


Пикобирнавирусы: распространенность, генетическое разнообразие, методы детекции

А.Ю. Кашников , Н.В. Епифанова, Н.А. Новикова

Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия

 e-mail: a.kashn@yandex.ru


Аннотация. Обзор посвящен пикобирнавирусам (ПБВ) – мелким безоболочечным изометрическим вирусам, таксономически относящимся к роду *Picobirnavirus* (PBV) семейства *Picobirnaviridae*, с геномом, представленным двумя сегментами двуцепочечной РНК. На основании публикаций за 1988–2019 гг. представлена информация о распространенности пикобирнавирусов в природе, о широком спектре поражаемых хозяев. Раскрыт оппортунистический характер ПБВ инфекции и подчеркивается отсутствие ясной картины в понимании роли ПБВ в качестве этиологического агента диареи, поскольку эти вирусы выявляются и при отсутствии симптомов заболевания. Рассматривается концепция, обосновывающая представление о ПБВ инфекции как о хроническом заболевании, обусловленном длительной персистенцией вируса в организме хозяина. Причины высокой частоты выявления ПБВ у людей и животных объясняются влиянием таких факторов, как стрессовый синдром, физиологическое состояние, иммунный статус и возраст хозяина при первичном инфицировании. Отмечается возможный зоонозный характер ПБВ инфекции человека, природа которого объясняется способностью этих вирусов к межвидовой трансмиссии, приобретенной в ходе эволюции благодаря реассортации сегментов генома разных вирусов, инфицировавших одного хозяина. Приводятся данные, доказывающие принадлежность ПБВ к вирусам эукариот, а также ставящая эти факты под сомнение гипотеза о возможной принадлежности ПБВ к вирусам бактерий. Подчеркнута необходимость активизации работ по выявлению ПБВ в связи с их широким распространением, несмотря на сложность из-за отсутствия системы для их культивирования. В качестве основных способов их детекции рассмотрены две стратегии ОТ-ПЦР ПБВ. Приведена характеристика геномов отдельных представителей рода, выделенных от разных хозяев. Акцент сделан на целесообразности разработки праймеров с более широкой специфичностью для увеличения диапазона выявляемых представителей рода ПБВ в связи с огромным разнообразием их генотипов. Подчеркивается важность эффективного мониторинга распространенности ПБВ для изучения их зоонозного и антропонозного потенциала с помощью метагеномного анализа, а также возможность использования этих вирусов в качестве перспективного маркера для мониторинга за чистотой окружающей среды. Ключевые слова: пикобирнавирус; сегмент генома; фрагмент сегмента генома; ОТ-ПЦР; праймер; ампликон; секвенирование.

Для цитирования: Кашников А.Ю., Епифанова Н.В., Новикова Н.А. Пикобирнавирусы: распространенность, генетическое разнообразие, методы детекции. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2020;24(6):661-672. DOI 10.18699/VJ20.660

Picobirnaviruses: prevalence, genetic diversity, detection methods

A.Yu. Kashnikov , N.V. Epifanova, N.A. Novikova

I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia

 e-mail: a.kashn@yandex.ru

Abstract. This article presents a general overview of the prevalence, genetic diversity and detection methods of picobirnaviruses (PBVs), which are small, non-enveloped icosahedral viruses with a segmented double-stranded RNA genome consisting of two segments taxonomically related to the genus *Picobirnavirus* of the family *Picobirnaviridae*. This review of scientific papers published in 1988–2019 provides data on the PBV distribution in the nature and a broad host range. PBV infection is characterized as opportunistic, the lack of understanding of the etiological role of PBVs in diarrhea is emphasized, since these viruses are detected both in symptomatic and asymptomatic cases. The concept of PBV infection as a chronic disease caused by a long-lasting persistence of the virus in the host is considered. Such factors as stress syndrome, physiological conditions, immune status and host age at the time of primary PBV infection influence the virus detection rate in humans and animals. The possible zoonotic nature of human PBV infection is noted due to the capacity for interspecies PBV transmission acquired during evolution as a result of the reassortment of the genome segments of different viruses infecting the same host. Data providing evidence that PBVs belong to eukaryotes and a challenging hypothesis stating that PBVs are bacterial viruses are presented. The need to intensify work on PBV detection because of their wide distribution, despite the complexity due to the lack of the cultivation system, is emphasized. Two strategies of RT-PCR as main PBV detection methods

are considered. The genomes of individual representatives of the genus isolated from different hosts are characterized. Emphasis is placed on the feasibility of developing primers with broader specificity for expanding the range of identifiable representatives of the genus PBV due to a huge variety of their genotypes. The importance of effective monitoring of PBV prevalence for studying the zoonotic and anthroponotic potential using metagenomic analysis is highlighted, and so is the possibility of using PBV as a marker for environmental monitoring.

Key words: picobirnavirus; genomic segment; specific genomic fragment; RT-PCR; primer; amplicon; sequencing.

For citation: Kashnikov A.Yu., Epifanova N.V., Novikova N.A. Picobirnaviruses: prevalence, genetic diversity, detection methods. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(6):661-672. DOI 10.18699/VJ20.660

История открытия пикобирнавирусов

В 1988 г. в Бразилии при исследовании фекалий больных острым гастроэнтеритом методом электрофореза в полиакриламидном геле (ЭФ в ПААГ) с целью выявления сегментированного генома ротавирусов в ряде образцов впервые были обнаружены профили из двух полос (Pereira et al., 1988a). Сходные профили были выявлены и при исследовании содержимого кишечника крыс (Pereira et al., 1988b). Данные сегменты представляли собой двуцепочечную РНК (дцРНК). Их длина оценивалась по электрофоретической подвижности примерно в 2.6 и 1.5 тыс. пар оснований для медленно- и быстромигрирующего сегментов соответственно. Эта РНК коседиментировала в градиенте хлористого цезия при плотности 1.39–1.40 г/мл с однородными частицами диаметром ~35 нм с нечеткой структурой поверхности, выявляемыми при электронномикроскопическом исследовании образцов. Авторы предложили для новых, ранее не описанных мелких вирусов с бисегментированным РНК-овым геномом название «пикобирнавирусы» (от *pico* – мелкий, *bi* – два, *RNA* – РНК), в отличие от известных, более крупных бирнавирусов, инфицирующих птиц, рыб, насекомых и моллюсков.

Дальнейшие исследования показали широкую распространённость пикобирнавирусов (ПБВ). Они были обнаружены в фекалиях наземных и морских млекопитающих, рептилий, птиц (Ganesh et al., 2014; Malik et al., 2014; Conceicao-Neto et al., 2016; Navarro et al., 2018), в дыхательных путях свиней (Smits et al., 2011) и людей (Smits et al., 2012), у рыб, беспозвоночных (Delmas et al., 2019), грибов (Yinda et al., 2018), а по последним данным, и у бактерий (Krishnamurthy, Wang, 2018). Хронология обнаружения ПБВ у человека и животных по данным с 1988 по 2018 г. представлена в таблице.

Таксономия

Пикобирнавирусы (сем. *Picobirnaviridae*) – семейство безоболочечных мелких сферических вирусов, относящееся по классификации Балтимора к III классу вирусов с двуцепочечным РНК-геномом (<https://viralzone.expasy.org>). Семейство состоит из одного рода *Picobirnavirus*, объединяющего вирусы пяти генетически варьируемых классов (геногрупп) (Luo et al., 2018).

Международным комитетом по таксономии вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses – ICTV) в 2008 г. ПБВ были разделены на два вида: пикобирнавирус человека и пикобирнавирус кролика (Delmas et al., 2019). Пикобирнавирусы других хозяев до настоящего времени не утверждены в качестве типовых видов и считаются неклассифицированными (Malik et al., 2014; Takiuchi et al., 2016). Кроме того, до конца не ясно, эукариоты или

бактерии являются естественным хозяином ПБВ (Krishnamurthy, Wang, 2018). Информация о таксономии *Picobirnaviridae* доступна в кратком изложении отчета ICTV по ссылке www.ictv.global/report/picobirnaviridae. Таксономически ближайшими родственниками ПБВ считаются вирусы семейства *Partitiviridae*, имеющие с ними сходную структуру капсида и организацию генома (Delmas et al., 2019). Естественные хозяева партитивирусов – грибы и растения (Vainio et al., 2018).

Структурная и молекулярная организация ПБВ

Морфологически вирионы ПБВ представляют собой безоболочечные частицы диаметром 35–40 нм с нечеткой структурой поверхности (рис. 1) (Rosen et al., 2000; Wakuda et al., 2005; Duquerroy et al., 2009; Collier et al., 2016). Капсид обладает кубическим (икосаэдрическим) типом симметрии, имеет 30-стороннюю (триаконтаэдрическую) организацию и состоит из 60 асимметричных субъединиц, являющихся гомодимерами (рис. 2). Эти субъединицы формируют 60 выступов на поверхности капсида. Поскольку каждая из субъединиц является димером, то в общей сложности капсид состоит из 120 белковых молекул, что позволяет при характеристике симметрии вириона отнести ПБВ к структурам с триангуляционным числом Т, равным 2. В капсиде имеются каналы, связывающие внутреннюю полость с поверхностью вириона (Duquerroy et al., 2009).

Заметно отличаясь по архитектуре капсида от вирусов высших эукариот, имеющих дцРНК (*Reoviridae*), ПБВ схожи с дцРНК-вирусами семейства *Partitiviridae* (Ochoa et al., 2008). Однако, по последним данным, в отличие от партитивирусов ПБВ могут инфицировать кроме грибковых клеток-хозяев также прокариотические клетки (Knox et al., 2018).

Геном ПБВ состоит из двух сегментов двуцепочечной РНК, размеры которых различаются у вирусов, выделенных от разных видов животных. При электрофорезе в полиакриламидном геле (ПААГ) эти сегменты расходятся относительно друг друга на определенное расстояние. При этом формируются два типа электрофореграмм: с «большим» (сегменты расположены выше) профилем генома (2.7 и 1.9 тыс. п. о. для сегментов 1 и 2 соответственно) и с «малым» профилем (сегменты расположены ниже, 2.2 и 1.2 тыс. п. о.) (рис. 3) (Duquerroy et al., 2009).

Более крупный сегмент 1 генома ПБВ может состоять из двух или трех рамок считывания (open reading frame – ORF). Следует отметить, что в большинстве работ сегмент 1 генома ПБВ схематически представлен в виде двух ORF, например в схемах геномов ПБВ человека (Rosen et

История выявления ПБВ

Год обнаружения	Хозяин ПБВ	Место обнаружения	Исследователи
1988	Человек, крыса	Бразилия	Pereira et al.
	Курица	»	Alfieri et al.
1989	Свинья	»	Gatti et al.
	Морская свинка	»	Pereira et al.
1990	Теленок	Болгария	Vanopdenbosch, Wellemans
1991	Жеребенок	Великобритания и Ирландия	Browning et al.
1993	Кролик	Великобритания	Gallimore et al.
1996	Коза, овца	Испания	Munoz et al.
1999	Хомяк, крыса, гигантский муравьед	Бразилия	Haga et al.
2001	Собака	»	Volotão et al.
2007	Осел	Аргентина	Masachessi et al.
	Обезьяна	США	Wang et al.
2009	Змея	Бразилия	Fregolente et al.
2010	Индейка	Калифорния, США	Day et al.
2012	Страус	Южная Америка	Masachessi et al.
	Морской лев	Гонконг, Китай	Woo et al.
2013	Лисица	Нидерланды	Bodewes et al.
	Летучая мышь	Регионы Китая	Yang et al.
	Гигантские кошки	Уругвай	Gillman et al.
2014	Верблюд	Гонконг, Китай	Woo et al.
2015	Орангутанг	Юго-Восточная Азия	Masachessi et al.
2016	Волк	Португалия	Conceicao-Neto et al.
2017	Косуля	Словения	Kuhar et al.
2018	Крупный рогатый скот	Бразилия	Navarro et al.
2016–2018	Рыбы, беспозвоночные, моллюски, водоросли	Китай	Shi et al.

al., 2000), свиньи (Carruyo et al., 2008), быка (Ghosh et al., 2009), морского льва (Woo et al., 2012), лисицы (Bodewes et al., 2013), индейки (Verma et al., 2015), лошади (Li et al., 2015), гориллы (Duraisamy et al., 2018), сурка (Luo et al., 2018). В ряде других работ сегмент 1 состоит из трех ORF, как, например, в схемах геномов кролика (Green et al., 1999), косули (Kuhar et al., 2017) и курицы (Boros et al., 2018).

В схемах, где сегмент 1 состоит из трех рамок считывания, самая маленькая рамка ORF1 кодирует полипептид, включающий всего несколько десятков аминокислот. Так, в схеме генома ПБВ человека (штамм Ну005102), представленной King et al. (2012), ORF1, предшествующая двум большим рамкам – ORF2 и ORF3, кодирующим пептиды из 224 и 552 аминокислот, состоит всего из 39 кодонов (рис. 4). В схемах геномов кролика, косули и курицы в исследованиях (Green et al., 1999; Kuhar et al., 2017; Boros et al., 2018) ORF1 немного больше: 55, 63 и 188 кодонов соответственно. Функциональность рамки ORF1 неясна, в связи с чем некоторые исследователи даже не всегда упоминают о ее присутствии (Boros et al., 2018).

Рамка ORF2 в схемах с сегментом 1, состоящим из трех ORF, кодирует так называемый гидрофильный пептид, содержащий консервативные повторяющиеся последовательности, что является одной из основных особенностей генома ПБВ (Boros et al., 2018). Есть предположение, что

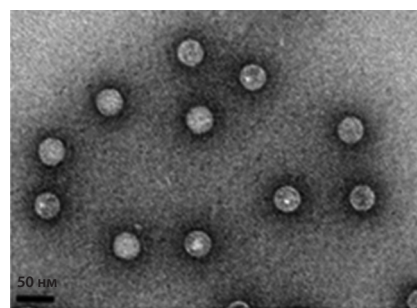


Рис. 1. Электронно-микроскопические изображения очищенных и сконцентрированных частиц ПБВ, из (Collier et al., 2016). Гексагональный контур частиц служит доказательством их икосаэдрической симметрии.

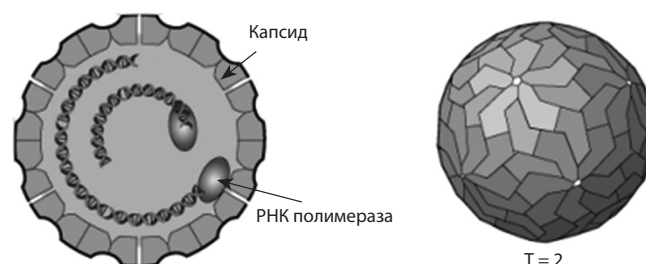


Рис. 2. Вирион ПБВ, из https://viralzone.expasy.org/by_species/740

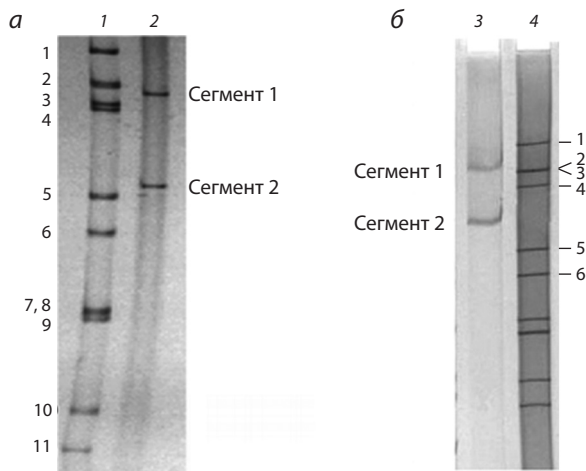


Рис. 3. «Большой» (а) и «малый» (б) профили миграции сегментов РНК ПБВ в ПААГ в сравнении с профилем миграции РНК ротавирусов, из (Wakuda et al., 2005; Ghosh et al., 2009).

1 – ротавирус обезьян SA-11; 2 – ПБВ человека Hu005102; 3 – ПБВ крупного рогатого скота RUBV-P; 4 – ротавирус человека D5-1.

рамки ORF1 и ORF2 при транскрипции могут сдвигаться и генерировать один длинный белок (Green et al., 1999).

Третья, наибольшая, рамка считывания (ORF3) в сегменте 1 ПБВ кодирует белок капсида вируса, состоящий из 552–591 аминокислот. Рамки могут перекрываться. В схеме King et al. (2012) соединение ORF1–ORF2 перекрывается восемью нуклеотидами, а ORF2–ORF3 – одним нуклеотидом.

Меньший по размеру сегмент 2 генома пикобирнавирусов содержит одну ORF, кодирующую фермент РНК-зависимую РНК-полимеразу (RNA-dependent-RNA-polymerase – RdRp) (см. рис. 4). По различиям в специфичности гена RdRp в сегменте 2 генома пикобирнавирусы делят на геногруппы (Malik et al., 2014).

Кроме описанных выше «типичных» ПБВ, с помощью ЭФ в ПААГ были обнаружены «атипичные» ПБВ, сначала в фекалиях телят (Vanopdenbosch, Wellemans, 1989), а позднее – в фекалиях человека (Gallimore et al., 1995a; Khramtsov et al., 1997). У «атипичных» ПБВ геном меньше, чем у «типичных» (размеры 1-го и 2-го сегментов РНК составляют 1.75–1.79 и 1.37–1.55 тыс. п. о. соответственно), и отличается по месту расположения генов, кодирующих

функциональные белки (Gallimore et al., 1995b; Khramtsov et al., 1997). Если у «типичных» ПБВ вирусную РНК-полимеразу кодирует сегмент 2, а сегмент 1 кодирует капсидный белок, то у «нетипичных» – наоборот.

Как правило, геном ПБВ сегментирован (Duquerroy et al., 2009; Delmas et al., 2019). Однако недавно были описаны несколько несегментированных геномов ПБВ, принадлежащих к различным генетическим кластерам, в частности у ПБВ лошадей (Li et al., 2015), гималайских сурков (Luo et al., 2018), рыб и беспозвоночных (Shi et al., 2016). Установлено, что между ПБВ с сегментированным и несегментированным геномом существует эволюционная связь, которая обусловлена возможностью перехода из одной формы в другую (Luo et al., 2018). Оказалось, что геном ПБВ сурка может находиться как в сегментированной, так и в несегментированной форме. Несегментированный геном содержит три рамки считывания – ORF1, ORF2, ORF3, кодирующие гидрофильный белок, капсидный белок и RdRp соответственно (Luo et al., 2018).

Исследования ПБВ, проведенные с помощью секвенирования, показали, что вирусы чрезвычайно вариабельны (Bányai et al., 2003, 2008; Carruyo et al., 2008; Smits et al., 2011; Ganesh et al., 2014; Malik et al., 2014; Li et al., 2015; Duraisamy et al., 2018; Luo et al., 2018). Вариабельность генома ПБВ объясняется характерной для них генетической изменчивостью, обусловленной не столько изменением первичной структуры в результате мутаций, сколько способностью к реассортации между сегментами генома (Woo et al., 2019).

До 2014 г. на основе изучения коротких неполных последовательностей гена RdRp исследователями выделялись две основные геногруппы ПБВ (Malik et al., 2014). При анализе последовательностей ПБВ, представленных в базе данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pnuccore>) по состоянию на 17.07.2014 отмечено (Malik et al., 2014), что 83.11 % последовательностей принадлежат ПБВ геногруппы I (GI) и только 2.52 % – геногруппы II (GII), что соотносится с распространенностью представителей этих геногрупп в природе.

Однако результаты дальнейших исследований показали, что диапазон генетического разнообразия ПБВ гораздо шире и не может быть охарактеризован только двумя геногруппами. В 2014–2015 гг. появились сообщения об обнаружении нового генетического варианта ПБВ в образцах фекалий человека (Smits et al., 2014) и в окружающей

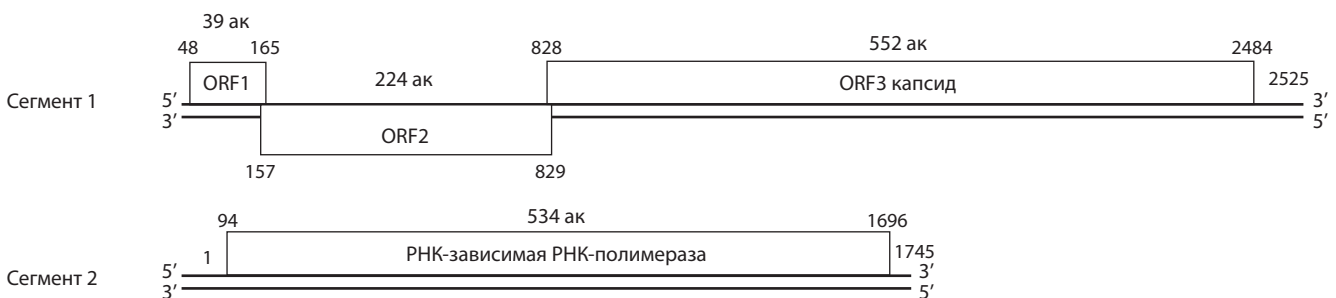


Рис. 4. Схематическое изображение расположения генов в сегментах 1 и 2 дцРНК штамма Hu005102 пикобирнавируса человека, из (King et al., 2012).

Числа указывают положение нуклеотидов; ак – аминокислота.

среде (Zhang S. et al., 2015). Новые ПБВ человека проявили низкое сходство (19.4–26.1 %) по последовательности аминокислот в продукте гена RdRp с ПБВ человека генотипов I и II, что позволило отнести их к генотипу III (PBV GIII/Homo sapiens/VS6600008/2008/NL/KJ206569 в GenBank). В 2015 г. у лошадей были выявлены пикобирнавирусы, которые при филогенетическом анализе аминокислотных последовательностей участка РНК-зависимой РНК-полимеразы размером 450 аминокислот формировали отдельные кластеры и были отнесены к двум новым генотипам – GIV и GV (Li et al., 2015).

Таким образом, в настоящее время по специфическим участкам гена RdRp пикобирнавирусы делят на пять генотипов: GI–GV. При этом сходство аминокислотных последовательностей РНК-зависимой РНК-полимеразы внутри генотипов варьирует от 44.8 до 97.1 %, тогда как между генотипами – от 21.6 до 30.8 % (Li et al., 2015). У человека выделены ПБВ четырех генотипов: GI, GII, GIII (Smits et al., 2014) и GV (Ng et al., 2014). У сурка выявлены все пять генотипов ПБВ (Luo et al., 2018). Пикобирнавирусы генотипа GIII обнаружены в диатомовых водорослях и у беспозвоночных животных (Shi et al., 2016, 2018; Delmas et al., 2019).

Согласно принятой в настоящее время номенклатуре пикобирнавирусов, предложенной Fregolente et al. (2009), название штамма начинается с обозначения генотипа (GI–GV), за которым следует аббревиатура PBV, общее название видов-хозяев, трехбуквенный код страны, название штамма и год изоляции, разделенные косой чертой. С использованием данной номенклатуры штаммы ПБВ, выявленные у человека и индюка, получили следующие обозначения: GI/PBV/human/BRA/PBV_RVH275/2013 (ПБВ человека) и GI/PBV/turkey/USA/MN-1/2011 (ПБВ индюка).

Опportunистический характер ПБВ инфекции. О персистенции ПБВ

Несмотря на то что ПБВ часто обнаруживаются у животных и людей с диареей отдельно и в коинфекции с другими патогенами (Ganesh et al., 2014), их роль в качестве возбудителя кишечного расстройства остается недоказанной, поскольку они выявляются и при отсутствии симптомов заболевания (Masachessi et al., 2007; Martínez et al., 2010; Verma et al., 2015). Например, в исследовании Verma et al. (2015) показано, что экскреция ПБВ у индюков не была связана с симптомами диареи. Из 80 образцов фекалий от птиц с диареей и 40 образцов без диареи ПБВ содержались в 39 (48.8 %) и 23 (57.5 %) соответственно.

Не обнаружено и явной связи с диареей при выявлении ПБВ у людей и животных, зараженных другими патогенами, вызывающими гастроэнтерит. Для установления этиологической роли ПБВ необходимы подбор подходящей для размножения вируса клеточной культуры, а также эксперименты на гнотобиотических животных (Ganesh et al., 2014).

Уже с конца 1990-х гг. ПБВ стали идентифицировать как оппортунистов за их способность провоцировать диарею у зараженных первичным патогеном животных или людей с ослабленным иммунитетом и в дальнейшем проявляться у них в виде хронического заболевания с признаками и без признаков диареи (Giordano et al., 1998;

González et al., 1998; Martínez et al., 2003; Masachessi et al., 2007, 2012; Ghosh et al., 2009). Существует концепция об оппортунистическом (условно-патогенном) характере ПБВ инфекции, которая представлена в обзоре (Ganesh et al., 2014) и других сообщениях, основанных на результатах обследования здоровых животных на наличие ПБВ (Masachessi et al., 2007; Carruyo et al., 2008; Martínez et al., 2010). Хронический характер ПБВ инфекции в этой концепции объясняется длительной персистенцией вируса в организме хозяина (Ganesh et al., 2014). Персистирующий характер инфекции проявляется чередованием периодов «молчания», при которых вирус не удается выявить даже с применением высокочувствительных методов, с периодами низкой и высокой вирусной экскреции. При этом у инфицированных ПБВ хозяев могут отсутствовать симптомы диареи, но на протяжении всей жизни они будут оставаться носителями вируса и служить резервуарами инфекции. В частности, результаты исследования Carruyo et al. (2008) показали, что ПБВ могут инфицировать молодых поросят в возрасте от 7 до 56 дней (более 10–12 % от числа обследованных) и выделяться у них без признаков болезни.

Уровень экскреции вируса вирусонесителями обусловлен рядом факторов, таких как стрессовый синдром, физиологическое состояние, возраст первично инфицируемого, иммунный статус хозяев и условия окружающей среды (биотические и абиотические факторы). Перечисленные факторы способствуют росту вирусной нагрузки. При взятии проб с учетом этих факторов удавалось обнаружить пикобирнавирусы методом ЭФ в ПЛАГ с большей частотой.

Зависимость уровня выявления ПБВ от стресса, обусловленного неволей хозяина, в 2014–2015 гг. наблюдали у африканских зеленых обезьян с Карибских островов (Gallagher et al., 2017). Было обследовано 270 обезьян без диареи, 160 из которых обитали в дикой природе, 110 – содержались в неволе и участвовали в научных экспериментах. Методом ЭФ в ПЛАГ пикобирнавирусы были обнаружены у 16 обезьян (14.5 %), содержащихся в неволе в стрессовых условиях эксперимента. Ни один из образцов фекалий обезьян, находящихся на свободе, не дал положительных результатов на ПБВ (Gallagher et al., 2017).

Исследователи из Аргентины отметили зависимость уровня выявления ПБВ от физиологического состояния животных, в частности периода репродукции, на примере свиней (Martínez et al., 2010). Наблюдения показали, что ПБВ оставался в организме хозяина как постоянная инфекция, при которой периоды его низкой и высокой экскреции чередовались с периодами «молчания». Низкие уровни экскреции ПБВ обнаруживались с помощью обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) в течение всего периода исследования. При резком возрастании уровня экскреции ПБВ у свиней, наблюдаемом в период родов и грудного вскармливания, вирус выявлялся не только с помощью ОТ-ПЦР, но и методом ЭФ в ПЛАГ. Самый высокий уровень экскреции вируса приходился на лактогенный период. В это время положительными на ПБВ оказались 38.02 % проб, взятых от 71 свиноматки. Далее по активности экскреции следовал заключительный период беременности и родов: 15.09 % проб в группе из 53 беременных свиноматок (Martínez et al., 2010).

Показана зависимость уровня экскреции ПБВ от возраста животного. В работе (Takiuchi et al., 2016) из 289 фекальных проб, взятых у телят возрастом до 60 дней и проанализированных ЭФ в ПААГ, ПБВ были обнаружены в 8.3 % случаев (24/289). Martínez et al. (2010) наблюдали высокий уровень экскреции ПБВ у молодняка свиней в возрасте 2–5 мес. (18.42 %), тогда как у взрослых самцов экскреции не найдено. Исследование на индейках также выявило изменение частоты обнаружения ПБВ (Verma et al., 2015). Из 80 образцов фекалий индеек 39 (48.8 %) были положительными на ПБВ. При этом максимальное количество образцов было ПБВ-положительно у индюшат в возрасте двух (20/20) и трех (15/20) недель. Резкое снижение уровня экскреции ПБВ у индеек (2/20), наблюдаемое на восьмой неделе, свидетельствовало о решающем влиянии на этот процесс их возраста.

Уровень экскреции ПБВ зависит также от иммунного статуса хозяина. Установлено, что у людей с ослабленным иммунитетом ПБВ обнаруживаются чаще (Giordano et al., 1998, 1999; González et al., 1998). Так, при исследовании 197 фекальных образцов от ВИЧ-инфицированных и неинфицированных пациентов с диареей и без диареи методом ЭФ в ПААГ пикобирнавирусы были найдены у 8.8 % из 57 ВИЧ-инфицированных больных с диареей (Giordano et al., 1998). У неинфицированных ВИЧ пациентов без диареи ПБВ не обнаружены. В ходе дальнейших исследований авторы укрепились во мнении о взаимосвязи уровня экскреции ПБВ с диареей у ВИЧ-инфицированных. При анализе 244 фекальных образцов, собранных от ВИЧ-инфицированных и неинфицированных пациентов с диареей и без диареи, ПБВ были обнаружены у 14.63 % из 82 ВИЧ-инфицированных больных с диареей и не обнаружены ни в одном случае при отсутствии диареи и в группе неинфицированных ВИЧ (Giordano et al., 1999). При определенном уровне экскреции ПБВ признаки диареи у ВИЧ-инфицированных пациентов могут отсутствовать, но ПБВ выявляются, как, например, в работе (González et al., 1998), где у 2.3 % из 125 ВИЧ-инфицированных пациентов без диареи на момент обследования были обнаружены ПБВ.

На уровень экскреции ПБВ могут оказывать влияние биотические факторы окружающей среды, такие как первичные патогены. В ряде исследований ПБВ обнаруживаются чаще при коинфекции с первичными возбудителями диареи, например ротавирусами (Kuhar et al., 2017) или норовирусами (Bányai et al., 2003). Предполагают, что при коинфекции ПБВ с основными возбудителями при диарее наблюдается синергический эффект (Malik et al., 2014; Kylla et al., 2019).

На вирусную активность влияют и климатические факторы – солнечный свет (Masachessi et al., 2015), температура и влажность (Ribeiro et al., 2014). Все перечисленные факторы необходимо учитывать при выявлении ПБВ.

Зоонозный характер ПБВ инфекции.

Способность ПБВ к межвидовой трансмиссии

Значительная часть вирусных заболеваний человека имеет зоонозное происхождение. На зоонозный характер ПБВ инфекции указывает обнаружение генетически родственных ПБВ у людей и животных. В частности, у

свиней в Венгрии, Венесуэле и Аргентине были выявлены ПБВ геногруппы I, которые при секвенировании генома проявили генетическое сходство с ПБВ человека геногруппы I (Bányai et al., 2008; Carruyo et al., 2008; Giordano et al., 2011). Сообщалось об обнаружении у детей в Калькутте штаммов ПБВ, генетически связанных со штаммами ПБВ свиней (Ganesh et al., 2010, 2011a). Штаммы ПБВ лошадей, выделенные из фекалий домашних жеребят в Калькутте (Индия), показали генетическую связь со штаммами ПБВ человека из того же города (Ganesh et al., 2011b). Обнаружены генетически сходные ПБВ у людей и лис (Lojkić et al., 2016), у людей и летучих мышей (Yinda et al., 2019). Так, авторы последнего сообщения отмечали, что причиной зоонозной передачи ПБВ человеку от летучих мышей у жителей Камеруна стала охота на летучих мышей и употребление их в пищу (Yinda et al., 2019).

Зоонозная передача ПБВ – один из вариантов межвидовой трансмиссии, способность к которой была приобретена пикобирнавирусами в процессе эволюции благодаря процессу реассортации сегментов их генома при одновременном инфицировании одной клетки ПБВ разных видов (McDonald et al., 2016). Обусловленная реассортацией генетическая лабильность могла привести в ходе эволюции или к генетическому сближению (конвергенции) штаммов ПБВ, принадлежащих разным хозяевам, или, наоборот, к генетической дивергенции – генетическому отдалению ПБВ, принадлежащим хозяевам одного вида (Lojkić et al., 2016).

Способность к межвидовой трансмиссии ПБВ находит подтверждение как в случаях зоонозного заражения, так и в случаях инфицирования пикобирнавирусами человека животных, например молодых свиней (Carruyo et al., 2008) или лошадей (Ganesh et al., 2011b). Геномы некоторых штаммов ПБВ свиней оказались идентичны геномам штаммов ПБВ человека геногруппы I (Ganesh et al., 2014). В 2011 г. были обнаружены генетически сходные ПБВ в респираторных трактах свиней и человека (Smits et al., 2011, 2012).

Генетическая дивергенция родственных штаммов ПБВ была продемонстрирована в работе (Zhang B. et al., 2014). Так, три из четырех ПБВ свиней, выявленных в исследовании, оказались генетически ближе к ПБВ человека, чем к ранее охарактеризованному ПБВ свиней.

Возможен и перенос штаммов ПБВ от одного хозяина к другому через загрязненные фекалиями неочищенные сточные воды (Symonds et al., 2009). В экологическом исследовании Symonds et al. (2009) отмечается, что высокая частота обнаружения ПБВ в сточных и очищенных водах (100 и 33 % соответственно) может служить показателем (маркером) фекального загрязнения при мониторинге качества воды в природных водоемах.

Гипотеза о фаговой природе ПБВ

Считают, что ПБВ – это вирусы животных, так как обычно их выявляют в образцах стула животных. Однако до сих пор не найдена модель животного или клеточная культура для их размножения. Недавно индийские ученые выдвинули и обосновали экспериментально предположение, что ПБВ могут быть РНК-вирусами прокариот (Krishnamurthy, Wang, 2018). Гипотеза основана на том, что в

геноме ПБВ перед тремя открытыми рамками считывания выше кодонов инициации в сегменте 1 и перед ORF в сегменте 2, подобно вирусам прокариот с РНК-геномом, присутствуют консервативные SD-участки, называемые последовательностями Шайна–Дальгарно (Shine–Dalgarno sequence). Такие участки представляют собой гексамеры (AGGAGG), предшествующие кодонам, иницирующим трансляцию последовательностей вирусного генома. У вирусов бактерий эти гексамеры являются сайтами связывания с бактериальными рибосомами и служат для усиления эффективности трансляции вирусных белков. Например, такие сайты присутствуют в геноме у некоторых бактериофагов семейства *Cystoviridae* с сегментированным дцРНК-геномом (Boros et al., 2018).

Предположение, что ПБВ представляют собой новое семейство РНК-бактериофагов, нашло подтверждение также в работе (Adriaenssens et al., 2018). Авторы продемонстрировали высокую частоту присутствия в геноме ПБВ гексамеров AGGAGG. Напротив, у вирусов эукариот из различных семейств, проанализированных в данном исследовании, SD-сайты встречались с низкой частотой и в основном представляли собой тетрамеры (AGGA, GGAG, GAGG). Результаты, подтверждающие гипотезу о фаговой природе ПБВ, были получены и в исследовании (Boros et al., 2018), где тоже выявлено присутствие SD-участков в геноме куриных ПБВ перед тремя ORF выше кодонов инициации в сегменте 1 и одной ORF в сегменте 2.

Если предположить, что ПБВ являются вирусами прокариот, то можно объяснить их распространенность и наличие широкого спектра хозяев. Бактериофаги широко распространены в природе. Их обнаруживают в воде, почве, пищевых продуктах, различных выделениях людей и животных, т. е. там, где встречаются бактерии.

Выявление у разных видов животных штаммов ПБВ с генетически родственными последовательностями генома можно объяснить, предположив, что хозяевами ПБВ являются бактерии, встречающиеся в кишечнике у разных позвоночных и беспозвоночных. При этом авторы фаговой гипотезы (Krishnamurthy, Wang, 2018) считают, что ПБВ размножаются только в бактериях определенного вида, в геноме которых присутствует прокариотическая SD-последовательность (сайт связывания с бактериальными рибосомами) в большинстве генов (более 10 %). К таким бактериям относятся *Firmicutes*, в геноме которых насчитывается более 80 % генов с прокариотической SD-последовательностью (Omota et al., 2015).

Авторы указывают, что даже вирусные семейства, включающие виды, чьи геномы обогащены SD-последовательностями, являются исключительно прокариотическими вирусными семействами. Приобретение инфицированными животными иммунитета к ПБВ также не противоречит фаговой гипотезе, поскольку установлено, что иммунные ответы хозяина могут возникать и против бактериальных вирусов (Dabrowska et al., 2005; Górski et al., 2006). Вполне возможно, что ПБВ вызывают иммунный ответ на заражение не клеток человека, а бактериальных клеток, составляющих его микробиом, что опять-таки не исключает возможности того, что ПБВ – это прокариотические вирусы.

Наличие у капсидного белка ПБВ перфорационной активности, а значит, способности к транслокации через клеточную мембрану (Duquerroy et al., 2009) как доказательства того, что он может инфицировать клетки животных, тоже не противоречит фаговой гипотезе, поскольку известно, что и представители семейства бактериальных РНК-вирусов обладают способностью выхода из клетки (Reed et al., 2013). Процесс взаимодействия ПБВ человека и животных с клеткой хозяина напоминает взаимодействие вирулентного фага с бактерией, которое протекает в несколько стадий: проникновение в бактериальную клетку, автономная репродукция в ней и лизис бактерии. Следовательно, и перфорация липосом ПБВ не исключает их принадлежности к прокариотическим РНК-вирусам.

Суммируя аргументы в пользу фаговой гипотезы, можно заключить, что, вероятно, ПБВ относятся к новому семейству РНК-вирусов, которые инфицируют определенный тип бактерий, имеющих геном с высоким содержанием SD-последовательностей (более 80 % генов). Эти бактерии населяют кишечный тракт животных и человека; ими могут быть бактерии *Firmicutes*, содержащие SD-последовательности для большинства своих генов.

Перечисленные аргументы убедительно показывают, что ПБВ действительно могут заражать прокариот, а не эукариот. А если на самом деле ПБВ заражают бактерий, то необходимо изменить подход к их изучению: направить усилия на поиск хозяина для их размножения среди прокариотических клеток, а не эукариотических. Разделение семейств вирусов прокариот и эукариот по частоте присутствия в геноме SD-последовательностей позволит проводить идентификацию новых семейств вирусов прокариот.

Таким образом, окончательное доказательство фаговой природы ПБВ требует подбора хозяина для его размножения. По всей вероятности, до тех пор, пока не будет достигнуто успешное культивирование ПБВ в конкретных бактериальных культурах, фаговая природа ПБВ останется на уровне гипотезы. Идентификация истинного бактериального или архейного хозяина ПБВ (если таковые имеются) видится весьма сложной задачей, если не забывать о том, что кишечный микробиом состоит из нескольких сотен в основном некультивируемых бактерий (Boros et al., 2018).

Стратегии ОТ-ПЦР-амплификации, используемые для секвенирования и генотипирования ПБВ

До применения методов амплификации нуклеиновых кислот (ОТ-ПЦР) частота обнаружения ПБВ оставалась крайне низкой, поскольку метод электрофореза геномной РНК в полиакриламидном геле обладает низкой чувствительностью (Masachessi et al., 2007). Кроме того, ПБВ являются очень лабильными агентами. Исходно положительные образцы, обнаруженные методом ЭФ в ПААГ, становятся отрицательными после нескольких процедур замораживания–размораживания (Gallimore et al., 1995a).

О низкой частоте выявления ПБВ методом ЭФ в ПААГ свидетельствует работа аргентинских вирусологов (Giordano et al., 2008). За 25-летний период (с января 1977 г. по декабрь 2002 г.) эти авторы собрали 2224 образца стула у детей с диареей. В ходе исследования образцов мето-

дом ЭФ в ПААГ было выявлено всего два положительных результата (0.09 %). Аналогичные результаты получены в наших исследованиях при детекции ротавирусов методом ЭФ в ПААГ в образцах фекалий детей в возрасте до 14 лет с острой кишечной инфекцией, поступающих в инфекционные стационары Нижнего Новгорода и Нижегородской области. За 1994–2001 гг. ПБВ были обнаружены только в трех из 4535 исследованных образцов (Новикова и др., 2003). В дальнейшем, с июля 2006 г. по январь 2010 г., ПБВ были выявлены в 0.08 % из 3645 образцов фекалий от детей с гастроэнтеритом (Епифанова и др., 2010).

Использование метода ЭФ в ПААГ ограничивало частоту выявления ПБВ, поскольку при низких титрах вируса в большинстве клинических образцов экскреция вируса не обнаруживалась (Gallimore et al., 1995a; Giordano et al., 1998). О низкой частоте выявления ПБВ с помощью ЭФ в ПААГ сообщалось в работах (Ludert, Liprandi, 1993; Pereira et al., 1993; Cascio et al., 1996) при исследовании спорадических случаев гастроэнтерита у детей в Венесуэле (0.5 %), Бразилии (0.5 %) и Италии (0.43 %) соответственно. Однако при вспышках гастроэнтерита, когда уровень экскреции вируса был высоким, вирус выявлялся методом ЭФ в ПААГ с существенно большей частотой. Например, Pereira et al. (1988a), описывая обнаружение ПБВ у человека, сообщали о частоте до 20 % при вспышках гастроэнтерита в Бразилии.

Внедрение технологий ОТ-ПЦР-амплификации и секвенирования способствовало повышению частоты обнаружения ПБВ в различных объектах живой природы. Так, при исследовании образцов стула новорожденных поросят с помощью ОТ-ПЦР было получено 60 % положительных на ПБВ проб (87 из 144) против 27 %, обнаруженных методом электрофореза в ПААГ (Carruyo et al., 2008). Информация, предоставленная в работе (Martínez et al., 2010), о распространенности свиного ПБВ в Аргентине также демонстрирует существенно большие возможности метода ОТ-ПЦР по сравнению с ЭФ в ПААГ: методом ЭФ в ПААГ пикобирнавирусы были выделены только при высоком уровне экскреции ПБВ, обусловленном возрастом, первичной инфекцией и физиологическим статусом хозяина, тогда как с помощью ОТ-ПЦР они обнаруживались в течение всего периода исследования и при низких уровнях экскреции.

Применение этих методов позволило установить, что ПБВ в природе распространены шире, чем считалось ранее (Boros et al., 2018). В частности, методом ОТ-ПЦР группа исследователей из Нидерландов обнаружила нуклеотидные последовательности ПБВ геногруппы I в 17 образцах (20 %) из 83 от пациентов с диареей (van Leeuwen et al., 2010). Тем же методом ПБВ были выявлены в 18 из 77 (23.4 %) проанализированных образцов бычьего стула из разных регионов Бразилии (Navarro et al., 2018). Высокий уровень обнаружения ПБВ с помощью метода ОТ-ПЦР был продемонстрирован при обследовании стада овец в Бразилии (Kunz et al., 2018), где 62 % проанализированных образцов кала были ПБВ-положительными.

Для выявления ПБВ в большинстве исследований используют две стратегии специфической амплификации: стратегию «одного праймера» и стратегию двух фланкирующих праймеров. Первая стратегия основана на лиги-

ровании вирусной РНК, выступающей в роли матрицы, с адаптером в виде олигонуклеотида с последующим синтезом на этой матрице кДНК с помощью праймера, комплементарного адаптеру. Данный метод, разработанный Lambden et al. (1992) для проведения амплификации у вирусов с сегментированными дцРНК геномами, в дальнейшем был применен для амплификации генома ПБВ (Wakuda et al., 2005; Ghosh et al., 2009; Wang et al., 2012; Boros et al., 2018). В частности, Wakuda et al. (2005) стратегию «одного праймера» с некоторыми модификациями применили для получения кДНК полноразмерных сегментов 1 и 2 РНК ПБВ человека (штамм Ну005102).

К стратегии ПЦР-амплификации с использованием одного праймера прибегают, как правило, для характеристики полноразмерных сегментов генома ПБВ. Для генотипирования ПБВ по коротким специфическим фрагментам генома, позволяющим дать характеристику штамма с определением его геногруппы, применяют вторую стратегию специфической амплификации, предусматривающую использование пары праймеров, фланкирующих выбранный фрагмент вирусного генома. Эти праймеры сконструированы на основе геномного сегмента двух штаммов ПБВ – 4-GA-9 и 1-CHN-97, выделенных в США и Китае соответственно (Rosen et al., 2000).

Применительно к ПБВ человека мишенью для праймеров являются специфические консервативные участки (мотивы) в геномном сегменте 2 ПБВ, кодирующем РНК-зависимую РНК-полимеразу. Для обнаружения геномной группы I применяют прямой и обратный праймеры PicoB25 и PicoB43, которые фланкируют фрагмент гена RdRp размером 201 п.о. (в позиции 665–679 и 850–865 сегмента 2). Для обнаружения геномной группы II используют пару праймеров PicoB23 и PicoB24, фланкирующих фрагмент RdRp размером 369 п.о. (в позиции 685–699 и 1039–1053).

Эти праймеры могут быть использованы не только для генотипирования ПБВ человека (Rosen et al., 2000), но и для генетической характеристики ПБВ некоторых животных, в частности свиней (Bányai et al., 2008). Однако они не способны распознавать весь спектр штаммов ПБВ, циркулирующих среди людей, свиней и других хозяев, по причине узкой специфичности (Bányai et al., 2008; Carruyo et al., 2008; Ganesh et al., 2010, 2011a; Martínez et al., 2010). В связи с этим для расширения специфичности при выявлении последовательностей сегментов генома ПБВ в дальнейшем появились праймеры, фланкирующие другие вырожденные участки гена RdRp (Carruyo et al., 2008; van Leeuwen et al., 2010; Verma et al., 2015; Wilburn et al., 2016; Woo et al., 2019), а также праймеры с более широким диапазоном обнаружения представителей рода *Picobirnavirus* (Malik et al., 2017; Ghosh et al., 2018; Kleymann et al., 2020).

В частности, анализ ОТ-ПЦР, способный обнаруживать вирусы рода *Picobirnavirus* у широкого круга хозяев, включая животных и человека, был разработан Malik et al. (2017). Универсальные для этого рода праймеры подбирали по результатам выравнивания нуклеотидных последовательностей консервативных областей гена RdRp. Наилучшие результаты с точки зрения специфичности и чувствительности в ОТ-ПЦР дала пара вырожденных

праймеров PBV-7F (позиция 754–771 сегмента 2) и PBV-7R (позиция 1011–1028). Эти праймеры фланкировали ампликон размером 275 п. о. Разработанный метод позволил эффективно амплифицировать данный участок гена RdRp у всех протестированных ПБВ, инфицирующих разные виды хозяев, и не давал ложноположительных результатов при тестировании на других вирусах.

Применение праймеров с широкой специфичностью, кроме расширения диапазона выявления представителей рода ПБВ, позволяет амплифицировать последовательности большей протяженности. В частности, Ghosh et al. (2018) с помощью широкоспецифического концевых праймера амплифицировали область гена RdRp, перекрывающую сразу несколько консервативных участков, и в результате смогли охарактеризовать полный геномный сегмент 2 ПБВ крысы, предоставив важную информацию о генетическом разнообразии и эволюции ПБВ у крыс.

Недавно Kleumann et al. (2020) для выявления ПБВ от разных видов мангуста разработали пару праймеров с широкой специфичностью, PBV 1.2FP и PBV 1.2RP, амплифицирующих значительную часть (1229 п. о. из ~1700 п. о.) гена RdRp. Эта пара праймеров способна обнаружить ПБВ, выделенные от разных хозяев и имеющие различия по первичной структуре (Kleumann et al., 2020). Для выявления среди положительных образцов ПБВ мангуста геновариантов, относящихся к геногруппе I, авторы применили комбинацию известного обратного праймера PicoB43 (Rosen et al., 2000) и прямого праймера PBV-7F, позволившую амплифицировать участок сегмента 2 размером 390 п. о.

В последние годы в диагностике вирусных инфекций стал широко применяться метагеномный анализ (Adriaenssens et al., 2018; Boros et al., 2018; Duraisamy et al., 2018; Yinda et al., 2019; Wille et al., 2019). Метод метагеномного анализа основан на технологии секвенирования нового поколения, позволяющей выявить генетический материал всех микроорганизмов, находящихся в отдельной пробе или образце среды – метагеноме. В отличие от ПЦР-технологий, требующих эталонных последовательностей, с помощью которых можно обнаруживать только известные вирусы, метагеномный анализ позволяет выявлять вирусы с новым генотипом (Adriaenssens et al., 2018). Причем новые генотипы могут выявляться чаще, чем уже известные (Duraisamy et al., 2018; Wille et al., 2019).

Метагеномный анализ характеризует как вирусное многообразие, так и частоту встречаемости отдельных вирусов в метагеноме. Например, по данным (Adriaenssens et al., 2018), метагеном из сточных вод содержал представителей родов *Astroviridae*, *Caliciviridae*, *Picobirnaviridae*, *Picornaviridae*, и только пикобирнавирусы были обнаружены во всех без исключения образцах сточных вод. В публикации (Boros et al., 2018) сообщается, что с помощью метода метагеномного анализа из общего числа прочитанных последовательностей (13016), присутствующих в метагеноме, который представляет собой фекальный образец курицы, в 516 считываниях были выявлены пикобирнавирусы. В исследовании (Yinda et al., 2019) с применением метагеномного анализа образцов фекалий жителей Камеруна с наличием и отсутствием признаков гастроэнтерита (после контакта с летучими мышами)

было обнаружено, что 28 из 63 пулов содержали чтения, аннотированные как *Picobirnaviridae*, с большинством положительных пулов от людей в возрастных группах старше 20 лет. Эти факты свидетельствуют о высоком уровне встречаемости ПБВ в живой природе.

Заключение

Резюмируя представленную в обзоре информацию, которая получена из публикаций о ПБВ за рассматриваемый период их изучения, можно сделать следующие заключения.

- Для ПБВ характерен широкий спектр хозяев и ubicquitarность распространения.
- Роль ПБВ как причины гастроэнтерита еще до конца не ясна из-за отсутствия клеточной культуры или модели животных для их культивирования. Это в значительной степени препятствует выделению вируса и клинико-патологическим исследованиям.
- Частота выявления ПБВ неодинакова в разных исследованиях, но установлено, что она связана с физиологическим состоянием и условиями окружающей среды.
- Существует гипотетическое объяснение распространения ПБВ инфекции, основанное на представлении о ПБВ как условно-патогенных вирусах, согласно которому взрослые инфицированные хозяева с нормальным иммунитетом могут быть носителями ПБВ и служить в качестве резервуаров вирусов, без проявления симптомов диареи.
- Обнаружение у разных животных штаммов ПБВ с генетически родственными последовательностями генома указывает на возможный зоонозный характер инфекции для человека и способность ПБВ к эффективной трансмиссионной передаче.
- Являясь самыми распространенными в сточных водах, ПБВ лучше других вирусов коррелируют с присутствием в природных водоемах опасных для человека патогенных вирусов и, следовательно, могут служить потенциальным маркером для мониторинга качества воды в этих водоемах.
- ПБВ существенно различаются генетически. На сегодняшний день идентифицировано пять геногрупп ПБВ (GI–GV).
- Выдвинуто предположение, что ПБВ могут инфицировать прокариот, являясь не вирусами млекопитающих, а новым семейством РНК-бактериофагов. В пользу своего предположения его авторы приводят убедительные аргументы, показывающие, что ПБВ действительно могут заражать прокариот, а не эукариот, в частности бактерий *Firmicutes*. Однако до тех пор, пока не будет подобран хозяин для размножения ПБВ, такое предположение остается гипотетическим.

Представленная информация позволяет характеризовать ПБВ как вирусы генетически вариабельные, с широким спектром хозяев, быстро эволюционирующие и легко распространяющиеся. Для более полного изучения их биологии, этиологической роли в возникновении заболеваний и патогенного потенциала необходимы эксперименты на гнотобиотических животных. Молекулярная характеристика новых штаммов ПБВ от разных хозяев даст ценную информацию о происхождении, передаче,

распространении и генетическом разнообразии этих быстро эволюционирующих вирусов с дцРНК для изучения их зоонозного и антропонозного потенциала, а также для возможного использования в качестве перспективного маркера мониторинга чистоты окружающей среды.

Список литературы / References

- Епифанова Н.В., Луковникова Л.Б., Голицына Л.Н., Фомина С.Г., Зверев В.В., Пономарева Н.В., Парфенова О.В., Новиков Д.В., Волкова М.А., Новикова Н.А. Этиологическая структура вирусных кишечных инфекций у детей в Нижнем Новгороде. *Мед. альманах*. 2010;2(11):233-236.
- [Epifanova N.V., Lukovnikova L.B., Golitsyna L.N., Fomina S.G., Zverev V.V., Ponomareva N.V., Parfenova O.V., Novikov D.V., Volkova M.A., Novikova N.A. Etiological structure of viral intestinal infections in children in Nizhny Novgorod. *Meditsynskii Almanah = Medical Almanac*. 2010;2(11):233-236. (in Russian)]
- Новикова Н.А., Епифанова Н.В., Федорова О.Ф., Голицына Л.Н., Куприянова Н.В. Обнаружение пикобирнавировусов методом электрофореза РНК в полиакриламидном геле. *Вопр. вирусологии*. 2003;48(6):41-43.
- [Novikova N.A., Epifanova N.V., Fedorova O.F., Golitsyna L.N., Kupriyanova N.V. Detection of picobirnaviruses by electrophoresis of RNA in polyacrylamide gel. *Voprosy Virusologii = Problems of Virology*. 2003;48(6):41-43. (in Russian)]
- Adriaenssens E.M., Farkas K., Harrison C., Jones D.L., Allison H.E., McCarthy A.J. Viromic analysis of wastewater input to a river catchment reveals a diverse assemblage of RNA viruses. *mSystems*. 2018; 3(3):1-18. DOI 10.1128/mSystems.00025-18.
- Bányai K., Jakab F., Reuter G., Bene J., Uj M., Meleg B., Szucs G. Sequence heterogeneity among human picobirnaviruses detected in a gastroenteritis outbreak. *Arch. Virol.* 2003;148:2281-2291. DOI 10.1007/s00705-003-0200-z.
- Bányai K., Martella V., Bogdán A., Forgách P., Jakab F., Meleg E., Bíró H., Meleg B., Szucs G. Genogroup I picobirnaviruses in pigs: evidence for genetic diversity and relatedness to human strains. *J. Gen. Virol.* 2008;89:534-539. DOI 10.1099/vir.0.83134-0.
- Bodewes R., van der Giessen J., Haagmans B.L., Osterhaus A.D.M.E., Smits S.L. Identification of multiple novel viruses, including a parvovirus and a hepevirus, in feces of red foxes. *J. Virol.* 2013;87(13): 7758-7764. DOI 10.1128/JVI.00568-13.
- Boros Á., Polgár B., Pankovics P., Fenyvesi H., Engelmann P., Phan T.G., Delwart E., Reuter G. Multiple divergent picobirnaviruses with functional prokaryotic Shine-Dalgarno ribosome binding sites present in cloacal sample of a diarrheic chicken. *Virol. J.* 2018; 525:62-72. DOI 10.1016/j.virol.2018.09.008.
- Carruyo G.M., Mateu G., Martínez L.C., Pujol F.H., Nates S.V., Liprandi F., Ludert J.E. Molecular characterization of porcine picobirnaviruses and development of a specific reverse transcription-PCR assay. *J. Clin. Microbiol.* 2008;46:2402-2405. DOI 10.1128/JCM.00655-08.
- Cascio A., Bosco M., Vizzi E., Giammanco A., Ferraro D., Arista S. Identification of *Picobirnavirus* from faeces of Italian children suffering from acute diarrhea. *Eur. J. Epidemiol.* 1996;12:545-547. DOI 10.1007/BF00144011.
- Collier A.M., Lyytinen O.L., Guo Y.R., Toh Y., Poranen M.M., Tao Y.J. Initiation of RNA polymerization and polymerase encapsidation by a small dsRNA virus. *PLoS Pathog.* 2016;12(4):1-26. DOI 10.1371/journal.ppat.1005523.
- Conceicao-Neto N., Mesquita J.R., Zeller M., Yinda C.K., Álvares F., Roque S., Petrucci-Fonseca F., Godinho R., Heylen E., Van Ranst M., Matthijnsens J. Reassortment among picobirnaviruses found in wolves. *Arch. Virol.* 2016;161(10):2859-2862. DOI 10.1007/s00705-016-2987-4.
- Dabrowska K., Switala-Jelen K., Opolski A., Weber-Dabrowska B., Gorski A. Bacteriophage penetration in vertebrates. *J. Appl. Microbiol.* 2005;98:7-13. DOI 10.1111/j.1365-2672.2004.02422.x.
- Delmas B., Attoui H., Ghosh S., Malik Y.S., Mundt E., Vakharia V.N., ICTV Report Consortium. ICTV virus taxonomy profile: *Picobirnaviridae*. *J. Gen. Virol.* 2019;100:133-134. DOI 10.1099/jgv.0.001186.
- Duquerroy S., Da Costa B., Henry C., Vigouroux A., Libersou S., Lepault J., Navaza J., Delmas B., Rey F.A. The picobirnavirus crystal structure provides functional insights into virion assembly and cell entry. *EMBO J.* 2009;28(11):1655-1665. DOI 10.1038/emboj.2009.109.
- Duraisamy R., Akiana J., Davoust B., Mediannikov O., Michelle C., Robert C., Desnues C. Detection of novel RNA viruses from free-living gorillas, Republic of the Congo: genetic diversity of picobirnaviruses. *Virus Genes*. 2018;54(2):256-271. DOI 10.1007/s11262-018-1543-6.
- Fregolente M.C., de Castro-Dias E., Martins S.S., Spilki F.R., Allegritti S.M., Gatti M.S. Molecular characterization of picobirnaviruses from new hosts. *Virus Res.* 2009;143(1):134-136. DOI 10.1016/j.virusres.2009.03.006.
- Gallagher C.A., Navarro R., Cruz K., Aung M.S., Ng A., Bajak E., Beierschmitt A., Lawrence M., Dore K.M., Ketzis J., Malik Y.S., Kobayashi N., Ghosh S. Detection of picobirnaviruses in vervet monkeys (*Chlorocebus sabaeus*): molecular characterization of complete genomic segment-2. *Virus Res.* 2017;230:13-18. DOI 10.1016/j.virusres.2016.12.021.
- Gallimore C.I., Appleton H., Lewis D., Green J., Brown D.W. Detection and characterization of bisegmented double-stranded RNA viruses (picobirnaviruses) in human faecal specimens. *J. Med. Virol.* 1995a;45(2):135-140. DOI 10.1002/jmv.1890450204.
- Gallimore C.I., Green J., Casemore D.P., Brown D.W. Detection of a picobirnavirus associated with *Cryptosporidium* positive stools from humans. *Arch. Virol.* 1995b;140(7):1275-1278. DOI 10.1007/bf01322752.
- Ganesh B., Banyai K., Masachessi G., Mladenova Z., Nagashima S., Ghosh S., Pativada M., Kumar R., Kobayashi N. Genogroup I picobirnavirus in diarrhoeic foals: can the horse serve as a natural reservoir for human infection? *Vet. Res.* 2011b;42(1):52. DOI 10.1186/1297-9716-42-52.
- Ganesh B., Masachessi G., Mladenova Z. Animal picobirnavirus. *Virus Dis.* 2014;25(2):223-238. DOI 10.1007/s13337-014-0207-y.
- Ganesh B., Nagashima S., Ghosh S., Nataraju S.M., Rajendran K., Manna B., Ramamurthy T., Niyogi S.K., Kanungo S., Sur D., Kobayashi N., Krishnan T. Detection and molecular characterization of multiple strains of Picobirnavirus causing mixed infection in a diarrhoeic child: emergence of prototype Genogroup II-like strain in Kolkata, India. *Int. J. Mol. Epidemiol. Genet.* 2011a;2(1):61-72.
- Ganesh B., Nataraju S.M., Rajendran K., Ramamurthy T., Kanungo S., Manna B., Nagashima S., Sur D., Kobayashi N., Krishnan T. Detection of closely related picobirnaviruses among diarrhoeic children in Kolkata: evidence of zoonoses? *Infect. Genet. Evol.* 2010;10(4): 511-516. DOI 10.1016/j.meegid.2010.02.008.
- Ghosh S., Kobayashi N., Nagashima S., Naik T.N. Molecular characterization of full-length genomic segment 2 of a bovine picobirnavirus (PBV) strain: evidence for high genetic diversity with genogroup I PBVs. *J. Gen. Virol.* 2009;90(10):2519-2524. DOI 10.1099/vir.0.013987-0.
- Ghosh S., Shiokawa K., Aung M.S., Malik Y.S., Kobayashi N. High detection rates of picobirnaviruses in free roaming rats (*Rattus* spp.): molecular characterization of complete gene segment-2. *Infect. Genet. Evol.* 2018;65:131-135. DOI 10.1016/j.meegid.2018.07.024.
- Giordano M.O., Martinez L.C., Rinaldi D., Guinard S., Naretto E., Casero R., Yacci M.R., Depetris A.R., Medeot S.I., Nates S.V. Detection of picobirnavirus in HIV-infected patients with diarrhea in Argentina. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 1998;18(4):380-383. DOI 10.1097/00042560-199808010-00010.
- Giordano M.O., Martinez L.C., Rinaldi D., Espul C., Martinez N., Isa M.B., Depetris A.R., Medeot S.I., Nates S.V. Diarrhea and enteric emerging viruses in HIV-infected patients. *AIDS Res. Hum. Retrov.* 1999;15(16):1427-1432. DOI 10.1089/08892299309937.

- Giordano M.O., Martinez L.C., Masachessi G., Barril P.A., Ferreyra L.J., Isa M.B., Valle M.C., Massari P.U., Nates S.V. Evidence of closely related *Picobirnavirus* strains circulating in humans and pigs in Argentina. *J. Infect.* 2011;62:45-51. DOI 10.1016/j.jinf.2010.09.031.
- Giordano M.O., Masachessi G., Martinez L.C., Barril P.A., Ferreyra L.J., Isa M.B., Nates S.V. Two instances of large genome profile picobirnavirus occurrence in Argentinian infants with diarrhea over a 26-year period (1977–2002). *J. Infect.* 2008;56(5):371-375. DOI 10.1016/j.jinf.2008.02.017.
- González G.G., Pujol F.H., Liprandi F., Deibis L., Ludert J.E. Prevalence of enteric viruses in human immunodeficiency virus seropositive patients in Venezuela. *J. Med. Virol.* 1998;55(4):288-292. DOI 10.1002/(sici)1096-9071(199808)55:4<288::aid-jmv6>3.0.co;2-x.
- Górski A., Kniotek M., Perkowska-Ptasińska A., Mróz A., Przerwa A., Gorczyca W., Dąbrowska K., Weber-Dąbrowska B., Nowaczyk M. Bacteriophages and transplantation tolerance. *Transplant. Proc.* 2006;38:331-333. DOI 10.1016/j.transproceed.2005.12.073.
- Green J., Gallimore C.I., Clewley J.P., Brown D.W. Genomic characterisation of the large segment of a rabbit picobirnavirus and comparison with the atypical picobirnavirus of *Cryptosporidium parvum*. *Arch. Virol.* 1999;144(12):2457-2465. DOI 10.1007/s007050050658.
- Khramtsov N.V., Woods K.M., Nesterenko M.V., Dykstra C.C., Upton S.J. Virus-like, double-stranded RNAs in the parasitic protozoan *Cryptosporidium parvum*. *Mol. Microbiol.* 1997;26(2):289-300. DOI 10.1046/j.1365-2958.1997.5721933.x.
- King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. (Eds.). Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Pt. II. The Viruses. (Family *Picobirnaviridae*). Elsevier; Acad. Press, 2012;535-539.
- Kleymann A., Becker A.A.M.J., Malik Y.S., Kobayashi N., Ghosh S. Detection and molecular characterization of picobirnaviruses (PBVs) in the mongoose: identification of a novel PBV using an alternative genetic code. *Viruses.* 2020;12(1):99. DOI 10.3390/v12010099.
- Knox M.A., Gedye K.R., Hayman D.T.S. The challenges of analysing highly diverse picobirnavirus sequence data. *Viruses.* 2018;10(12):1-13. DOI 10.3390/v10120685.
- Krishnamurthy S.R., Wang D. Extensive conservation of prokaryotic ribosomal binding sites in known and novel picobirnaviruses. *Virology.* 2018;516:108-114. DOI 10.1016/j.virol.2018.01.006.
- Kuhar U., Vengust G., Jamnikar-Ciglenecki U. Complete genome sequence of roe deer picobirnavirus strain PBV/roe_deer/SLO/D38 14/2014. *Genome Announc.* 2017;5(50):e01329-17. DOI 10.1128/genomeA.01329-17.
- Kunz A.F., Possatti F., de Freitas J.A., Alfieri A.A., Takiuchi E. High detection rate and genetic diversity of picobirnavirus in a sheep flock in Brazil. *Virus Res.* 2018;255:10-13. DOI 10.1016/j.virusres.2018.06.016.
- Kylla H., Dutta T.K., Roychoudhury P., Subudhi P.K. Coinfection of diarrheagenic bacterial and viral pathogens in piglets of Northeast region of India. *Vet. World.* 2019;12(2):224-230. Publ. online 2019, Feb 9. DOI 10.14202/vetworld.2019.224-230.
- Lambden P.R., Cooke S.J., Caul E.O., Clarke I.N. Cloning of noncultivable human rotavirus by single primer amplification. *J. Virol.* 1992;66:1817-1822.
- Li L., Giannitti F., Low J., Keyes C., Ullmann L.S., Deng X., Aleman M., Pesavento P.A., Pusterla N., Delwart E. Exploring the virome of diseased horses. *J. Gen. Virol.* 2015; 96(9):2721-2733. DOI 10.1099/vir.0.000199.
- Lojkić I., Biđin M., Prpić J., Šimić I., Krešić N., Bedeković T. Faecal virome of red foxes from peri-urban areas. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2016;45:10-15. DOI 10.1016/j.cimid.2016.01.005.
- Ludert J.E., Liprandi F. Identification of viruses with bi- and trisegmented double-stranded RNA genome in faeces of children with gastroenteritis. *Res. Virol.* 1993;144:219-224. DOI 10.1016/S0923-2516(06)80032-4.
- Luo X.L., Lu S., Jin D., Yang J., Wu S.S., Xu J. Marmota himalayana in the Qinghai–Tibetan plateau as a special host for bi-segmented and unsegmented picobirnaviruses. *Emerg. Microbes. Infect.* 2018;7(1):20. DOI 10.1038/s41426-018-0020-6.
- Malik Y.S., Kumar N., Sharma K., Dhama K., Shabbir M.Z., Ganesh B., Banyai K. Epidemiology, phylogeny, and evolution of emerging enteric *Picobirnaviruses* of animal origin and their relationship to human strains. *BioMed. Res. Int.* 2014;780752. DOI 10.1155/2014/780752.
- Malik Y.S., Sharma A.K., Sharma K., Sircar S., Dhama K. RNA polymerase gene based RT-PCR assay with primers update for genus specific detection of picobirnaviruses. *J. Anim. Plant Sci.* 2017; 27(2):582-588.
- Martínez L.C., Giordano M.O., Isa M.B., Alvarado L.F., Paván J.V., Rinaldi D., Nates S.V. Molecular diversity of partial-length genomic segment 2 of human picobirnavirus. *Intervirology.* 2003;46(4):207-213. DOI 10.1159/000072429.
- Martínez L.C., Masachessi G., Carruyo G., Ferreyra L.J., Barril P.A., Isa M.B., Giordano M.O., Ludert J.E., Nates S.V. *Picobirnavirus* causes persistent infection in pigs. *Infect. Genet. Evol.* 2010;10:984-988. DOI 10.1016/j.meegid.2010.06.004.
- Masachessi G., Ganesh B., Martínez L.C., Giordano M.O., Barril P.A., Isa M.B., Paván G.V., Mateos C.A., Nates S.V. Maintenance of picobirnavirus (PBV) infection in an adult orangutan (*Pongo pygmaeus*) and genetic diversity of excreted viral strains during a three-year period. *Infect. Genet. Evol.* 2015;29:196-202. DOI 10.1016/j.meegid.2014.11.019.
- Masachessi G., Martínez L.C., Ganesh B., Giordano M.O., Barril P.A., Isa M.B., Ibars A., Pavan J.V., Nates S.V. Establishment and maintenance of persistent infection by picobirnavirus in greater rhea (*Rhea Americana*). *Arch. Virol.* 2012;157(11):2075-2082. DOI 10.1007/s00705-012-1400-1.
- Masachessi G., Martínez L.C., Giordano M.O., Barril P.A., Isa B.M., Ferreyra L., Villareal D., Carello M., Asis C., Nates S.V. Picobirnavirus (PBV) natural hosts in captivity and virus excretion pattern in infected animals. *Arch. Virol.* 2007;152(5):989-998. DOI 10.1007/s00705-006-0900-2.
- McDonald S.M., Nelson M.I., Turner P.E., Patton J.T. Reassortment in segmented RNA viruses: mechanisms and outcomes. *Nat. Rev. Microbiol.* 2016;14(7):448-460. DOI 10.1038/nrmicro.2016.46.
- Navarro J.O., Candido M., de Almeida-Queiroz S.R., Buzinaro M.D.G., Livonesi M.C., Fernandes A.M., de Sousa R.L.M. Genetic diversity of bovine Picobirnavirus, Brazil. *Virus Genes.* 2018;54(5):724-728. DOI 10.1007/s11262-018-1586-8.
- Ng T.F., Vega E., Kondov N.O., Markey C., Deng X., Gregoricus N., Vinje J., Delwart E. Divergent picobirnaviruses in human feces. *Genome Announc.* 2014;2(3):e00415-14.
- Ochoa W.F., Havens W.M., Sinkovits R.S., Nibert M.L., Ghabrial S.A., Baker T.S. Partitivirus structure reveals a 120-subunit, helix-rich capsid with distinctive surface arches formed by quasisymmetric coat-protein dimers. *Structure.* 2008;16(5):776-786. DOI 10.1016/j.str.2008.02.014.
- Omotajo D., Tate T., Cho H., Choudhary M. Distribution and diversity of ribosome binding sites in prokaryotic genomes. *BMC Genom.* 2015;16(1):604. DOI 10.1186/s12864-015-1808-6.
- Pereira H.G., Fialho A.M., Flewett T.H., Teixeira J.M.S., Andrade Z.P. Novel viruses in human faeces. *Lancet.* 1988a;332(8602):103-104. DOI 10.1016/S0140-6736(88)90032-3.
- Pereira H.G., Flewett T.H., Candeias J.A.N., Barth O.M. A virus with a bisegmented double-stranded RNA genome in rat (*Oryzomys nigripes*) intestines. *J. Gen. Virol.* 1988b;69:2749-2754. DOI 10.1099/0022-1317-69-11-2749.
- Pereira H.G., Linhares A.C., Candeias J.A., Glass R.I. National laboratory surveillance of viral agents of gastroenteritis in Brazil. *Bull. Pan. Am. Health Organ.* 1993;27:224-233.
- Reed C.A., Langlais C., Wang I.-N., Young R. A₂ expression and assembly regulates lysis in Qβ infections. *Microbiol. (Reading, England).* 2013;159:507-514. DOI 10.1099/mic.0.064790-0.

- Ribeiro S.R., Bezerra D.A., Kaiano J.H., de Souza Oliveira D., Silvestre R.V., Gabbay Y.B., Ganesh B., Mascarenhas J.D. Genogroup I avian picobirnavirus detected in Brazilian broiler chickens: a molecular epidemiology study. *J. Gen. Virol.* 2014;95(1):117-122. DOI 10.1099/vir.0.054783-0.
- Rosen B.I., Fang Z.-Y., Glass R.I., Monroe S.S. Cloning of human picobirnavirus genomic segments and development of an RT-PCR detection assay. *Virology.* 2000;277(2):316-329. DOI 10.1006/viro.2000.0594.
- Shi M., Lin X.D., Chen X., Tian J.H., Chen L.J., Li K., Wang W., Eden J.S., Shen J.J., Liu L., Holmes E.C., Zhang Y.Z. The evolutionary history of vertebrate RNA viruses. *Nature.* 2018;556(7700):197-202. DOI 10.1038/s41586-018-0012-7.
- Shi M., Lin X.D., Tian J.H., Chen L.J., Chen X., Li C.X., Qin X.C., Li J., Cao J.P., Eden J.S., Buchmann J., Wang W., Xu J., Holmes E.C., Zhang Y.Z. Redefining the invertebrate RNA virosphere. *Nature.* 2016;540(7634):539-543. DOI 10.1038/nature20167.
- Smits S.L., Poon L.L., van Leeuwen M., Lau P.N., Perera H.K., Peiris J.S., Simon J.H., Osterhaus A.D. Genogroup I and II picobirnaviruses in respiratory tracts of pigs. *Emerg. Infect. Dis.* 2011;17(12):2328-2330. DOI 10.3201/eid1712.110934.
- Smits S.L., Schapendonk C.M., van Beek J., Vennema H., Schürch A.C., Schipper D., Bodewes R., Haagmans B.L., Osterhaus A.D., Koopmans M.P. New viruses in idiopathic human diarrhea cases, the Netherlands. *Emerg. Infect. Dis.* 2014;20(7):1218-1222. DOI 10.3201/eid2007.140190.
- Smits S.L., van Leeuwen M., Schapendonk C.M., Schürch A.C., Bodewes R., Haagmans B.L., Osterhaus A.D. Picobirnaviruses in the human respiratory tract. *Emerg. Infect. Dis.* 2012;18(9):1539-1540. DOI 10.3201/eid1809.120507.
- Symonds E.M., Griffin D.W., Breitbart M. Eukaryotic viruses in wastewater samples from the United States. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009;75:1402-1409. DOI 10.1128/AEM.01899-08.
- Takiuchi E., Macedo R., Kunz A.F., Gallego J.C., de Mello J.L., Otonel R.A., Alfieri A.A. Electrophoretic RNA genomic profiles of Brazilian *Picobirnavirus* (PBV) strains and molecular characterization of a PBV isolated from diarrheic calf. *Virus Res.* 2016;211(4):58-63. DOI 10.1016/j.virusres.2015.09.022.
- Vainio E.J., Chiba S., Ghabrial S.A., Maiss E., Roossinck M., Sabanadzovic S., Suzuki N., Xie J., Nibert M. ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Partitiviridae*. *J. Gen. Virol.* 2018;99(1):17-18. DOI 10.1099/jgv.0.000985.
- van Leeuwen M., Williams M.M., Koraka P., Simon J.H., Smits S.L., Osterhaus A.D. Human picobirnaviruses identified by molecular screening of diarrhea samples. *J. Clin. Microbiol.* 2010;48(5):1787-1794. DOI 10.1128/JCM.02452-09.
- Vanopdenbosch E., Wellemans G. Birna-type virus in diarrhoeic calf faeces. *Vet. Rec.* 1989;125(24):610.
- Verma H., Mor S.K., Erber J., Goyal S.M. Prevalence and complete genome characterization of turkey picobirnaviruses. *Infect. Genet. Evol.* 2015;30:134-139. DOI 10.1016/j.meegid.2014.12.014.
- Wakuda M., Pongsuwanna Y., Taniguchi K. Complete nucleotide sequences of two RNA segments of human picobirnavirus. *J. Virol. Methods.* 2005;126(1-2):165-169. DOI 10.1016/j.jviromet.2005.02.010.
- Wang Y., Banyai K., Tu X., Jiang B. Simian genogroup I picobirnaviruses: prevalence, genetic diversity, and zoonotic potential. *J. Clin. Microbiol.* 2012;50:2779-2782. DOI 10.1128/JCM.00634-12.
- Wilburn L., Yodmeeklin A., Kochjan P., Saikruang W., Kumthip K., Khamrin P., Maneekarn N. Molecular detection and characterization of picobirnaviruses in piglets with diarrhea in Thailand. *Arch. Virol.* 2016;162(4):1061-1066. DOI 10.1007/s00705-016-3190-3.
- Wille M., Shi M., Klaassen M., Hurt A.C., Holmes E.C. Virome heterogeneity and connectivity in waterfowl and shorebird communities. *ISME J.* 2019;13(10):2603-2616. DOI 10.1038/s41396-019-0458-0.
- Woo P.C.Y., Lau S.K.P., Bai R., Teng J.L.L., Lee P., Martelli P., Hui S.W., Yuen K.Y. Complete genome sequence of a novel picobirnavirus, otarine picobirnavirus, discovered in California sea lions. *J. Virol.* 2012;86(11):6377-6378. DOI 10.1128/JVI.00686-12.
- Woo P.C.Y., Teng J.L.L., Bai R., Tang Y., Wong A.Y.P., Li K.S.M., Lam C.S.F., Fan R.Y.Y., Lau S.K.P., Yuen K.-Y. Novel picobirnaviruses in respiratory and alimentary tracts of cattle and monkeys with large intra- and inter-host diversity. *Viruses.* 2019;11(6):574. DOI 10.3390/v11060574.
- Yinda C.K., Ghogomu S.M., Conceicao-Neto N., Beller L., Deboutte W., Vanhulle E., Maes P., Van Ranst M., Matthijnsens J. Cameroonian fruit bats harbor divergent viruses, including rotavirus H, gastroviruses, and picobirnaviruses using an alternative genetic code. *Virus Evol.* 2018;3(2):vey008. DOI 10.1093/ve/vey008.
- Yinda C.K., Vanhulle E., Conceição-Neto N., Beller L., Deboutte W., Shi C., Ghogomu S.M., Maes P., Van Ranst M., Matthijnsens J. Gut virome analysis of Cameroonians reveals high diversity of enteric viruses, including potential interspecies transmitted viruses. *mSphere.* 2019;4(1):1-22. DOI 10.1128/mSphere.00585-18.
- Zhang B., Tang C., Yue H., Ren Y., Song Z. Viral metagenomics analysis demonstrates the diversity of viral flora in piglet diarrhoeic faeces in China. *J. Gen. Virol.* 2014;95(7):1603-1611. DOI 10.1099/vir.0.063743-0.
- Zhang S., Bai R., Feng R., Zhang H., Liu L. Detection and evolutionary analysis of picobirnaviruses in treated wastewater. *Microb. Biotechnol.* 2015;8(3):474-482. DOI 10.1111/1751-7915.12239.

ORCID ID

A.Yu. Kashnikov orcid.org/0000-0003-1033-7347

N.V. Epifanova orcid.org/0000-0001-7679-8029

N.A. Novikova orcid.org/0000-0002-3710-6648

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 10.04.2020. После доработки 26.05.2020. Принята к публикации 26.05.2020.