

Kobuwirusy ludzi i zwierząt oraz nowo pojawiające się kobuwirozy

Zdzisław Gliński, Andrzej Żmuda

z Katedry Epizootiologii i Kliniki Chorób Zakaźnych Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie

Kobuviruses of humans and animals and emerging kobuviruses

Gliński Z., Żmuda A., Department of Epizootiology and Clinic of Infectious Animal Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

This article aims at the presenting of emerging picornaviruses, namely the genus *Kobuvirus*. These have been reported to be associated with clinical problems including diarrhea, vomiting, fever, purulent conjunctivitis, and respiratory symptoms in humans. The molecular methods reveal that kobuviruses (the genus *Kobuvirus* (AiV, *Aichivirus*) *Picornaviridae* family), may be the causative agents of gastroenteritis in a variety of domestic and wild animal species in several regions of the world. They were isolated from a wide range of hosts: ferrets, mice, foxes, bats, dogs, cats, cattle, sheep, pigs, and goats. Kobuviruses are frequently present in mixed infections with other pathogens. Currently, there are six species within the genus *Kobuvirus*: *Aichivirus A* (humans, dogs, cats, rats, mice, and the European roller), *Aichivirus B* (cattle, ferrets, and sheep), *Aichivirus C* (pigs and goats), *Aichivirus D* (cattle), *Aichivirus E* (rabbits) and *Aichivirus F* (bats). AiVs stability allows persistence in the environment for long periods, as well as its transmission to humans with contaminated water and molluscs. Although until now AiVs are responsible for a low percentage of reported gastroenteritis outbreaks, the high seroprevalence shown in human populations, indicates their role as emerging enteric agents. Kobuviruses are difficult to isolate and the diagnosis is mainly based on molecular methods. Currently, there are no vaccines available.

Keywords: *Kobuvirus*, *Aichivirus*, diarrhea, animals, humans.

Ostre biegunki wirusowe należą do najczęściej występujących chorób dzieci i dorosłych oraz wielu gatunków zwierząt, głównie młodych. Dużej zachorowalności bardzo często towarzyszy wysoka śmiertelność (1, 2). W etiologii biegunek wirusowych coraz więcej uwagi poświęca się mało poznanym kobuwirusom (*Aichiviruses*) z rodziny *Picornaviridae* (3). Kobuwirusy izoluje się z kału chorych na biegunkę, a także, chociaż rzadziej, z kału osobników zdrowych (4). Często występują one w mieszanych zakażeniach enterowirusowych, np. u psów z koronawirusem i parwowirusem psów (5), a narządem docelowym kobuwirusów oprócz przewodu pokarmowego mogą być inne narządy wewnętrzne, np. u lisów komórki ependymalne mózgu, węzły chłonne, pęcherz moczowy i nabłonek tchawicy (6), a u gryzoni płuca, mózg, serce i wątroba. Ze względu na trudności uzyskania hodowli wirusa i przeprowadzenia zakażeń eksperymentalnych patogenezę zakażeń kobuwirusowych nie jest w pełni poznana. Nie wiadomo także, czy oprócz drogi fekalno-oralnej istnieją inne sposoby transmisji wirusa.

Kobuwirus człowieka (AiV1, *Aichivirus 1*, rodzaj *Aichivirus A*) wyizolowano po raz pierwszy z kału i surowicy człowieka z ostrą biegunką po skonsumowaniu ostryg w prefekturze Aichi w Japonii w 1989 r. Wirus o wirionie sferycznym i średnicy ok. 30 nm wywoływał zmiany cytopatyczne w hodowli komórek małpy kotawca zielonosiwego, linii komórkowej nabłonka (BS-C-1) i hodowli komórek Vero (7). Nazwa „kobuwirus” pochodzi od japońskiego słowa „kobu”, które oznacza guzek – powierzchnia wirionu w mikroskopie elektronowym jest nierówna (guzowata; 8). Kobuwirusy występują powszechnie, wywołują biegunki i zakażenia układu oddechowego u ludzi i biegunki u wielu gatunków zwierząt (9). Pierwszy kobuwirus zwierzęcy, jakim jest kobuwirus bydła (BoKoV), wyizolowano w 2003 r. z kału i surowicy bydła w wieku 2-4 lat w Japonii (10). Oprócz człowieka kobuwirusy atakują psy (11), koty, lisy, bydło, owce, świnię, kozy, fretki, króliki, myszy (12), szczury (13) i nietoperze (14). Rezerwuarem wirusów oprócz zakażonych zwierząt są gryznie oraz ścięki i woda (15).

Charakterystyka wirusa

Kobuwirusy należą do rodziny *Picornaviridae*, którą cechuje symetria 20-ścienna wirionu, brak otoczki lipidowej, genom RNA (ok. 7,5 kb) i replikacja w cytoplazmie komórek docelowych. Początkowo systematyka rodzaju Kobuwirus opierała się na tropizmie wirusa do odpowiednich gospodarzy. Kobuwirusy człowieka określono terminem *Aichivirus*, wirusy izolowane bydła „bovine kobuvirus” (BoKoV), od świń – „porcine kobuvirus” (PoKoV), od psów – „canine kobuvirus” (CaKoV; 4). W 2017 r. Międzynarodowy Komitet Taksonomii Wirusów (ICTV) zaproponował reklasifikację kobuwirusów. Obecnie często są używane zamiennie stare i nowe nazwy. Według ICTV występują trzy rodzaje *Aichivirusa* (AiV) A, B, C (3). *Aichivirus A* obejmuje wirusa Aichi 1, który jest powiązany z ostrą biegunką u ludzi spożywających owoce morza, kobuwirusa psa 1 (CaKoV 1; 11), kobuwirusa kota (FeKoV 1) 1 (16) i kobuwirusa mysiego (MuKoV 1; 12), które również były związane z biegunką, chociaż występują także zakażenia bezobjawowe. W obrębie *Aichivirusa B* umieszczono kobuwirus bydła 1 (BoKoV; 10), kobuwirus fretki 1 (17) i kobuwirus owiec (18). Natomiast do *Aichivirusa C* należał kobuwirus prosiąt 1. Kobuwirusy kóz zaliczono do *Aichivirusa D* (19).

W 2021 r. ICTV zaproponował nową taksonomię rodzaju *Kobuvirus*. Do rodzaju *Aichivirus A* należą kobuwirusy człowieka, psów, kotów, szczurów, myszy

i kraski (*Coracias garrulus*), do *Aichivirus B* zaliczono kobuwirusy bydła, fretki i owiec, do *Aichivirus C* kobuwirusy świń i kóz, do *Aichivirus D* kobuwirusy bydła, do *Aichivirus E* należy kobuwirus królików, do *Aichivirus F* zaliczono kobuwirus nietoperzy (20).

Wirion kobuwirusów o 20–ściennej sferycznej geometrii, średnicy ok. 30 nm składa się z kapsydów o średnicy 27–30 nm. Genom, który stanowi jednopasmowy niesegmentowany RNA (8,2–8,3 kb) o polaryzacji dodatniej, koduje 3 strukturalne białka kapsydu (VP0, VP1, VP3) i 7 białek niestukturalnych (2A, 2B, 2C, 3A, 3B, 3C, 3D; 11). Strukturę antygenową wirusa determinują białka kapsydu, zwłaszcza białko VP1. Białka niestukturalne wirusa odpowiadają za replikację wirusa w cytoplazmie komórek nabłonka jelit, krezkowych węzłów chłonnych i układu siateczkowo-śródbłonkowego organizmu (4). Niektórych gatunków, np. CaKoV, nie udało się replikować w hodowlach tkankowych, inne, np. kobuwirus człowieka, replikują się i wywołują zmiany cytopatyczne w hodowli linii komórek BSC-1, Vero i hodowli komórek nabłonka nerki kotawca zielonosiwego (*Chlorocebus sabaeus*). Natomiast BoKoV (10) i PoKoV (21) z trudnością się replikują w hodowlach linii komórkowych.

Kobuwirusy mają zdolność do przekraczania bariery międzygatunkowych: owca → fretka, nietoperz → królik, zwierzęta mięsożerne → ptaki i człowiek (13), bydło → świnię (22). Wirus ulega inaktywacji pod wpływem kwasu octowego, aldehydu glutarowego, wodorotlenku sodu i Virkonu, po 20 minutach w temperaturze 56°C.

Kobuwiroza człowieka

Zakażenie przenosi się drogą fekalno-oralną oraz za pośrednictwem pokarmów i wody zanieczyszczonej wirusem. Gram kału ludzi z zapaleniem przewodu pokarmowego wywołanym przez AiV1 zawiera do $1,32 \times 10^{12}$ kopii RNA (23). W 2010 r. stwierdzono AiV1 w wodzie pitnej i w wodach gruntowych w wielu krajach (24) oraz w 61–100% ścieków we Francji, Niemczech i Hiszpanii. Zanieczyszcza on około 4% próbek skorupiaków w Tunezji oraz około 66% małych z Południowej Afryki (15).

AiV1 występuje u ludzi na świecie powszechnie, jest przyczyną ostrego zapalenia żołądka i jelit, które występuje sporadycznie lub masowo. Głównie jednak AiV1 wywołuje zakażenia subkliniczne. Ponadto powoduje on ropne zapalenie spojówek i schorzenia dolnych odcinków układu oddechowego (9). O częstych kontaktach człowieka z AiV1 świadczy odsetek surowic reaktywnych. Na przykład w Japonii około 30% młodych ludzi i 80% ludzi w średnim wieku jest seropozytywna, w Niemczech 76% a w Hiszpanii 70% populacji jest seropozytywna (25).

Istnieje jeden serotyp i 3 genotypy *Aichivirusa* (A, B i C) dominujące w różnych częściach świata (26). Genotyp A dominuje w Azji, stwierdza się go też u ludzi powracających z Indii, Nepalu, Indonezji, Tajlandii i Wietnamu. W Europie po raz pierwszy AiV1 stwierdzono w Niemczech w ognisku biegunki (27), następnie we Francji u dzieci i dorosłych z ostrą

biegunką i w Finlandii (28), na Węgrzech, w Szwecji, we Włoszech i w Hiszpanii (29). Genotyp AiV1 B dominuje w Chinach, Pakistanie i Malezji (30), natomiast w Europie występuje w mniejszym procencie w Finlandii i Hiszpanii aniżeli genotyp A (31). Genotyp B występuje także w Ameryce Północnej u dzieci z ostrą biegunką w wieku od 15 dni do 5 lat, natomiast genotyp C zidentyfikowano we Francji w kale dziecka z ostrym zapaleniem żołądka i jelit. Dziecko powróciło z Mali (32).

AiV1 wywołuje zarówno monoinfekcje, jak i współzakażenia z innymi enterowirusami, ale dominują monoinfekcje (29). AiV1 replikuje się i niszczy warstwę enterocytów pokrywającą górną trzecią trzecią kosmków jelitowych. Zniszczenie tych enterocytów zmniejsza powierzchnię absorpcji, zakłóca wchłanianie zwrotne wody, czego następstwem jest biegunka. Równocześnie komórki krypt jelitowych dzielą się szybko, aby zastąpić kosmki niedojrzałymi komórkami odpornymi na infekcję. Jednak te komórki nie są w stanie zastąpić funkcji zakażonych komórek (33). Klinicznie choroba cechuje się biegunką, często ostrą, bólami brzucha, wymiotami i gorączką. Genotyp A wywołuje ponadto zapalenie jamy nosowej, ropne zapalenie spojówek i biegunkę oraz odoskrzelowe zapalenie płuc (34). Bezobjawowe zakażenia są częste u dzieci i u dorosłych, o czym świadczy wysokie miano surowic reaktywnych, np. u dzieci w wieku do 3 lat w Niemczech wynosi 51%, wzrasta do 100% u ludzi w wieku powyżej 40 roku życia, we Francji wynosi 25% u dzieci w wieku 9 lat i 85–90% u dorosłych w wieku ponad 40 lat (27).

Rozpoznanie opiera się na izolacji AiV1 w hodowlach linii komórkowych HeLa, HeL, RD (ludzki mięśniakomięsak prądkowankomórkowy), BSD, Vero oraz na identyfikacji wirusa w teście ELISA z użyciem przeciwciał monoklonalnych. Testy RT-PCR, qRT-PCR i nested RT-PCR wykrywają nieaktywne kopie wirusa. Metoda LAMP (amplifikacji izotermicznej za pośrednictwem pętli) jest stosowana do szybkiego wykrywania obecności wirusa w wodzie i ściekach (35). Profilaktyka polega na przestrzeganiu zasad higieny przygotowania pokarmów i napojów. Leczenie objawowe ma na celu eliminację skutków ostrej biegunki i zapobieganie wtórnym zakażeniom bakteryjnym.

Świnię

Kobuwirus świń (*Aichivirus C*, PoKoV) występuje endemicznie w stadach świń w Azji (Chiny, Wietnam, Tajlandia, Japonia, Korea Południowa), Europie (Węgry, Włochy, Czechy, Niemczech, Belgia, Irlandia, Serbia), obu Amerykach (USA, Kanada, Meksyk, Brazylia) i w Afryce (Kenia, Uganda). PoKoV izoluje się zarówno od prosiąt i dorosłych osobników z biegunką (36, 37), jak i od zwierząt zdrowych (38, 39). Zakażonych jest od 13 do 99% świń. Po raz pierwszy izolowano PoKoV na Węgrzech w 2007 r., a następnie w Chinach w 2009 r. (4). Wirus nie posiada właściwości zoonotycznych (40). Bardzo często PoKoV odpowiada za współzakażenia z innymi enterowirusami, np. astrowirusem prosiąt, koronawirusem zapalenia żołądka i jelit, rotawirusem A, wirusem

epidemicznej biegunki prosiąt i bokawirusem prosiąt. Świnie mogą też zakazić się kobuwirusem bydła (BoKoV; 40). PoKoV też może zakażać bydło (22).

Zakażenie szerzy się drogą fekalno-oralną, ale nie można wykluczyć też innych sposobów transmisji wirusa. Rezerwuarem i źródłem zakażenia dla świń mogą też być dziki (41). Zakażenie nie ogranicza się wyłącznie do przewodu pokarmowego, o czym świadczą zmiany chorobowe poza przewodem pokarmowym. Najczęściej chorują prosięta, przy czym w większości przypadków występują wodnista biegunka o średnim nasileniu, wymioty i odwodnienie, śmiertelność jest niska (90). Opisano jednak zakażenie PoKoV o ostrym przebiegu, zachorowalności 60–100% i śmiertelności wynoszącej 50–90% (42). Siewstwo wirusa jest najobfitsze u prosiąt 3–8-tygodniowych (43). Ssące prosięta wysiewające wirus przestają być siewcami wirusa w późniejszym życiu. Najwyższy wskaźnik siewstwa obserwuje się po odsadzeniu prosiąt. Prawie 97% świń w ciągu swojego życia co najmniej raz wysiewa PoKoV.

U padłych prosiąt występują drobne wybroczyny na powierzchni nerek. Zmiany histopatologiczne dotyczą obecności komórek nabłonka oskrzeli w tętnicy płucnej, zgrubienia i przekrwienia tkanki śródmiąższowej płuc. W naczyniach nerek występują złogi erytrocytów, a w kanalikach nerkowych złogi komórek nabłonka nerek. W żołądku stwierdza się krwawe wylewy, naciek błony podśluzowej limfocytami i komórkami jednojądrzastymi, przekrwienie naczyń krwionośnych i naciek komórek zapalnych w lamina błoniej właściwej dwunastnicy oraz proliferację komórek kubkowych kosmków jelitowych. W podśluzówce jelita prostego występuje naciek limfocytarny (44).

Izolacja wirusa w hodowli komórek BS-C-1 i komórek Vero nie zawsze przynosi efekty. Zalecana do izolacji PoKoV jest linia hodowlana PK-15. W diagnostyce dobre efekty daje badanie w mikroskopie elektronowym, test RT-PCR, który umożliwia identyfikację i genotypowanie wirusa, test TaqMan qRT-PCR stosowany do wykrywania konserwatywnego genu 3D PoKoV oraz multiplex RT-PCR (45). Do wykrywania przeciwciał anti-PoKoV stosuje się u świń test seroneutralizacji. W zapobieganiu chorobie istotną rolę odgrywa bioasekuracja. Chore zwierzęta należy izolować. Nie ma szczepionki.

Psy

Kobuwirus psów (CaKoV) po raz pierwszy został izolowany w USA w 2011 r. z kału szceniąt ze schronisk z ostrym zapaleniem jelit (11). Zakażenia kobuwirusowe stwierdzono u szceniąt z ostrą biegunką w Wielkiej Brytanii, Włoszech, Korei Południowej, Japonii, Indiach (46), Afryce, Chinach i Tajlandii. CaKoV wywołuje nie tylko zakażenia jawne, ale i zakażenia subkliniczne. Sam wirus wywołuje biegunki, a także współuczestniczy w zakażeniach z innymi enterowirusami (koronawirus psów, parwowirus, sapowirus; 5). CaKoV cechuje się szerszym spektrum zakaźnym, ponieważ oprócz psów wywołuje zakażenie kotów (47) i lisów (6), ponadto w Afryce

u szakala złocistego, szakala pręgowanego i hieny (48). Znany jest czas pojawienie się CaKoV izolowanego od psów w Chinach. Około 2002 r. miała miejsce dywergencja od wspólnego przodka kobuwirusa człowieka (AiV) i CaKoV (49).

Chorują najczęściej szczenięta w wieku poniżej 4 miesięcy, rzadko chorują psy w wieku do 2 lat (50). Wrotami zakażenia jest przewód pokarmowy, infekcja szerzy się drogą fekalno-oralną, wirus z reguły zakaża komórki nabłonka jelit cienkich i kępki Peyera. Głównymi objawami są silna biegunka i wymioty. Wirus może ponadto spowodować śródmiąższowe zapalenie płuc i zmartwiające zapalenie oskrzeli.

Izolacja CaKoV z kału i chorobowo zmienionych tkanek jest bardzo trudna. Rozpoznanie choroby opiera się o objawy kliniczne, zmiany w jelitach, dodatnim wynikiem testu RT-PCR z kałem i stwierdzeniu serokonwersji – najczęściej testem ELISA i testem seroneutralizacji (51). Profilaktyka polega na przestrzeganiu zasad bioasekuracji. Wczesne podjęcie leczenia objawowego przynosi efekty. Stosuje się antybiotykoterapię w celu likwidacji wtórnych infekcji bakteryjnych. Szczepionki brak.

Bydło

Zakażenia kobuwirusem bydła (BoKoV) występują w Japonii, Tajlandii, Południowej Korei, Chinach, na Węgrzech, w Belgii, Niderlandach, we Włoszech, w Wielkiej Brytanii, Turcji, Egipcie, Brazylii, Bangladeszu, Wietnamie, Kanadzie i USA (52). Po raz pierwszy BoKoV wyizolowano w Japonii w 2003 r. na hodowli komórkowej Vero z surowicy, a następnie z kału cieląt z biegunką w wieku 2–35 dni (10). We Włoszech w 2021 r. BoKoV izolowano z wymazów z jamy nosowej i odbytnicy cieląt w wieku 6–22 dni (53). We Włoszech rezerwuarem wirusa są dziki, kozy i kozice północne (54).

Zdania odnośnie patogenności BoKoV są podzielone. Przeważa pogląd, że ten kobuwirus odpowiada za duży odsetek biegunek u cieląt (55). Zakażenie dotyczy głównie cieląt poniżej miesiąca życia (56). Część badaczy jednak uważa, że rola BoKoV w chorobach bydła nie jest w pełni udokumentowana (57).

Najważniejsze zmiany histopatologiczne u cieląt zakażonych eksperymentalnie BoKoV dotyczą jelita czczego. Nabłonek kosmków jelita czczego jest w dużej mierze złuszczone, rozszerzone krypty wypełniają zwyrodniałe neutrofile, w blaszce właściwej ma miejsce naciek niewielkiej liczby limfocytów, komórek plazmatycznych, eozynofili i neutrofilii. W kosmkach jelitowych występuje umiarkowanego stopnia rozstrzeń naczyń limfatycznych (55).

Kozy

Po raz pierwszy kobuwirus (CKoV) wyizolowano od kozy z biegunką w Południowej Korei w 2012 r. (18, 58). Następnie CKoV izolowano od kóz zdrowych, od kóz z biegunką, a także od saren we Włoszech (59) oraz od kóz z USA (60) i Chinach. Odsetek izolowań CKoV od kóz z biegunką przewyższał liczbę izolowań od zwierząt zdrowych (61). CKoV należy do rodzaju *Archivirus* C.

Według analizy filogenetycznej aminokwasów białek VP0 i VP3 kłady CKoV są bardziej spokrewnione z kobuwirusami świń aniżeli z kobuwirusami bydła i owiec. Jednak sekwencja aminokwasów białka VP1 przemawia za bliższym pokrewieństwem CKoV ze szczepami kobuwirusa fretek, bydła i owiec (*Aichivirus C*; 62). Izolaty CKoV z Chin prawdopodobnie stanowią zupełnie nowy genotyp Aichivirusa C. Różnią się one bowiem mutacjami aminokwasów w regionie strukturalnym VP0 i VP1 helisy II poli-l-proliny typu II (63). Sekcja zakażonych koźląt w wieku 10–14 dni wykazała w rozdętych gazem jelitach cienkich i grubych obecność wodnistej treści barwy żółtej. Występuje rozrost krypt jelitowych i naciek blaszki właściwej okrężnicy przez liczne prawidłowe i zwyrodniałe neutrofile (59).

Koty

Kobuwirus kotów jest izolowany głównie od kotów z biegunką (64). W Północnych Chinach wywołuje biegunkę u 19,1% kotów, a zakażenia bezobjawowe u 8,7% kotów (65). Wirus zakaża koty w Wielkiej Brytanii (66), Włoszech (67) i Korei Południowej (68).

Inne gatunki zwierząt

Kobuwirusy izoluje się z kału zdrowych królików (AiV-E, *Aichivirus E*; 69). Występują w kale 23,68% i we krwi 18,4% zakażonych doświadczalnie królików (70). Nowy genotyp kobuwirusa zakaża jaki (71), owce (72) i nietoperze. Kobuwirusy nietoperzy należą do rodzaju *Aichivirus F* (AIV-F; 73, 74).

Kobuwirusy gryzoni (MuKoV, murine kobuvirus) należą do rodzaju *Archivirus A* (AiV-A) razem z kobuwirusami człowieka, psów i kotów. Gryzonie stanowią ważny rezerwuuar kobuwirusów. Izoluje się je z płuc, mózgu, serca i wątroby gryzoni. Kobuwirus myszy (MuKoV) stwierdzono po raz pierwszy u *Peromyscus crinitus* i *Peromyscus maniculatus* w USA w 2011 r. (75), następnie w Wietnamie (76), na Węgrzech (4), w USA (77) i Chinach (78). Zakaża on także szczury *Rattus argentiventer*, *R. losea* i *R. norvegicus*. Kobuwirusy szczurów wyraźnie różnią się cechami genetycznymi od innych wirusów z rodzaju *Aichivirus A*. Zakażenie szerzy się drogą fekalno-oralną (79) może również rozprzestrzeniać się poprzez ścieki (78).

Prowadzone badania w wielu ośrodkach naukowych przyczynią się z pewnością do poszerzenia wiedzy o właściwościach biologicznych, epidemiologii, patogenezie i dynamice zakażeń kobuwirusami u zwierząt. Powinny one też wyjaśnić ewentualne właściwości zoonotyczne kobuwirusów. Wyniki zakażeń eksperymentalnych z pewnością wniosą nowe dane do poznania patogenezy zakażeń kobuwirusowych.

Piśmiennictwo

- Dennechy P.H.: Viral gastroenteritis in children, *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2011, **30**, 63–64.
- Brugere-Picoux J., Tessier P.: Gastro-entérites virales des animaux domestiques et zoonoses, *Bull. Acad. Natl. Med.* 2010, **194**, 1439–1449.
- Zell R., Delwart E., Gorbalenya A.E., Hovi T., King A.M.Q., Knowles N.J., Lindberg A.M., Pallansch M.A., Palmenberg A.C., Reuter G., Simmonds P., Skern T., Stanway G., Yamashita T.: ICTV Virus Taxonomy Profile: Picornaviridae, *J. Gen. Virol.* 2017, **98**, 2421–2422.
- Reuter G., Boros A., Pankovics P.: Kobuviruses: A comprehensive review, *Rev. Med. Virol.* 2011, **21**, 32–41.
- Di Martino B., Di felice E., Ceci C., Di Profio F., Marsilio E.: Canine kobuviruses in diarrheic dogs in Italy, *Vet. Microbiol.* 2013, **166**, 246–249.
- Kaiser F.K., van Dyck L., Jo W.K., Schneiner T., Pfankucher V.M., Wohlsein P., Baumann I., Peters M., Baumgärtner W., Osterhaus A.D.M.F., Ludlow M.: Detection of systemic Canine kobuvirus infection in peripheral tissues and the central nervous system of a fox infected with Canine distemper virus, *Microorganisms* 2021, **9**, 2521, DOI: 10.3390/microorganisms9122521.
- Yamashita T., Kobayashi S., Sakae K., Nakata S., Chiba S., Ishihara Y., Isomura S.: Isolation of cytopathic small round viruses with BS-C-1 cells from patients with gastroenteritis, *J. Infect. Dis.* 1991, **164**, 954–957.
- Yamashita T., Sakae K., Tsuzuki H., Suzuki Y., Ishikawa N., Takeda N., Miyamura T., Yamazaki S.: Complete nucleotide sequence and genetic organization of Aichi virus, a distinct member of the Picornaviridae associated with acute gastroenteritis in humans, *J. Virol.* 1998, **72**, 8408–8412.
- Khamrin P., Maneekarn N., Okitsu S., Ushijima H.: Epidemiology of human and animal kobuviruses, *Virus Dis.* 2014, **25**, 195–200.
- Yamashita T., Ito M., Kabashima Y., Tsuzuki H., Fujiura A., Sakae K.: Isolation and characterization of a new species of Kobuvirus associated with cattle, *J. Gen. Virol.* 2003, **84**, 3069–3077.
- Kapoor A., Simmonds P., Dubovi E.J., Quaisar N., Henriquez J.A., Medina J., Shields S., Lipkin W.J.: Characterization of a canine homolog of human Aichivirus, *J. Virol.* 2011, **85**, 11520–11525.
- Phan T.G., Kapusinszky B., Wang C., Rose R.K., Lipton H.L., Delwart E.L.: The fecal viral flora of wild rodents, *PLoS Pathog.* 2011, **7**, e1002218, DOI: 10.1371/journal.ppat.1002218.
- Lu L., Van Dung N., Ivens A., Bogaardt C., O'Toole A., Bryant J.E., Carrique-Mas J., Cuong N.V., Anh P.H., Rabaa M.A., Tue N.T., Thwaites G.E., Baker S., Simmonds P., Woolhouse M.E.: Genetic diversity and cross-species transmission of kobuviruses in Vietnam, *Virus Evol.* 2018, **4**, vey002, DOI: 10.1093/ve/vey002.
- Li L., Victoria J.G., Wang C., Jones M., Fellers G.M., Kunz T.H., Delwart E.: Bat guano virome: predominance of dietary viruses from insects and plants plus novel mammalian viruses, *J. Virol.* 2010, **84**, 6955–6965.
- Onosi O., Upfold N.S., Jukes M.D., Luke G.A., Knox C.: The first molecular detection of Aichi virus 1 in raw sewage and mussels collected in South Africa, *Food Environ. Virol.* 2019, **11**, 96–100.
- Zell R., Delwart E., Gorbalenya A.E., Hovi T., King A.M.Q., Knowles N.J., Lindberg A.M., Pallansch M.A., Palmenberg A.C., Reuter G., Simmonds P., Skern T., Stanway G., Yamashita T.: ICTV Virus Taxonomy Profile: Picornaviridae, *J. Gen. Virol.* 2017, **98**, 2421–2422.
- Smits S.L., Raj V.S., Oduber M.D., Schapendonk C.M., Bodewes R., Provacia L., Stittelaar K.J., Osterhaus A.D., Haagmans B.L.: Metagenomic analysis of the ferret fecal viral flora, *PLoS One* 2013, **8**, e71595.
- Oem J.K., Lee M.H., Lee K.K., An D.J.: Novel Kobuvirus species identified from black goat with diarrhea, *Vet. Microbiol.* 2014, **172**, 563–567.
- Reuter G., Boros A., Pankovics P., Egyed L.: Kobuvirus in domestic sheep, Hungary, *Emerg. Infect. Dis.* 2010, **16**, 869–870.
- International Committee on Virus Taxonomy (ICTV): Virus Taxonomy, 2021. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>
- Reuter G., Boldizsár A., Kiss I., Pankovics P.: Candidate new species of Kobuvirus in porcine hosts, *Emerg. Infect. Dis.* 2008, **14**, 1968–1970.
- Kharim P., Maneekarn N., Hidaka S., Kishikawa S., Ushijima K., Okitsu S., Ushijima H.: Molecular detection of kobuvirus sequences in stool samples collected from healthy pigs in Japan, *Infect. Genet. Evol.* 2010, **10**, 950–954.
- Drexler J.F., Baumgarte S., de Souza Luna L.K., Eschbach-Bludau M., Lukashev A.N., Drosten C.: Aichi virus shedding in high concentrations in patients with acute diarrhea, *Emerg. Infect. Dis.* 2011, **17**, 1544–1548.
- Prevost B., Lucas F.S., Goncalves A., Richard F., Moulin L., Wurtzer S.: Large scale survey of enteric viruses in river and waste water underlines the health status of the local population. *Environ. Int.* 2015, **79**, 42–50.
- Sdiri-Loulizi K., Hassine M., Bour J.B., Ambert-Balay K., Mastouri M., Aho L.S., Gharbi-Khelifi H., Aouni Z., Sakly N., Chouchane S., Neji-Guédiche M., Pothier P., Aouni M.: Aichi virus IgG seroprevalence in Tunisia parallels genomic detection and clinical presentation in children with gastroenteritis, *Clin. Vaccine Immunol.* 2010, **17**, 1111–1116.
- Kitajima M., Gerba C.P.: Aichi virus 1: Environmental occurrence and behavior, *Pathogens* 2015, **4**, 256–268.
- Oh D.Y., Silva P.A., Hauroeder B., Diedrich S., Cardoso D.D., Schreier E.: Molecular characterization of the first Aichi viruses isolated in Europe and in South America, *Arch. Virol.* 2006, **151**, 1199–1206.
- Kaikkonen S., Räsänen S., Rämetsä M., Vesikari T.: Aichi virus infection in children with acute gastroenteritis in Finland, *Epidemiol. Infect.* 2010, **138**, 1166–1171.

29. Rivadulla E., Varela M.F., Romalde J.L.: Epidemiology of Aichi virus in fecal samples from outpatients with acute gastroenteritis in Northwestern Spain, *J. Clin. Virol.* 2019, **118**, 14–19.
30. Li L.L., Liu N., Yu J.M., Ao Y.Y., Li S., Stine O.C., Duan Z.J.: Analysis of Aichi virus and Saffold virus association with pediatric acute gastroenteritis, *J. Clin. Virol.* 2017, **87**, 37–42.
31. Rivadulla E., Varela M.F., Romalde J.L.: Low prevalence of Aichivirus in molluscan shellfish samples from Galicia PL, *Microbiol.* 2017, **122**, 516–521.
32. Rivadulla E., Romalde J.L.: A Comprehensive review on human Aichi virus, *Virol. Sin.* 2020, **35**, 501–516.
33. Carter M.J.: Enterically infecting viruses: pathogenicity, transmission and significance for food and waterborne infection, *J. Appl. Microbiol.* 2005, **98**, 1354–1380.
34. Reuter G., Boldizsár A., Papp G., Pankovics P.: Detection of Aichi virus shedding in a child with enteric and extraintestinal symptoms in Hungary, *Arch. Virol.* 2009, **154**, 1529–1532.
35. Lee J.Y., Kim J.H., Rho J.Y.: Development of rapid and specific detection for the human Aichivirus A using the loop-mediated isothermal amplification from water samples, *Indian. J. Microbiol.* 2019, **59**, 375–378.
36. Van Dung N., Anh P.H., Van Cuong N., Hoa N., Carrique-Mas J., Be Hien V., Sharp C., Rabaa M., Berto A., Campbell J., Baker S., Farrar J., Woolhouse M.E., Bryant J.E., Simmonds P.: Large-scale screening and characterization of enteroviruses and kobuviruses infecting pigs in Vietnam, *J. Gen. Virol.* 2016, **97**, 378–388.
37. Shi Y., Li B., Tao J., Cheng J., Liu H.: The complex co-infections of multiple porcine diarrhoea viruses in local area based on the Luminex xTAG multiplex detection method. *Front. Vet. Sci.* 2021, **8**, 602866, DOI:10.3389/fvets.2021.602866.
38. Jin W.J., Yang Z., Zhao Z.P., Wang W.Y., Yang J., Qin A.J., Yang H.C.: Genetic characterization of porcine kobuvirus variants identified from healthy piglets in China, *Infect. Genet. Evol.* 2015, **35**, 89–95.
39. Jackova A., Sliz I., Mandelik R., Salamunova S., Novotny J., Kolesarova M., Vlasakova M., Vilcek S.: Porcine kobuvirus 1 in healthy and diarrheic pigs: Genetic detection and characterization of virus and co-infection with rotavirus A, *Infect. Genet. Evol.* 2017, **49**, 73–77.
40. Okitsu S., Khamrin P., Thongprachum A., Hidaka S., Kongkaew S., Kongkaew A., Maneekarn N., Mizuguchi M., Hayakawa S., Ushijima H.: Sequence analysis of porcine kobuvirus VP1 region detected in pigs in Japan and Thailand, *Virus Genet.* 2012, **44**, 253–257.
41. Reuter G., Nemes C., Boros A., Kapusinszky B., Delwart E., Pankovics P.: Porcine kobuvirus in wild boars (*Sus scrofa*), *Arch. Virol.* 2013, **158**, 281–282.
42. Zhai S.L., Zhang H., Lin T., Chen S.N., Chou X., Chen Q.L., Lv D.H., Wen X.H., Zhou X.R., Jia C.L., Wei W.K.: A novel porcine kobuvirus emerged in piglets with severe diarrhoea in China, *Transbound. Emerg. Dis.* 2017, **64**, 1030–1036.
43. Ribeiro J., de Arruda Leme R., Alfieri A.F., Alfieri A.A.: High frequency of Aichivirus C (porcine kobuvirus) infection in piglets from different geographic regions of Brazil, *Trop. Anim. Health. Prod.* 2013, **45**, 1757–1762.
44. Yang F., Liu X., Zhou Y., Lyu W., Xu S., Xu Z., Zhu L.: Histopathology of porcine kobuvirus in Chinese piglets, *Virol. Sin.* 2015, **30**, 396–399.
45. Rivadulla E., Romalde J.L.: A comprehensive review on human Aichi virus, *Virol. Sin.* 2020, **35**, 501–516.
46. Agnihotri D., Maan S., Batra K., Kumar A., Singh Y., Mor S.K.: First report of concurrent infection of canine Kobuvirus and canine Distemper virus in a diarrheic dog in India, *Israel J. Vet. Med.* 2023, **78**, 47–55.
47. Carmona-Vicente N., Buesa J., Brown P.A., Merga J.Y., Darby A.C., Stavisky J., Sadler L., Gaskell R.M., Dawson S., Radford A.D.: Phylogeny and prevalence of kobuviruses in dogs and cats in the UK, *Vet. Microbiol.* 2013, **164**, 246–252.
48. Olarte-Castillo X.A., Heeger F., Mazzoni C.J., Greenwood A.D., Fyumagawa R., Moehlman P.D., Hofer H., East M.L.: Molecular characterization of canine kobuvirus in wild carnivores and the domestic dog in Africa, *Virology* 2015, **477**, 89–97.
49. Deng B., Song Y., Li L., Zhou Y., Zhu C., Zhang W.: Detection and genetic characterization of canine kobuvirus from stray dogs in Shanghai, China. *Arch. Virol.* 2023, **168**, 112, DOI: 10.1007/s00705-023-05710-z.
50. Miyabe F.M., Ribeiro J., Alfieri A.F., Alfieri A.A.: Detection of canine kobuvirus RNA in diarrheic fecal samples of dogs with parvoviruses, *Brazil. J. Microbiol.* 2019, **50**, 871–874.
51. Vicente N.C., Buesa J., Brown P.A., Merga J.Y., Darby A.C., Tavisky J., Sadler L., Gaskell R.M., Dawson S., Radford A.D.: Phylogeny and prevalence of kobuviruses in dogs and cats in the UK, *Vet. Microbiol.* 2013, **164**, 246–252.
52. Hao L., Chen C., Bailey K., Wang L.: Bovine kobuvirus: A comprehensive review, *Transbound. Emerg. Dis.* 2021, **68**, 1886–1894.
53. Righi C., Curini V., Torresi C., Comma C., Pirami S., Di Lallo V., Gobbi P., Giammarioni M., Viola G., Pela M., Feliziani F., Petrini S.: Molecular detection and genetic characterization of Bovine kobuvirus (BKV) in diarrhoeic calves in a central Italy herd, *Transbound. Emerg. Dis.* 2023, <https://doi.org/10.1155/2023/6637801>
54. Di Martino B., Di Profio F., Roberto S., Fruci P., Sarchese V., Palombieri A., Melegari I., Orusa R., Martella V., Marsilio F.: Molecular survey on kobuviruses in domestic and wild ungulates from northwestern Italian alps, *Front. Vet. Sci.* 2021, **8**, <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.679337>
55. Wang L., Fredrickson R., Duncan M., Samuelson J., Hsiao S.H.: Bovine kobuvirus in calves with diarrhea, United States, *Emerg. Infect. Dis.* 2020, **26**, 176–178.
56. Gomez D.E., Weese J.S.: Viral enteritis in calves, *Canad. Vet. J.* 2017, **58**, 1267–1274.
57. Castells M., Colina R.: Viral Enteritis in cattle: To well known viruses and beyond, *Microbiol. Res.* 2021, **12**, 663–682.
58. Lee M., Jeoung H.Y., Lim J.A., Song J.Y., Song D.S., An D.J.: Kobuvirus in South Korean black goats, *Virus Genes* 2012, **45**, 186–189.
59. Di Martino F., Di Profio I., Melegari E., Di Felice S., Guidetti C., Orusa R., Martella V., Marsilio F.: Molecular detection of kobuviruses in European roe deer (*Capreolus capreolus*) in Italy, *Arch. Virol.* 2015, **160**, 2083–2086.
60. Sobhy N.M., Armien A.G., Wünschmann A., Muldoon D., Goyal S.M., Mor S.K.: Detection and molecular characterization of kobuvirus from diarrheic goats in Minnesota, *J. Vet. Diagn. Invest.* 2020, **32**, 873–879.
61. Melegari I., Di Profio F., Sarchese V., Martella V., Marsilio F., Di Martino B.: First molecular evidence of kobuviruses in goats in Italy, *Arch. Virol.* 2016, **161**, 3245–3248.
62. Abi K., Zhang Q., Jing Z.Z., Tang C.: First detection and molecular characteristics of caprine kobuvirus in goats in China, *Infect. Genet. Evol.* 2020, **85**, 104566.
63. Huang M., Gan J., Xu Z., Guo Y., Chen Z., Gao G.F., Liang H., Liu W.J.: A black goat-derived novel genotype of Aichi virus C blurs the boundary between caprine and porcine kobuviruses, *Virology* 2023, **585**, 215–221.
64. Lu G., Zhang X., Luo J., Sun Y., Xu H., Huang J., Ou J., Shoujun L.: First report and genetic characterization of feline kobuvirus in diarrhoeic cats in China. *Transbound. Emerg. Dis.* 2018, **65**, 1357–1363.
65. Niu T.J., Yi S.S., Wang X., Wang L.H., Guo B.Y., Zhao L.Y., Zhang S., Dong H., Wang K., Hua X.G.: Detection and genetic characterization of kobuvirus in cats: The first molecular evidence from Northeast China, *Infect. Genet. Evol.* 2019, **68**, 58–67.
66. Carmona-Vicente N., Buesa J., Brown P.A., Merga J.Y., Darby A.C., Stavisky J., Sadler L., Gaskell R.M., Dawson S., Radford A.D.: Phylogeny and prevalence of kobuviruses in dogs and cats in the UK, *Vet. Microbiol.* 2013, **164**, 246–252.
67. Di Martino B., Profio F., Melegari I., Marsilio F., Martella V.: Detection of feline kobuviruses in diarrhoeic cats, Italy, *Vet. Microbiol.* 2015, **176**, 186–189.
68. Chung J.Y., Kim S.H., Kim Y.H., Lee M.H., Lee K.K., Oem J.K.: Detection and genetic characterization of feline kobuviruses, *Virus Genes* 2013, **47**, 559–562.
69. Pankovics P., Boros Á., Bíró H., Horváth K.B., Phan T.G., Delwart E., Reuter G.: Novel picornavirus in domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus* var. *domestica*), *Infect. Genet. Evol.* 2016, **37**, 117–122.
70. Zhou L., Lu X., Chao C., Zhang Y., Ning S., Zhang W.: Characterization of a novel picornavirus prevalent in experimental rabbits (*Oryctolagus cuniculus*), *Heliyon* 2023, **9**, e15702.
71. Yan N., Yue H., Liu Q., Wang G., Tang C., Lia M.: Isolation and characteristics of a novel Aichivirus D from yak, *Microbiol. Spectrum* 2023, **11**, DOI: <https://doi.org/10.1128/spectrum.00099-23>.
72. Abi K.M., Yu Z., Jing Z.Z., Tang C.: Identification of a novel Aichivirus D in sheep, *Infect. Genet. Evol.* 2021, **91**, 104810.
73. Wu Z., Yang L., Ren X., He G., Zhang J., Yang J., Qian Z., Dong J., Sun L., Zhu Y., Du J., Yang F., Zhang S., Jin Q.: Deciphering the bat virome catalog to better understand the ecological diversity of bat viruses and the bat origin of emerging infectious diseases, *ISME J.* 2016, **10**, 609–620.
74. Lee S.Y., Chung C.U., Park J.S., Oem J.Q.: Novel viruses detected in bats in the Republic of Korea. *Sci. Rep.* 2020, **10**, 20296, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77307-4>.
75. Phan T.G., Kapusinszky B., Wang C., Rose R.K., Lipton H.L., Delwart E.L.: The fecal viral flora of wild rodents. *PLoS Pathog.* 2011, **7**: e1002218.
76. Lu L., Van Dung N., Ivens A., Bogaardt C.: Genetic diversity and cross-species transmission of kobuviruses in Vietnam, *Virus Evol.* 2018, **4**: vey002.
77. Williams S.H., Che X., Garcia J.A., Klena J.D., Lee B., Muller D., Ulrich W., Corrigan R.M., Nichol S., Jain K., Lipkin W.I.: Viral diversity of house mice in New York City, *mBio*. 2018, **9**: e01354–17.
78. You F., Zhang M.Y., He H., He W.Q., Li Y.Z., Chen Q.: Kobuviruses carried by *Rattus norvegicus* in Guangdong, China, *BMC Microbiol.* 2020, **20**, 94, <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01767-x>
79. Gao Y., He W., Fu J., Li Y., Chen Q.: Epidemiological evidence for fecal-oral transmission of murine kobuvirus, *Front. Public Health.* 2022, **10**, DOI: 10.3389/fpubh.2022.865605.