 44, ISBN 9781439812402 (hbk.) 1439812403 (hbk.).

CHEVALIER, B.; MONNAT, R. J., JR.; STODDARD, B. L. The LAGLIDADG Homing Endonuclease Family. In: BELFORT, M.; DERBYSHIRE, V., et al (Ed.). **Homing endonucleases and inteins**. Berlin ; Heidelberg: Springer, 2008. p.xix, 377 p. (Nucleic acids and molecular biology). ISBN 9783540852353.

CHONG, S.; XU, M. Q. Protein splicing of the *Saccharomyces cerevisiae* VMA intein without the endonuclease motifs. **J Biol Chem**, v. 272, n. 25, p. 15587-90, Jun 20 1997. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9188443> >.

DA COSTA, F. V. et al. Genetic variability in *Microsporum canis* isolated from cats, dogs and humans in Brazil. **Mycoses**, v. 56, n. 5, p. 582-8, Sep 2013. ISSN 1439-0507 (Electronic) 0933-7407 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23551796> >.

DA SILVA LACAZ, C. et al. **Tratado de Micología Médica Lacaz**. 9na Ed. São Paulo: Servier, 2002. ISBN 85-7378-123-8.

DE HOOG, G. S. et al. Toward a Novel Multilocus Phylogenetic Taxonomy for the Dermatophytes. **Mycopathologia**, v. 182, n. 1-2, p. 5-31, Feb 2017. ISSN 1573-0832

(Electronic) 0301-486X (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27783317>>.

DUAN, X.; GIMBLE, F. S.; QUIOCHO, F. A. Crystal structure of PI-SceI, a homing endonuclease with protein splicing activity. **Cell**, v. 89, n. 4, p. 555-64, May 16 1997. ISSN 0092-8674 (Print) 0092-8674 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9160747>>.

GOGARTEN, J. P. et al. Inteins: structure, function, and evolution. **Annu Rev Microbiol**, v. 56, p. 263-87, 2002. ISSN 0066-4227 (Print) 0066-4227 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12142479>>.

GONZALES, M. J.; DUGAN, J. M.; SHAFER, R. W. Synonymous-non-synonymous mutation rates between sequences containing ambiguous nucleotides (Syn-SCAN). **Bioinformatics**, v. 18, n. 6, p. 886-7, Jun 2002. ISSN 1367-4803 (Print) 1367-4803 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12075026>>.

GRÄSER, Y.; DE HOOG, G.; KUIJPERS, A. Recent advances in the molecular taxonomy of dermatophytes. **Biology of Dermatophytes and other Keratinophilic Fungi**, Bilbao, España, 2000. ISSN 84-607-0711-3. Disponível em: <
<http://dermatophytes.reviberoammicol.com/contents.php?017021>>. Acesso em: abril.

GRÄSER, Y.; DE HOOG, S.; SUMMERBELL, R. C. Dermatophytes: recognizing species of clonal fungi. **Med Mycol**, v. 44, n. 3, p. 199-209, May 2006. ISSN 1369-3786 (Print) 1369-3786 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16702098>>.

GRÄSER, Y. et al. Phylogeny and taxonomy of the family Arthrodermataceae (dermatophytes) using sequence analysis of the ribosomal ITS region. **Med Mycol**, v. 37, n. 2, p. 105-14, Apr 1999. ISSN 1369-3786 (Print) 1369-3786 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10361266>>.

GRÄSER, Y. et al. Molecular and conventional taxonomy of the *Microsporum canis* complex. **Med Mycol**, v. 38, n. 2, p. 143-53, Apr 2000. ISSN 1369-3786 (Print) 1369-3786 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10817231>>.

GRÄSER, Y. et al. Molecular taxonomy of *Trichophyton mentagrophytes* and *T. tonsurans*. **Med Mycol**, v. 37, n. 5, p. 315-30, Oct 1999. ISSN 1369-3786 (Print) 1369-3786 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10520156>>.

GRÄSER, Y.; SCOTT, J.; SUMMERBELL, R. The new species concept in dermatophytes-a polyphasic approach. **Mycopathologia**, v. 166, n. 5-6, p. 239-56, Nov-Dec 2008. ISSN 0301-486X (Print) 0301-486X (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18478366>>.

GRUBY, D. Recherches sur la nature, le siege et le developpement du porrigo decalvans ou phytoalopécie. . **C.R. Acad. Sci.**, v. 17, p. 301, 1843.

HAY, R. J. Tinea Capitis: Current Status. **Mycopathologia**, v. 182, n. 1-2, p. 87-93, Feb 2017. ISSN 1573-0832 (Electronic) 0301-486X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27599708> >.

HIRATA, R. et al. Molecular structure of a gene, VMA1, encoding the catalytic subunit of H(+)-translocating adenosine triphosphatase from vacuolar membranes of *Saccharomyces cerevisiae*. **J Biol Chem**, v. 265, n. 12, p. 6726-33, Apr 25 1990. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2139027> >.

JOHN, A. M.; SCHWARTZ, R. A.; JANNIGER, C. K. The kerion: an angry tinea capitis. **Int J Dermatol**, Oct 01 2016. ISSN 1365-4632 (Electronic) 0011-9059 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27696388> >.

JUNG, S. W. et al. Epidermophyton fungal keratitis following laser-assisted subepithelial keratectomy. **J Cataract Refract Surg**, v. 35, n. 12, p. 2157-60, Dec 2009. ISSN 1873-4502 (Electronic) 0886-3350 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19969224> >.

KANBE, T. Molecular approaches in the diagnosis of dermatophytosis. **Mycopathologia**, v. 166, n. 5-6, p. 307-17, Nov-Dec 2008. ISSN 0301-486X (Print) 0301-486X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18481195> >.

KANE, P. M. et al. Protein splicing converts the yeast TFP1 gene product to the 69-kD subunit of the vacuolar H(+)-adenosine triphosphatase. **Science**, v. 250, n. 4981, p. 651-7, Nov 2 1990. ISSN 0036-8075 (Print) 0036-8075 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2146742> >.

KAWAI, M. et al. A retrospective cohort study of tinea pedis and tinea unguium in inpatients in a psychiatric hospital. **Med Mycol J**, v. 55, n. 2, p. E35-41, 2014. ISSN 1882-0476 (Electronic). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24943206> >.

KONDORI, N. et al. Comparison of dermatophyte PCR kit with conventional methods for detection of dermatophytes in skin specimens. **Mycopathologia**, v. 176, n. 3-4, p. 237-41, Oct 2013. ISSN 1573-0832 (Electronic) 0301-486X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23948965> >.

LIU, D.; COLE, S. Epidermophyton. In: LIU, D. (Ed.). **Molecular detection of human fungal pathogens**. Boca Raton, Fla. : CRC, 2011. cap. 30, ISBN 9781439812402 (hbk.) 1439812403 (hbk.).

LOURDES, L. S. et al. Recurrent Dermatophytosis (Majocchi granuloma) Associated With Chemotherapy-Induced Neutropenia. **J Clin Oncol**, Jan 27 2014. ISSN 1527-7755 (Electronic) 0732-183X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24470005> >.

METIN, B.; HEITMAN, J. Sexual Reproduction in Dermatophytes. **Mycopathologia**, v. 182, n. 1-2, p. 45-55, Feb 2017. ISSN 1573-0832 (Electronic) 0301-486X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27696123> >.

MOCHIZUKI, T.; TAKEDA, K.; ANZAWA, K. Molecular Markers Useful for Intraspecies Subtyping and Strain Differentiation of Dermatophytes. **Mycopathologia**, v. 182, n. 1-2, p. 57-65, Feb 2017. ISSN 1573-0832 (Electronic) 0301-486X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27456819> >.

MOZES, R. et al. Dermatophyte surveillance in cats in three animal shelters in Ontario, Canada. **J Feline Med Surg**, v. 19, n. 1, p. 66-69, Jan 2017. ISSN 1532-2750 (Electronic) 1098-612X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26564915> >.

NOVIKOVA, O. et al. Intein Clustering Suggests Functional Importance in Different Domains of Life. **Mol Biol Evol**, v. 33, n. 3, p. 783-99, Mar 2016. ISSN 1537-1719 (Electronic) 0737-4038 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26609079> >.

NWEZE, E. I.; EKE, I. Dermatophytosis in northern Africa. **Mycoses**, v. 59, n. 3, p. 137-44, Mar 2016. ISSN 1439-0507 (Electronic) 0933-7407 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26692117> >.

PAUGAM, A. et al. Comparison of real-time PCR with conventional methods to detect dermatophytes in samples from patients with suspected dermatophytosis. **J Microbiol Methods**, v. 95, n. 2, p. 218-22, Nov 2013. ISSN 1872-8359 (Electronic) 0167-7012 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24001882> >.

PERLER, F. B. InBase, the Intein Database. **Nucleic Acids Res**, v. 28, n. 1, p. 344-5, Jan 1 2000. ISSN 0305-1048 (Print) 0305-1048 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10592269> >.

Perler, F. B. Inteins - A historical perspective. In: BELFORT, M.; DERBYSHIRE, V., et al (Ed.). **Homing endonucleases and inteins**. Berlin ; Heidelberg: Springer, 2008. p.xix, 377 p. (Nucleic Acids and Molecular Biology). ISBN 9783540852353.

QUINTANA-MURCI, L. et al. Genetic evidence of an early exit of Homo sapiens sapiens from Africa through eastern Africa. **Nat Genet**, v. 23, n. 4, p. 437-41, Dec 1999. ISSN 1061-4036 (Print) 1061-4036 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10581031> >.

RIPPON, J. W. **Medical Mycology : the pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes**. 3rd. Philadelphia: Saunders, 1988. ix, 797 p. ISBN 0721624448.

SHARMA, R.; GRÄSER, Y. Microsporium. In: LIU, D. (Ed.). **Molecular detection of human fungal pathogens**. Boca Raton, Fla. : CRC, 2011. cap. 36, ISBN 9781439812402 (hbk.) 1439812403 (hbk.).

SIMPANYA, M. F. Dermatophytes: Their taxonomy, ecology and pathogenicity **Biology of Dermatophytes and other Keratinophilic Fungi**, Bilbao, España, 2000. ISSN 84-607-0711-3. Disponível em: < <http://dermatophytes.reviberoammicol.com/contents.php?001012> >. Acesso em: abril.

SUN, P. L. et al. Cat favus caused by *Microsporum incurvatum* comb. nov.: the clinical and histopathological features and molecular phylogeny. **Med Mycol**, v. 52, n. 3, p. 276-84, Apr 2014. ISSN 1460-2709 (Electronic) 1369-3786 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24625676> >.

SURENDRAN, K. et al. A clinical and mycological study of dermatophytic infections. **Indian J Dermatol**, v. 59, n. 3, p. 262-7, May 2014. ISSN 1998-3611 (Electronic) 0019-5154 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24891657> >.

THEODORO, R. C.; BAGAGLI, E. Inteins in pathogenic fungi: a phylogenetic tool and perspectives for therapeutic applications. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 3, p. 497-504, May 2009. ISSN 1678-8060 (Electronic) 0074-0276 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19547879> >.

THEODORO, R. C.; BAGAGLI, E.; OLIVEIRA, C. Phylogenetic analysis of PRP8 intein in *Paracoccidioides brasiliensis* species complex. **Fungal Genet Biol**, v. 45, n. 9, p. 1284-91, Sep 2008. ISSN 1096-0937 (Electronic) 1087-1845 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18672080> >.

THEODORO, R. C. et al. PRP8 intein in cryptic species of *Histoplasma capsulatum*: evolution and phylogeny. **Infect Genet Evol**, v. 18, p. 174-82, Aug 2013. ISSN 1567-7257 (Electronic) 1567-1348 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23665464> >.

THEODORO, R. C. et al. PRP8 intein in *Ajellomycetaceae* family pathogens: sequence analysis, splicing evaluation and homing endonuclease activity. **Fungal Genet Biol**, v. 48, n. 2, p. 80-91, Feb 2011. ISSN 1096-0937 (Electronic) 1087-1845 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20682355> >.

TROCOLI DRAKENSJO, I.; VASSILAKI, I.; BRADLEY, M. Majocchi's Granuloma Caused by *Trichophyton mentagrophytes* in 2 Immunocompetent Patients. **Actas Dermosifiliogr**, v. 108, n. 1, p. e6-e8, Jan - Feb 2017. ISSN 1578-2190 (Electronic) 0001-7310 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26952202> >.

VANBREUSEGHEM, R. [Biological technique for isolating dermatophytes from soil]. **Ann Soc Belg Med Trop (1920)**, v. 32, n. 2, p. 173-8, Apr 30 1952. ISSN 0365-6527 (Print) 0365-6527 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14953089> >.

VERRIER, J.; MONOD, M. Diagnosis of Dermatophytosis Using Molecular Biology. **Mycopathologia**, v. 182, n. 1-2, p. 193-202, Feb 2017. ISSN 1573-0832 (Electronic) 0301-486X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27480761> >.

YOSHIDA, E. et al. Rapid identification of *Trichophyton tonsurans* by specific PCR based on DNA sequences of nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) 1 region. **J Dermatol Sci**, v. 42, n. 3, p. 225-30, Jun 2006. ISSN 0923-1811 (Print) 0923-1811 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16488118> >.

ZHAN, P.; LIU, W. The Changing Face of Dermatophytic Infections Worldwide. **Mycopathologia**, v. 182, n. 1-2, p. 77-86, Feb 2017. ISSN 1573-0832 (Electronic) 0301-486X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27783316> >.

References

- 1 Gräser Y, Scott J, Summerbell R. The new species concept in dermatophytes - a polyphasic approach. *Mycopathologia* 2008; 166: 239–56.
- 2 Albano AP, da Silva NP, Meirelles Leite AT, et al. Isolation of dermatophytes in wild felids from screening centers. *Braz J Microbiol* 2013; 44: 171–4.
- 3 Da Silva Lacaz C, Porto E, Costa Martins JE, Heins Vaccari EM, de Takahashi Melo N. *Tratado de Micologia Médica Lacaz*. Servier: São Paulo, 2002.
- 4 Rippon JW. *Medical Mycology: The Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes*. Philadelphia: Saunders, 1988.
- 5 Gräser Y, deHoog G, Kuijpers A. Recent advances in the molecular taxonomy of dermatophytes *Biology of Dermatophytes and other Keratinophilic Fungi*. *Revista Iberoamericana de Micología*: Bilbao, España, 2000.
- 6 Wu Y, Yang J, Yang F, et al. Recent dermatophyte divergence revealed by comparative and phylogenetic analysis of mitochondrial genomes. *BMC Genom* 2009; 10: 238.
- 7 Gräser Y, De Hoog S, Summerbell RC. Dermatophytes: recognizing species of clonal fungi. *Med Mycol* 2006; 44: 199–209.
- 8 Chen SC-A, David E, Sorrell TC, Meyer W. *Trichophyton*. In: Liu D (ed.), *Molecular Detection of Human Fungal Pathogens*. Boca Raton, FL: CRC, 2011: 357–375.
- 9 Kondori N, Tehrani PA, Strombeck L, Faergemann J. Comparison of dermatophyte PCR kit with conventional methods for detection of dermatophytes in skin specimens. *Mycopathologia* 2013; 176: 237–41.
- 10 Liu D, Cole S. *Epidermophyton*. In: Liu D (ed.), *Molecular Detection of Human Fungal Pathogens*. Boca Raton, FL: CRC, 2011: 241–246.
- 11 Pankewitz F, Nenoff P, Uhrlass S, Bezold G, Winter I, Gräser Y. Development of a novel polymerase chain reaction-enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of *Trichophyton rubrum* onychomycosis. *Br J Dermatol* 2013; 168: 1236–42.
- 12 Sharma R, Gräser Y. *Microsporum*. In: Liu D (ed.), *Molecular Detection of Human Fungal Pathogens*. Boca Raton, FL: CRC, 2011: 285–298.
- 13 Cafarchia C, Iatta R, Latrofa MS, Graser Y, Otranto D. Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of dermatophytes. *Infect Genet Evol* 2013; 20: 336–51.

- 14 Cafarchia C, Otranto D, Weigl S, et al. Molecular characterization of selected dermatophytes and their identification by electrophoretic mutation scanning. *Electrophoresis* 2009; 30: 3555–64.
- 15 da Costa FV, Farias MR, Bier D, et al. Genetic variability in *Microsporum canis* isolated from cats, dogs and humans in Brazil. *Mycoses* 2013; 56: 582–8.
- 16 Harmsen D, Schwinn A, Brocker EB, Frosch M. Molecular differentiation of dermatophyte fungi. *Mycoses* 1999; 42: 67–70.
- 17 Ohst T, de Hoog S, Presber W, Stavrakieva V, Graser Y. Origins of microsatellite diversity in the *Trichophyton rubrum*-*T. violaceum* clade (Dermatophytes). *J Clin Microbiol* 2004; 42: 4444–8.
- 18 Li HC, Bouchara JP, Hsu MM, Barton R, Su S, Chang TC. Identification of dermatophytes by sequence analysis of the rRNA gene internal transcribed spacer regions. *J Med Microbiol* 2008; 57: 592–600.
- 19 Makimura K, Tamura Y, Mochizuki T, et al. Phylogenetic classification and species identification of dermatophyte strains based on DNA sequences of nuclear ribosomal internal transcribed spacer 1 regions. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 920–4.
- 20 Yoshida E, Makimura K, Mirhendi H, et al. Rapid identification of *Trichophyton tonsurans* by specific PCR based on DNA sequences of nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) 1 region. *J Dermatol Sci* 2006; 42: 225–30.
- 21 de Ponzzes-Gomes CM, de Melo DL, Santana CA, et al. *Saccharomyces cerevisiae* and non-*Saccharomyces* yeasts in grape varieties of the Sao Francisco Valley. *Braz J Microbiol* 2014; 45: 411–6.
- 22 de Vega C, Guzman B, Steenhuisen SL, Johnson SD, Herrera CM, Lachance MA. *Metschnikowia drakensbergensis* sp. nov. and *Metschnikowia caudata* sp. nov., endemic yeasts associated with Protea flowers in South Africa. *Int J Syst Evol Microbiol* 2014; 64: 3724–32.
- 23 Kurtzman CP, Robnett CJ. Identification of clinically important ascomycetous yeasts based on nucleotide divergence in the 50 end of the large-subunit (26S) ribosomal DNA gene. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1216–23.
- 24 Shi XY, Yang YP, Zhang Y, et al. Molecular identification and antifungal susceptibility of 186 *Candida* isolates from vulvovaginal candidiasis in southern China. *J Med Microbiol* 2015; 64: 390–3.

- 25 Gräser Y, El Fari M, Vilgalys R, et al. Phylogeny and taxonomy of the family Arthrodermataceae (dermatophytes) using sequence analysis of the ribosomal ITS region. *Med Mycol* 1999; 37: 105–14.
- 26 White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds), *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. San Diego: Academic Press, 1990: 315–22.
- 27 Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol* 2013; 30: 2725–9.
- 28 Harris J, Stocker H. *Handbook of Mathematics and Computational Science*. New York: Springer, 1998.
- 29 Tamura K. Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G + C-content biases. *Mol Biol Evol* 1992; 9: 678–87.
- 30 Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 1985; 39: 783–91.
- 31 Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol* 1980; 16: 111–20.
- 32 Cafarchia C, Weigl S, Figueredo LA, Otranto D. Molecular identification and phylogenesis of dermatophytes isolated from rabbit farms and rabbit farm workers. *Vet Microbiol* 2012; 154: 395–402.
- 33 Ninet B, Jan I, Bontems O, et al. Identification of dermatophyte species by 28S ribosomal DNA sequencing with a commercial kit. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 826–30.
- 34 Leclerc MC, Philippe H, Gueho E. Phylogeny of dermatophytes and dimorphic fungi based on large subunit ribosomal RNA sequence comparisons. *J Med Vet Mycol* 1994; 32: 331–41.
- 35 Gräser Y, Kuijpers AF, Presber W, De HG. Molecular taxonomy of *Trichophyton mentagrophytes* and *T. tonsurans*. *Med Mycol* 1999; 37: 315–30.
- 36 Nenoff P, Herrmann J, Graser Y. *Trichophyton mentagrophytes* sive *interdigitale*? A dermatophyte in the course of time *J Dtsch Dermatol Ges* 2007; 5: 198–202.
- 37 Hryniewicz-Gwozd A, Jagielski T, Dobrowolska A, Szepietowski JC, Baran E. Identification and differentiation of *Trichophyton rubrum* clinical isolates using PCR-RFLP and RAPD methods. *Eur J Clin Microbiol* 2011; 30: 727–31.

- 38 Yang X, Sugita T, Takashima M, et al. Differentiation of *Trichophyton rubrum* clinical isolates from Japanese and Chinese patients by randomly amplified polymorphic DNA and DNA sequence analysis of the non-transcribed spacer region of the rRNA gene. J Dermatol Sci 2009; 54: 38–42.
- 39 Graser Y, Kuijpers AF, Presber W, de Hoog GS. Molecular taxonomy of the *Trichophyton rubrum* complex. J Clin Microbiol 2000; 38: 3329–36.
- 40 Santos DA, Araujo RAC, Hamdan JS, Cisalpino PS. *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton interdigitale*: genetic diversity among species and strains by random amplified polymorphic DNA method. Mycopathologia 2010; 169: 247–55.
- 41 Taylor TN, Hass H, Kerp H. The oldest fossil ascomycetes. Nature 1999; 399: 648.

Conclusion.

This is the first study on the PRP8 intein in dermatophytes. All studied species present a full-length PRP8 intein, with a HE belonging to the family LAGLIDADG. PRP8 inteins are hereby proven to constitute an efficient molecular marker in order to determine the phylogenetic relations among dermatophytes. Further studies can be performed by using other species such as some members from the *A. vanbreuseghemii* complex and *T. violaceum* for elucidating species borderlines and taxonomy. Because of the polymorphism difference in the HE region, some *Microsporum* species can be easily identified by a PCR-electrophoresis assay, as herein proposed.

Acknowledgements.

We are grateful to Marluce F. Hrycyck and Juliana Giacobino for supporting the current research and to Prof. Laerte Ferreira (UFRGS), Dr. Mauro Giudice (IMT-USP, SP) and Ana Carolina V. B. Weckwerth (ILSL Bauru) for supplying the isolates. We also thank CAPES-PEC-PG [grant 12481-13-0] for the PhD fellowship awarded to Hans G. Garces and CNPq [grant 306590/2015-8] for financial support.

References.

1. Da silva Lacaz C, Porto E, Costa Martins JE, Heins Vaccari EM, Takahashi de Melo N. *Tratado de Micología Médica Lacaz*, 9na Ed. edn. São Paulo: Servier; 2002.
2. Gräser Y, De Hoog S, Summerbell RC. Dermatophytes: recognizing species of clonal fungi. *Med Mycol*. 2006; 44(3): 199-209.
3. Gräser Y, Scott J, Summerbell R. The new species concept in dermatophytes-a polyphasic approach. *Mycopathologia*. 2008; 166(5-6): 239-256.
4. Costa-Orlandi CB, Magalhaes GM, Oliveira MB, *et al*. Prevalence of dermatomycosis in a Brazilian tertiary care hospital. *Mycopathologia*. 2012; 174(5-6): 489-497.
5. Fernandes S, Amaro C, da Luz Martins M, *et al*. Kerion caused by *Microsporum audouinii* in a child. *Med Mycol Case Rep*. 2013; 2: 52-54.

6. Ilkit M. Favus of the scalp: an overview and update. *Mycopathologia*. 2010; 170(3): 143-154.
7. Kawai M, Suzuki T, Hiruma M, Ikeda S. A retrospective cohort study of tinea pedis and tinea unguium in inpatients in a psychiatric hospital. *Med Mycol J*. 2014; 55(2): E35-41.
8. Rippon JW. *Medical Mycology : the pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes.*, 3rd edn. Philadelphia: Saunders; 1988.
9. Mochizuki T, Takeda K, Anzawa K. Molecular Markers Useful for Intraspecies Subtyping and Strain Differentiation of Dermatophytes. *Mycopathologia*. 2017; 182(1-2): 57-65.
10. Sharma R, Gräser Y. *Microsporum*. In: Liu D, ed. Molecular detection of human fungal pathogens. Boca Raton, Fla. : CRC; 2011.
11. Cafarchia C, Iatta R, Latrofa MS, Graser Y, Otranto D. Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of dermatophytes. *Infect Genet Evol*. 2013; 20: 336-351.
12. de Hoog GS, Dukik K, Monod M, *et al*. Toward a Novel Multilocus Phylogenetic Taxonomy for the Dermatophytes. *Mycopathologia*. 2017; 182(1-2): 5-31.
13. Lee B, Suh S. The Simplified Hair Baiting Technique and its Practical Application. . *Korean J Dermatol*. . 1982; 20(5): 695-702.
14. Lee SC, Ni M, Li W, Shertz C, Heitman J. The evolution of sex: a perspective from the fungal kingdom. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2010; 74(2): 298-340.
15. Liu D, Cole S. *Epidermophyton*. In: Liu D, ed. Molecular detection of human fungal pathogens. Boca Raton, Fla. : CRC; 2011.
16. Metin B, Heitman J. Sexual Reproduction in Dermatophytes. *Mycopathologia*. 2017; 182(1-2): 45-55.
17. Simpanya MF. *Dermatophytes: Their taxonomy, ecology and pathogenicity* Biology of Dermatophytes and other Keratinophilic Fungi. Bilbao, España: Revista Iberoamericana de Micología; 2000.
18. Bouchara JP, Mignon B, Chaturvedi V. Dermatophytes and Dermatophytoses: A Thematic Overview of State of the Art, and the Directions for Future Research and Developments. *Mycopathologia*. 2017; 182(1-2): 1-4.
19. Garcia Garces H, Hrycyk MF, Giacobino J, *et al*. Molecular identification and phylogenetical analysis of dermatophyte fungi from Latin America. *Mycoses*. 2016; 59: 787 - 797.
20. Verrier J, Monod M. Diagnosis of Dermatophytosis Using Molecular Biology. *Mycopathologia*. 2017; 182(1-2): 193-202.

21. Butler MI, Goodwin TJ, Poulter RT. A nuclear-encoded intein in the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*. *Yeast*. 2001; 18(15): 1365-1370.
22. Butler MI, Gray J, Goodwin TJ, Poulter RT. The distribution and evolutionary history of the PRP8 intein. *BMC Evol Biol*. 2006; 6: 42.
23. Theodoro RC, Bagagli E, Oliveira C. Phylogenetic analysis of PRP8 intein in *Paracoccidioides brasiliensis* species complex. *Fungal Genet Biol*. 2008; 45(9): 1284-1291.
24. Theodoro RC, Volkmann G, Liu XQ, Bagagli E. PRP8 intein in Ajellomycetaceae family pathogens: sequence analysis, splicing evaluation and homing endonuclease activity. *Fungal Genet Biol*. 2011; 48(2): 80-91.
25. Kane PM, Yamashiro CT, Wolczyk DF, *et al*. Protein splicing converts the yeast TFP1 gene product to the 69-kD subunit of the vacuolar H(+)-adenosine triphosphatase. *Science*. 1990; 250(4981): 651-657.
26. Hirata R, Ohsumi Y, Nakano A, *et al*. Molecular structure of a gene, VMA1, encoding the catalytic subunit of H(+)-translocating adenosine triphosphatase from vacuolar membranes of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*. 1990; 265(12): 6726-6733.
27. Cooper AA, Chen YJ, Lindorfer MA, Stevens TH. Protein splicing of the yeast TFP1 intervening protein sequence: a model for self-excision. *EMBO J*. 1993; 12(6): 2575-2583.
28. Derbyshire V, Wood DW, Wu W, *et al*. Genetic definition of a protein-splicing domain: functional mini-inteins support structure predictions and a model for intein evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997; 94(21): 11466-11471.
29. Liu XQ. Protein-splicing intein: Genetic mobility, origin, and evolution. *Annu Rev Genet*. 2000; 34: 61-76.
30. Nichols NM, Benner JS, Martin DD, Evans TC, Jr. Zinc ion effects on individual Ssp DnaE intein splicing steps: regulating pathway progression. *Biochemistry*. 2003; 42(18): 5301-5311.
31. Eryilmaz E, Shah N, Muir T, Cowburn D. Structural and Dynamical Features of Inteins and Implications on Protein Splicing. *J Biol Chem*. 2014
32. Perler FB. *Inteins - A historical perspective*. In: Belfort M, Derbyshire V, Stoddard BL, Wood DW, eds *Homing endonucleases and inteins*. Berlin ; Heidelberg: Springer; 2008: xix, 377 p.
33. Perler FB, Allewell NM. Evolution, Mechanisms and Applications of Intein-Mediated Protein Splicing. *J Biol Chem*. 2014; 289(21)
34. Gogarten JP, Senejani AG, Zhaxybayeva O, Olendzenski L, Hilario E. Inteins: structure, function, and evolution. *Annu Rev Microbiol*. 2002; 56: 263-287.

35. Novikova O, Jayachandran P, Kelley DS, *et al.* Intein Clustering Suggests Functional Importance in Different Domains of Life. *Mol Biol Evol.* 2016; 33(3): 783-799.
36. Poulter RT, Goodwin TJ, Butler MI. The nuclear-encoded inteins of fungi. *Fungal Genet Biol.* 2007; 44(3): 153-179.
37. Bokor AA, van Kan JA, Poulter RT. Sexual mating of *Botrytis cinerea* illustrates PRP8 intein HEG activity. *Fungal Genet Biol.* 2010; 47(4): 392-398.
38. Barzel A, Naor A, Privman E, Kupiec M, Gophna U. Homing endonucleases residing within inteins: evolutionary puzzles awaiting genetic solutions. *Biochem Soc Trans.* 2011; 39(1): 169-173.
39. Chevalier B, Monnat RJ, Jr., Stoddard BL. *The LAGLIDADG Homing Endonuclease Family*. In: Belfort M, Derbyshire V, Stoddard BL, Wood DW, eds Homing endonucleases and inteins. Berlin ; Heidelberg: Springer; 2008: xix, 377 p.
40. Hodges RA, Perler FB, Noren CJ, Jack WE. Protein splicing removes intervening sequences in an archaea DNA polymerase. *Nucleic Acids Res.* 1992; 20(23): 6153-6157.
41. Kawasaki M, Nogami S, Satow Y, Ohya Y, Anraku Y. Identification of three core regions essential for protein splicing of the yeast Vma1 protozyme. A random mutagenesis study of the entire Vma1-derived endonuclease sequence. *J Biol Chem.* 1997; 272(25): 15668-15674.
42. Alberts B. *Molecular biology of the cell*, 5th edn. New York: Garland Science; 2008.
43. Prandini TH, Theodoro RC, Bruder-Nascimento AC, Scheel CM, Bagagli E. Analysis of inteins in the *Candida parapsilosis* complex for simple and accurate species identification. *J Clin Microbiol.* 2013; 51(9): 2830-2836.
44. Theodoro RC, Scheel CM, Brandt ME, Kasuga T, Bagagli E. PRP8 intein in cryptic species of *Histoplasma capsulatum*: evolution and phylogeny. *Infect Genet Evol.* 2013; 18: 174-182.
45. Butler MI, Poulter RT. The PRP8 inteins in *Cryptococcus* are a source of phylogenetic and epidemiological information. *Fungal Genet Biol.* 2005; 42(5): 452-463.
46. Elleuche S, Pelikan C, Nolting N, Poggeler S. Inteins and introns within the prp8 - gene of four *Eupenicillium* species. *J Basic Microbiol.* 2009; 49(1): 52-57.
47. Perler FB. InBase, the Intein Database. *Nucleic Acids Res.* 2000; 28(1): 344-345.
48. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipinski A, Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol.* 2013; 30(12): 2725-2729.

49. Gonzales MJ, Dugan JM, Shafer RW. Synonymous-non-synonymous mutation rates between sequences containing ambiguous nucleotides (Syn-SCAN). *Bioinformatics*. 2002; 18(6): 886-887.
50. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*. 1994; 22(22): 4673-4680.
51. Schwartz RM, Dayhoff M. *Matrices for detecting distant relationships*. In: Dayhoff M, ed. Atlas of Protein Sequence and Structure. Silver Spring, MD: National Biomedical Research Foundation; 1978: 353-358.
52. Harris J, Stocker H. *Handbook of mathematics and computational science*. New York: Springer; 1998.
53. Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol*. 1980; 16(2): 111-120.
54. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*. 1985; 39: 783-791.
55. Jones DT, Taylor WR, Thornton JM. The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences. *Comput Appl Biosci*. 1992; 8(3): 275-282.
56. Kupfer DM, Drabenstot SD, Buchanan KL, *et al*. Introns and splicing elements of five diverse fungi. *Eukaryot Cell*. 2004; 3(5): 1088-1100.
57. Koufopanou V, Burt A. Degeneration and domestication of a selfish gene in yeast: molecular evolution versus site-directed mutagenesis. *Mol Biol Evol*. 2005; 22(7): 1535-1538.
58. da Costa FV, Farias MR, Bier D, *et al*. Genetic variability in *Microsporium canis* isolated from cats, dogs and humans in Brazil. *Mycoses*. 2013; 56(5): 582-588.
59. Sun PL, Mu CA, Fan CC, *et al*. Cat favus caused by *Microsporium incurvatum* comb. nov.: the clinical and histopathological features and molecular phylogeny. *Med Mycol*. 2014; 52(3): 276-284.
60. Surendran K, Bhat RM, Bloor R, Nandakishore B, Sukumar D. A clinical and mycological study of dermatophytic infections. *Indian J Dermatol*. 2014; 59(3): 262-267.
61. Burt A, Koufopanou V. Homing endonuclease genes: the rise and fall and rise again of a selfish element. *Curr Opin Genet Dev*. 2004; 14(6): 609-615.
62. Elleuche S, Nolting N, Poggeler S. Protein splicing of PRP8 mini-inteins from species of the genus *Penicillium*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2006; 72(5): 959-967.
63. Gogarten JP, Hilario E. Inteins, introns, and homing endonucleases: recent revelations about the life cycle of parasitic genetic elements. *BMC Evol Biol*. 2006; 6: 94.

64. Cafarchia C, Weigl S, Figueredo LA, Otranto D. Molecular identification and phylogenesis of dermatophytes isolated from rabbit farms and rabbit farm workers. *Vet Microbiol.* 2012; 154(3-4): 395-402.