

Энтеровирусная инфекция в Республике Беларусь: эпидемиологические, клинико-этиологические и молекулярно-биологические аспекты заболеваемости

*ГУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии»,
ГУ «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья»,
кафедра детских инфекционных болезней БГМУ
Минск, Беларусь*

Введение. Энтеровирусные инфекции (ЭВИ) представляют серьезную проблему для здравоохранения во всем мире. Это обусловлено широким распространением энтеровирусов (ЭВ), многообразием вызываемых ими клинических форм, высокой частотой вспышек и эпидемий ЭВИ, в том числе, с участием водного и пищевого факторов. Наиболее часто ЭВИ у взрослых протекает субклинически, или сопровождается легким недомоганием («летний грипп»). У детей ЭВ могут вызывать различные клинические формы, в том числе – герпангину, серозный менингит, менингоэнцефалит, кардиты, а также быть причиной генерализованной инфекции у новорожденных [1].

Биология возбудителей ЭВИ имеет ряд особенностей, к которым в первую очередь следует отнести чрезвычайно высокий уровень генетической изменчивости ЭВ, обусловленный как генетическим дрейфом вследствие спонтанных точечных мутаций (частота мутаций ЭВ составляет приблизительно 1 на геном на цикл репликации) [2], так и частой внутривидовой рекомбинацией [3]. Следствием высокой генетической вариабельности ЭВ является их пантропность – способность инфицировать различные типы клеток организма, что обуславливает столь широкий спектр вызываемых ими клинических форм инфекции. Для ЭВ характерно выраженное количественное и типовое разнообразие антигенных вариантов – серотипов. По утвержденной на сегодняшний день классификации вирусов выделено 68 серотипов ЭВ, перечень которых постоянно пополняется [4]. Так, только за последние 10 лет было идентифицировано более 15 новых серотипов ЭВ [5, 6].

Еще одной важной биологической особенностью энтеровирусных агентов является их высокая устойчивость к действию физических и химических факторов, что определяет способность длительно существовать в объектах внешней среды. Попадая в воду, продукты питания, ЭВ могут сохранять свои инфекционные свойства в течение длительного времени и не утрачивать их даже после стандартных процедур обеззараживания. Поэтому водный и пищевой факторы играют существенную роль в возникновении массовых вспышек заболеваемости ЭВИ, во время которых происходит заражение значительного количества людей на обширных территориях.

Вышеуказанные характеристики ЭВ, а также отсутствие специфических средств вакцинопрофилактики в отношении вызываемых ими ЭВИ неполиомиелитной природы определяют высокую социальную значимость данной группы инфекций и необходимость осуществления регулярного эпидемиологического надзора с целью контроля за эпидситуацией и предотвращения массовых вспышек заболеваемости. В Республике Беларусь официальная регистрация заболеваемости ЭВИ началась в 2003

г., когда произошла самая крупная по своим масштабам и последствиям вспышка, охватившая почти одновременно несколько регионов страны - гг. Минск, Брест, Минскую и Брестскую области.

В настоящей статье представлены результаты анализа данных эпидемиологических, вирусологических, клинических и молекулярно-биологических исследований, полученных в течение последних 5 лет в процессе осуществления эпидемиологического надзора за ЭВИ в Республике Беларусь.

Материалы и методы.

Эпидемиологические исследования. Для выявления характерных признаков эпидемического процесса энтеровирусных инфекций использовались стандартные методы эпидемиологической диагностики и медицинской статистики. Исследования проводились на основании информации базы данных ГУ «РЦГЭиОЗ»: Государственная статистическая отчетность «Справка о движении инфекционных и паразитарных заболеваний» (Форма №1), Компьютерная программа «Учет и анализ заболеваемости энтеровирусными инфекциями», Автоматизированная многуровневая программа «Эпидемиологический мониторинг инфекционной и паразитарной заболеваемости по кодировочным талонам к карте эпидемиологического обследования очага».

Клинические исследования. Анализ особенностей клинического течения ЭВИ Всего под наблюдением находилось 303 ребенка с ЭВИ, в том числе в 2003г. обследовано 167 пациентов в возрасте 0 – 18 лет с разными формами ЭВИ, в 2004г. - 46, в 2005г. и 2006 г. – по 45 лабораторно подтвержденных случаев заболевания детей с ЭВИ. Среди больных выделены следующие группы: 1-я группа – дети раннего возраста от 0 до 3 лет (n = 81), 2-я группа – дети дошкольного возраста от 4 до 6 лет (n=105), 3-я группа – дети младшего школьного возраста от 7 до 11 лет (n=6), 4-я группа – дети старшего школьного возраста и подростки (n=48). проводили среди детей Минского региона, госпитализированных в Минскую городскую детскую инфекционную больницу в 2003 – 2006гг.

Всем больным проводились общеклинические, биохимические исследования крови и ЦСЖ. В биохимическое исследование крови входило определение концентрации мочевины и креатинина, уровня АлАТ, АсАТ, ЛДГ (I – V фракции), КФК, ГГТП, Ф-1-Ф, электролитов (калий, натрий, хлор, кальций), билирубина, тимоловой пробы, уровня амилазы общей и панкреатической, СРБ и сиаловых кислот, общего белка биуретовым способом и белковых фракций методом электрофореза на бумаге. У всех больных определялся уровень глюкозы сыворотки крови.

Спектр микробиологических исследований, выполняемый в каждом клиническом случае, включал в себя бактериологические посевы крови и ЦСЖ, производимые в день поступления в стационар и при необходимости – повторно в динамике, мазки из носоглотки на менингококковую инфекцию при поступлении в стационар до начала терапии.

Лабораторное подтверждение диагноза ЭВИ было получено при использовании комплекса серологических (обнаружение антигенов (АГ) ЭВ в фекалиях и носоглоточных смывах, антиэнтеровирусных IgM в сыворотках крови), вирусологических (выделение вирусов в культуре клеток) и молекулярно-биологических (детекция РНК ЭВ в сыворотках крови, образцах спинномозговой жидкости (ЦСЖ) и носоглоточных смывах) методов.

Вирусологические и молекулярно-эпидемиологические исследования. Выделение вирусов проводили с использованием клеточных линий RD, BGM, Herp-2c. Для обнаружения ЭВ в исследуемых пробах использовали общепринятый метод выделения ЭВ на 2-х культурах чувствительных клеток в трех последовательных пассажах [7]. Идентификацию выделенных ЦПА проводили с помощью реакции нейтрализации [8] микрометодом с использованием панели коммерческих иммунных группо- и типоспецифических в отношении ЭВ сывороток производства НИИ полиомиелита и вирусных энцефалитов (г. Москва).

Для выделения РНК из образцов клинического, санитарно-вирусологического материала и зараженных ЭВ культур клеток применяли коммерческие наборы «РНК-СОРБ» (ФГУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия) и TRI Reagent (SIGMA, США) в соответствии с инструкциями производителей. Реакцию обратной транскрипции осуществляли с использованием набора для обратной транскрипции RevertAid, включающего обратную транскриптазу вируса лейкемии мышей Молони, производства «Fermentas» (Литва) в соответствии с инструкцией производителя. Амплификацию участков генома, локализованного в пределах гена, кодирующего основной капсидный белок VP1 ЭВ, проводили с помощью нескольких наборов праймеров [9, 10], в состав реакционной смеси входили 60мМ ТрисНС1mM (NH₄)₂SO₄, 2,2 mM MgCl₂, 200 мкмоль dNTP, 2,5 ед Taq-полимеразы. Объем реакционной смеси составлял 25 мкл. Секвенирование участков ДНК проводили методом терминации цепи в термоциклической реакции с использованием коммерческого набора «Thermo Sequenase Cy5 Dye Terminator Cycle Sequencing Kit» («Amersham Biosciences»/«General Electric Healthcare», США). Анализ продуктов реакции проводили на автоматическом ДНК-анализаторе «ALFexpress II» с использованием программного продукта “ALFwin Sequence Analyser 2.11” («Amersham Biosciences», США). Полученные нуклеотидные последовательности (прямую и обратную) для каждой исследуемой пробы выравнивали друг относительно друга для удаления неясных оснований и получения консенсусных последовательностей, которые использовали для дальнейшей работы. (рН8,5), 15

Компьютерный анализ последовательностей (множественное выравнивание, определение эволюционных расстояний, филогенетическую реконструкцию и определение достоверности ее топологии) осуществляли с помощью программы MEGA (Molecular evolutionary genetics analysis), версии 4 [11]. Генетические расстояния между последовательностями определяли на основании модели нуклеотидных замен Tamura-Nei (TN93) [12], с учетом различных уровней нуклеотидных замен для разных сайтов (γ -распределение, $\alpha = 0,5$). Реконструкцию филогенетических древ проводили на основании полученных эволюционных расстояний с помощью алгоритма neighbor-joining (NJ), встроенного в MEGA. Достоверность топологий полученных филогенетических древ оценивали методом псевдореплик (bootstrapping) [13]. Для оценки достоверности топологии по каждому дереву были проанализированы 1000 псевдреплик.

Результаты и обсуждение

Эпидемиологические и санитарно-вирусологические исследования. Динамика заболеваемости ЭВИ на территории Республики Беларусь в 2003-2008 гг. (Рис.1) характеризовалась наличием 2-х пиков: в 2003 году, когда в ряде регионов (Минск, Минская область, Брест, Брестская область) произошли массовые вспышки ЭВИ, и в 2006 году, в течение которого имел место выраженный эпидемический подъем на

территории практически всей страны. В целом эпидемическая тенденция заболеваемости имела умеренную направленность к снижению (темп прироста -1,77, среднегодовой уровень заболеваемости 15,37 на 100 тысяч населения).

Основной вклад в показатели заболеваемости вносили Минский и Гомельский регионы. Самые низкие показатели регистрировалась в Витебской и Гомельской областях (рис.2). Средний уровень заболеваемости ЭВИ в республике формировался, преимущественно, за счет заболеваемости в г. Минске, где ежегодно регистрировалось около половины случаев (2007г. - 52%), а уровень заболеваемости в 2-3 раза превышал республиканский (2007г. – 36,15 на 100 тысяч населения). В целом распространенность ЭВИ среди городского населения была в 2,5 раза выше, чем среди сельского - 16,93 и 6,84 на 100 тысяч населения, соответственно (2006г. - 21,61 и 7,57). Такое территориальное распределение обусловлено особенностями демографической ситуации, качеством и доступностью вирусологических исследований в столице и областных городах. Следует отметить, что на фоне более низких, в целом, показателей заболеваемости, лидирующее ранговое место в республике по заболеваемости энтеровирусным менингитом последние 3 года занимала Гомельская область. Несмотря на снижение показателя в 2007 году на 15%, областной уровень в 4 раза превышал республиканский (11,71 и 2,91 на 100 тысяч населения соответственно).

Анализ годовой динамики заболеваемости обнаружил типичную для ЭВИ летне-осеннюю сезонность (рис.3). В 2007 году формирование сезонного подъема началось с августа, его длительность составила 4 месяца (август, сентябрь, октябрь, ноябрь) с максимумом в сентябре. В среднем ежемесячно регистрировалось по 114 случаев ЭВИ, доля заболеваний, обусловленных влиянием сезонных факторов, составила 39%. В 2006 году сезонный подъем был длиннее на 1 месяц (с августа по декабрь) с максимальным количеством случаев в сентябре, октябре и ноябре. Среднемесячное количество составило 144 случая, удельный вес сезонной надбавки был в 2,2 раза выше - 86%. В ретроспективе за 5 лет, с учетом ограниченного срока наблюдения за инфекцией, можно предположить чередование эпидемически неблагоприятных и благополучных периодов с интервалом в 2 года. В более далекой ретроспективе, начиная с 1997 года в стране произошла серия вспышек ЭВИ, которые географически в разные годы охватили все 6 областей, включая столичную область и г. Минск.

Что касается возрастной структуры контингента больных ЭВИ, то основную группу составляли дети до 14 лет (более 80 %). В прошедшем 2007 году отмечалось снижение показателя в этой возрастной группе на 20% (с 96,08 до 77,14), в том числе среди детей до 1 года - на 21,5% (с 259,69 до 203,73); от 1 года до 2х лет - на 20% (с 227,32 до 180,83); от 3 до 6 лет - на 14,5% (с 108,4 до 92,49 на 100 тысяч детей). Возрастной группой риска при энтеровирусном менингите были дети 3-6 лет (2007г. - 26,54, 2006г. – 29,89 на 100 тысяч детей). Достоверный рост показателя в этой возрастной группе регистрировался в Витебской области с 4,81 до 26,46 на 100 тысяч детей. Энтеровирусными везикулярными фарингитами и гастроэнтеритами чаще болели дети до 1 года (2007г. – 102,98 и 58,21, 2006г. – 145,52 и 68,28 на 100 тысяч детей соответственно) и от 1 года до 2х лет (2007г. – 73,48 и 57,98, 2006г. - 103,33 и на 100 тысяч детей). В эпидпроцесс заболеваемости энтеровирусным энцефалитом и прочими клиническими формами ЭВИ относительно равномерно были вовлечены дети всех возрастных групп.

В разрезе клинических форм годовое распределение ЭВИ, сохраняя летнеосеннюю сезонность, имело некоторые различия. Длительность сезонного подъема заболеваемости составила:

- для энтеровирусных гастроэнтеритов - 7 месяцев (январь, март, август, сентябрь, октябрь, ноябрь, декабрь с максимумом заболеваний в августе), удельный вес заболеваний за месяцы, превышающие среднемесячный уровень - 47%;

- прочих ЭВИ - 5 месяцев (февраль, август, сентябрь, октябрь, ноябрь с максимумом в сентябре), удельный вес заболеваний за месяцы, превышающие среднемесячный уровень - 43%;

- энтеровирусных фарингитов – 4 месяца (август, сентябрь, октябрь, ноябрь с максимальным количеством случаев в августе и сентябре) удельный вес заболеваний за месяцы, превышающие среднемесячный уровень – 42,5%;

- энтеровирусных менингитов – 4 месяца (июль, август, сентябрь, октябрь с максимальным количеством случаев в августе и сентябре) удельный вес заболеваний за месяцы, превышающие среднемесячный уровень - 69%.

Обращает на себя внимание совпадение длительности и максимумов сезонного подъема фарингитов и менингитов. Вместе с тем, влиянию сезонных факторов была более подвержена заболеваемость менингитами.

Как известно, для ЭВ характерен фекально-оральный механизм передачи, что лежит в основе их регулярной циркуляции среди населения. Вирусные агенты с фекалиями попадают в окружающую среду и загрязняют ее, в том числе - водные объекты и далее - питьевую воду и пищевые продукты. По результатам многолетних исследований контаминация вод разного вида пользования была нередким событием в нашей стране в последние годы. Уровни их контаминации по данным лабораторной службы за 2007 г. представлены на рис. 4. Наиболее контаминированными оказались сточные воды, что было ожидаемым, а также воды водоисточников. Среди разных видов пищевых продуктов, отобранных в очагах инфекции, наиболее уязвимыми в плане вирусного загрязнения были салаты и расфасованные воды (доля контаминированных проб от числа исследованных - 23,8% и 16,4%, соответственно).

Клинические исследования. В течение всего периода наблюдения за детьми, госпитализированными в Минскую городскую детскую инфекционную больницу, отмечалось большое разнообразие клинических форм ЭВИ в зависимости от преобладающего серотипа возбудителей. Так, в 2003г., во время вспышки, когда в популяции населения циркулировали вирусы ЕСНО 30, 6, Коксаки В5, а доминирующим был вирус ЕСНО 30, основной клинической формой заболевания был серозный менингит, как в изолированной форме, так и в сочетании с другими ее формами. В целом же частота встречаемости серозного менингита среди госпитализированных детей с ЭВИ составила 80%. Большинство детей перенесли серозный менингит в виде комбинированных форм в сочетании с энцефалитами, кардитами, гепатитами. Еще одной особенностью вспышки ЭВИ 2003 г. было наличие изолированных кардитов (у 8% детей). Все случаи кардитов, при которых удалось выделить полноценный вирусный агент, были вызваны вирусом ЕСНО 30.

К особенностям клинического течения инфекции в 2004г. следует отнести преобладание кишечного синдрома, встречающегося во всех возрастных группах, но наиболее часто - у детей до 3-х лет. В изолированном виде синдром наблюдали у 18,6% госпитализированных в этом году детей. Еще одной особенностью было наличие изолированного респираторного синдрома у детей старше 3-х лет. В течение

эпидсезона 2004 г. поражение мозговых оболочек встречалось значительно реже: серозный менингит ЭВ-этиологии зарегистрирован у 2,3% пациентов.

В 2005г. преобладающей клинической формой инфекции была герпетическая ангина как в изолированном виде, так и в виде комбинированных форм. Несмотря на то, что изолированного поражения сердца ни у одного пациента зарегистрировано не было, наблюдали сочетание кардита с энцефалитом (15,4% детей в возрасте от 4 до 7 лет) и с экзантемой (15,4% детей в возрасте от 4 до 7 лет). Менингиты наблюдались несколько чаще, чем в предыдущем году и составили 13,3% от числа наблюдаемых больных.

Основным клиническим вариантом течения ЭВИ в 2006г. была также герпетическая ангина. Она встречалась как в изолированном виде, так и в сочетании с экзантемой и несколько реже – с кишечным синдромом. Наиболее поражаемой группой были дети до 3-х лет. Вторым по значимости в структуре инфекции (18,6% от числа наблюдаемых больных) в этом году был серозный менингит с преобладанием у детей в возрасте от 7 до 11 лет. Следует отметить также, что в 2006 г. , также как и в 2003г., у 9,1% больных ЭВИ диагностировали изолированное поражение сердца, этиологическим агентом которого был вирус Коксаки В 5.

С разной частотой, но постоянно в течение всего периода наблюдения встречались энцефалиты. Если в 2003г. наиболее поражаемой была III возрастная группа, то в последующие три года – I группа.

Вирусологические и молекулярно-эпидемиологические исследования.

В процессе проведения диагностических и санитарно-вирусологических исследований ежегодно региональными лабораториями выделялось от одной до нескольких сотен энтеровирусных агентов неполиомиелитной природы. В динамике их выделения за последние 7 лет можно заметить несколько пиков: в 2001, 2003, 2006 гг., которые совпадали с эпидемическими подъемами заболеваемости ЭВИ. Спектр циркулирующих ЭВ был довольно широк и ежегодно представлен несколькими десятками разных серотипов (табл).

Среди большого типового разнообразия возбудителей ЭВИ к доминирующим по распространенности и эпидемической значимости можно отнести 4 серотипа ЭВ: ЕСНО 30, ЕСНО 6, Коксаки В5, Коксаки В4. Их рейтинг за последние 6 лет представлен на рис. 5.

При анализе интенсивности циркуляции данных серотипов в динамике (рис.6) оказалось, что характерным для вирусов ЕСНО 30 и ЕСНО 6 было наличие пиков, совпадающих со вспышками заболеваемости ЭВИ или выраженными ее сезонными подъемами, и провалов, когда данные вирусы выделялись в единичных экземплярах, или вообще не обнаруживались. Для серотипов ЕСНО 6 и Коксаки В4 динамика циркуляции была иной. Она характеризовалась незначительными колебаниями в количественном составе выделенных вирусных изолятов и отсутствием выраженных пиков их регистрации. Важно отметить, что аналогичный характер циркуляции данных серотипов по сведениям CDC имел место в эти же годы в США [14].

С целью более глубокого изучения циркулирующих в последнее десятилетие на территории нашей страны популяций доминирующих ЭВ были проведены молекулярно-эпидемиологические исследования, позволившие на генетическом уровне проследить динамику перемещения возбудителей ЭВИ во времени и пространстве.

В результате проведенных молекулярно-генетических исследований с последующим филогенетическим анализом вирусов ЕСНО 30 установлено, что все выделенные изоляты формировали 4 четких кластера, соответствующих 4-м субтипам в пределах одного генотипа вируса (Рис.7). Для вирусов Коксаки В5 установлена циркуляция 2-х генотипов, каждый из которых включал 2 различных генетических субтипа (Рис.8). При этом анализ состава изолятов, входивших в каждый из субтипов вирусов ЕСНО30 и Коксаки В5, по времени и месту их выделения показал наличие общих закономерностей, определивших циркуляцию данных 2-х серотипов ЭВ. Так, установлено, что все генетические субтипы ЕСНО 30 и Коксаки В5 формировались из изолятов, объединенных общим временем и местом их выделения. При этом с течением времени происходила последовательная смена генетического субтипа вируса. Появление нового субтипа, как правило, сопровождалось вспышкой, или выраженным эпидемическим подъемом заболеваемости.

Результаты филогенетического анализа популяции вирусов ЕСНО 6 показали, что изоляты данного серотипа формировали 4 обособленных монофилетических кластера, соответствующих 4-м субтипам в пределах одного генотипа вируса (Рис.9). Однако группировка изолятов в составе кластеров не соответствовала месту и времени их выделения. Последовательной смены циркулирующих субтипов вирусов ЕСНО 6 также не наблюдалось. Так, на территории Минска и Минской области на протяжении всего периода наблюдения циркулировал один субтип вируса ЕСНО 6. В 2003 и 2007 гг. параллельно с ним циркулировали вирусы еще нескольких субтипов.

Филогенетический анализ популяции вирусов Коксаки В4 показал, что на территории Беларуси циркулировали изоляты, принадлежащие ко 2-му генотипу вируса (Рис.10). Несмотря на существенные различия в их нуклеотидных последовательностях, выделить отдельные субтипы в пределах генотипа не удалось.

Сравнивая результаты филогенетического анализа, полученные для 4-х наиболее распространенных серотипов ЭВ, можно сделать вывод о том, что генетическая структура их популяций характеризовалась существенными различиями:

- В составе популяций вирусов ЕСНО 30 и Коксаки В5 выделялись обособленные генетические варианты – субтипы вирусов, которые последовательно сменяли друг друга с течением времени. Появление нового субтипа совпадало с возникновением вспышки, или выраженного эпидемического подъема заболеваемости ЭВИ, в промежутках между которыми циркуляция серотипа была резко снижена.

- Популяция вирусов ЕСНО 6 также характеризовалась наличием обособленных генетических субтипов, которые, однако, циркулировали параллельно или последовательно и не имели четкой связи с определенным географическим регионом, тогда как для вируса Коксаки В4 выделить отдельные субтипы вообще не удалось. Динамика циркуляции этих двух серотипов характеризовалась отсутствием выраженных пиков и спадов.

Резюмируя полученные в процессе изучения этиологических аспектов заболеваемости ЭВИ данные, можно заключить, что несмотря на многообразие циркулирующих в Республике Беларусь серо-, гено- и субгенотипов ЭВ, эпидемическую обстановку в стране по ЭВИ в течение последних 5 лет определяли, преимущественно, 2 эпидемически значимых серотипа: ЕСНО 30 и Коксаки В5, которые и явились основными этиологическими агентами крупных вспышек и эпидемических подъемов заболеваемости в этот период.

Литература

1. Melnick, J. L. (1996). Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. *Fields Virology*, 3rd ed. B. Fields, Knipe, DM, Howley, PM et al. Philadelphia, Lippincott-Raven:655–712.
2. Drake, J. W. and Holland, J. J. (1999). Mutation rates among RNA viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96(24): 13910–3.
3. Lukashev, A. N., Lashkevich, V. A., Ivanova, O. E., Koroleva, G. A., Hinkkanen, A. E. and Itonen, J. (2003a). Recombination in circulating enteroviruses. *J Virol* 77(19): 10423–31.
4. Stanway, G., Brown, F., Christian, P. et al. (2005). Family Picornaviridae. *Virus Taxonomy. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. C. M. Fauquet, Mayo, M.A., Maniloff, J., Desselberger, U. and Ball, L.A. London, Elsevier/Academic Press: 757–778.
5. Oberste S., Maher K., Michele S. et al Enteroviruses 76, 89, 90 and 91 represent a novel group within the species Human enterovirus A *Journal of General Virology* (2005), 86, 445–451.
6. Oberste S., Maher K., Nix W. et al Molecular identification of 13 new enterovirus types, EV79–88, EV97, and EV100–101, members of the species Human Enterovirus *Virus Research* (2007), 128, 34–42.
7. Руководство по вирусологическим исследованиям при полиомиелите. М., 1997.
8. Lym K., Benyesh-Melnick 1960. Typing of viruses by combination of antiserum pools. Application to typing of enteroviruses (Coxsackie and Echo). *J. Immunol.* 84:309–317.
9. Oberste, M. S., Maher, K., Kilpatrick, D. R. and Pallansch, M. A. (1999c). "Molecular evolution of the human enteroviruses: correlation of serotype with VP1 sequence and application to picornavirus classification." *J Virol* 73(3): 1941–8.
10. Caro, V., Guillot, S., Delpeyroux, F. and Crainic, R. (2001). "Molecular strategy for 'serotyping' of human enteroviruses." *J Gen Virol* 82(Pt 1): 79–91.
11. S Kumar, K Tamura, and M Nei (2004) MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5:150–163.
12. Tamura K, Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. // *Mol Biol Evol.* 1993. Vol. 10. P. 512–526.
13. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies, an approach using the bootstrap // *Evolution.* 1985. Vol. 43. P. 63–68.
14. Khetsuriani N, LaMonte-Fowlkes A, Oberste S et al. Enterovirus Surveillance — United States, 1970–2005 // *MMWR.* 2006. V. 55(SS-8). P. 1–20.

Рис.1 Динамика заболеваемости и эпидемическая тенденция ЭВИ в Республике Беларусь за 2003-2007гг.

Рис.2 Динамика заболеваемости ЭВИ по областям

Рис. 3 Годовая динамика заболеваемости ЭВИ за 2006-2007гг. (абс.)

Рис. 4 Уровни контаминации вод разного вида пользования и пищевых продуктов (по данным за 2007 г.).

Таблица. Спектр энтеровирусов, выделенных в 2003-07 гг. из различных видов клинического материала и объектов внешней среды

Год	Внешняя среда	Человеческая популяция
2003	СВ 5; ЕСНО 3, 6, 7, 11, 16, 30, 25-32; н/т ЭВ	СВ 1, 5, 1- 6; СА 6-10; ЕСНО 2, 6, 7, 11, 30; н/т ЭВ
2004	СВ 1, 5; ЕСНО 6, 12, 16, 25, 29; н/т ЭВ	СВ 1, 4, 5, 1- 6; ЕСНО 5, 6, 7, 14, 16, 25, 30; н/т ЭВ
2005	СВ 1, 2, 5, 1-6; ЕСНО 16, 25, 25-32; н/т ЭВ	СВ 1, 2, 4, 5, 6, 1- 6; ЕСНО 6, 7, 8, 7-13, 20, 25, 25-32; н/т ЭВ
2006	СВ 1, 4, 5, 1-6; ЕСНО 6, 25, 32; н/т ЭВ	СВ 1, 2, 4, 5, 1- 6; ЕСНО 6, 7, 20, 21; н/т ЭВ
2007	СВ 1, 3, 4, 5, 1-6; ЕСНО 16, 18, 20, 21, 22; ЭВ 70; н/т ЭВ	СВ 1, 3, 4, 5; СА 6-10; ЕСНО 6, 7, 16; ЭВ 70; н/т ЭВ

Рис. 5 Доля эпидемически значимых доминирующих серотипов ЭВ в общей структуре выделенных энтеровирусных агентов в 2002-2007 гг.

По вертикальной оси слева – количество выделенных изолятов (абс), справа – их доля среди всех выделенных изолятов ЭВ

Рис. 6 Динамика циркуляции 4-х доминирующих серотипов энтеровирусов.

Цифры в узлах древа – процент псевдореплик, поддерживающих данную топологию. Внизу слева – шкала генетического расстояния. Анализ проводился по участку VP1-региона длиной 539 нт.

Рис. 7 Филогенетические взаимоотношения вирусов ЕСНО 30, выделенных в Республике Беларусь в 1997-2007 гг. между собой и с вирусами, циркулировавшими в других странах

Цифры в узлах древа — процент псевдореплик, поддерживающих данную топологию. Внизу слева — шкала генетического расстояния. Анализ проводился по участку VP1-региона длиной 477 нт.

Рис. 8 Филогенетические связи вирусов Coxsackie B5, циркулировавших в РБ в 1998-2007 гг.

Цифры в узлах древа — процент псевдореплик, поддерживающих данную топологию. Внизу слева — шкала генетического расстояния. Анализ проводился по участку VP1-региона длиной 369 нт.

Рис. 10 Филогенетические связи вирусов ЕСНО 6, циркулировавших в РБ 2003-2007 гг.

Цифры в узлах древа — процент псевдореплик, поддерживающих данную топологию. Внизу слева — шкала генетического расстояния. Анализ проводился по участку VP1-региона длиной 446 нт.

Рис.11 Филогенетические связи вирусов Coxsackie B4, циркулировавших в РБ в 2001-2006 гг.