

© М. Г. ТВОРОГОВА, А. Е. ГУЩИН, 2006

УДК 616-074:577.21

М. Г. Творогова, А. Е. Гуцин

### ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ: ВОПРОСЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ КАЧЕСТВА

ФГУ "Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины Росздрав", ФГУН  
"Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора", Москва

---

Открытие в 1993 г. американским ученым К. Мюллисом принципа полимеразной цепной реакции (ПЦР), удостоенное Нобелевской премии, стало одним из основных открытий XX века в области биологии. Благодаря стадии амплификации (многократного умножения) исследователи и клиницисты получили возможность обнаруживать нуклеиновые кислоты (НК) инфекционных агентов, присутствующих в низкой концентрации в биологических образцах или окружающей среде. Уже в начале 1990-х годов компанией "Hoffman-La Roche" был налажен выпуск коммерческих тест-систем на основе ПЦР (PCR, "Roche Amplicor"<sup>®</sup>) для диагностики некоторых инфекций. К этому следует добавить большое разнообразие тестов на основе технологии ПЦР, разработанных отдельными научными коллективами, — так называемых "in-house"-тестов. Развитие технологии на основе ПЦР дало импульс к разработке и внедрению амплификационных технологий, которые объединены общим названием — методы амплификации НК (МАНК). В настоящее время помимо ПЦР группа МАНК включает выпускаемые коммерческие тест-системы для амплификации ДНК на основе лигазной цепной реакции — Ligase Chain Reaction (LCR, "Abbott LCx"<sup>®</sup>), амплификации со смещением цепи — Strand Displacement Amplification (SDA, BDProbeTec<sup>™</sup>, "Becton Dickinson") и тест системы для амплификации РНК на основе принципа амплификации посредством транскрипции, запатентованные под разными торговыми марками разными производителями — Transcription Mediated amplification (TMA, Gen-Probe) и Nucleic Acid-Based amplification (NASBA, "Biomérieux"). Следует

подчеркнуть особенность российской лабораторной диагностики инфекций: МАНК представлены исключительно методом ПЦР, на основе которого несколькими производителями выпускаются коммерческие тест-системы для выявления возбудителей. В последние годы в РФ начаты разработки тест-систем для инфекционной диагностики на основе других МАНК, в частности технологии NASBA, Real-Time [1].

В настоящее время определение ДНК и РНК возбудителей с помощью МАНК получило широчайшее распространение в мировой практике и в некоторых случаях является основным способом выявления инфекционного агента, в частности при диагностике инфекций, вызванных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), вирусом гепатита С (ВГС), ВГВ, цитомегаловирусом (ЦМВ), Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae и др. [3, 5, 10, 32]. Появление МАНК в арсенале методов диагностических лабораторий поставило задачи по разработке правил внешнего контроля качества (ВКК), учитывающего особенности этого вида исследований.

Лабораторные исследования с использованием тестов на основе ПЦР отличаются определенной сложностью и многоэтапностью: обработка клинического материала и экстракция НК, непосредственно амплификация определенного фрагмента ДНК (РНК) с помощью ПЦР, наконец, детекция амплифицированных продуктов и анализ полученных результатов.

Как и в случае любых других методов лабораторной диагностики инфекций, при использовании МАНК существует риск получения как ложноотрицательных, так и ложноположительных результатов (ЛОП и ЛПП). Методические проблемы МАНК

рассмотрены в работах, освещающих общие организационные вопросы ПЦР-исследований [19], основные причины получения ЛПР и ЛОР [6], а также влияние отдельных этапов реакции (выделение НК, амплификация, детекция продуктов реакции) [2, 15, 30] на чувствительность, специфичность и воспроизводимость полученных данных. В процессе реакции амплификации происходит накопление огромного количества (миллиарды и триллионы) копий специфического фрагмента ДНК. Всего несколько десятков копий при попадании на этапе детекции в реагенты для ПЦР или пробоподготовки, а также во вновь исследуемые образцы могут инициировать новую реакцию амплификации и в отсутствие ДНК определяемого возбудителя привести к появлению ЛПР. Другой причиной ЛПР является попадание микроколичества клинического материала от одной пробы, содержащей возбудитель или его ДНК в высокой концентрации, к другой — отрицательной пробе. Проблема ЛОР в первую очередь связана с тем, что клинический материал — сложная, многокомпонентная среда, содержащая вещества, которые в той или иной степени влияют на активность фермента, обеспечивающего протекание реакции амплификации. Недостаточная очистка НК от этих веществ приводит к частичному или полному подавлению (ингибированию) реакции, и тогда даже в присутствии высоких концентраций ДНК возбудителя результат ПЦР-исследования может быть отрицательным. В ходе подробного рассмотрения методических и организационных вопросов обеспечения качества исследований с использованием ПЦР в лабораторной практике подчеркивается, что начальным и важнейшим условием получения правильных результатов ПЦР-исследований является организация лаборатории, обеспечивающая территориальное разделение основных этапов анализа [19]. Помимо минимизации риска ЛПР и ЛОР при использовании МАНК существует проблема преемственности результатов диагностики, выполненной в разных лабораториях, тест-системами на основе разных технологий или тест-системами на основе одной технологии, но разных производителей.

Первое международное сравнение результатов МАНК было проведено в начале 1990-х годов при выявлении ВГС. Центральная лаборатория службы переливания крови Красного Креста Нидерландов (Central Laboratory of Netherlands Red Cross Blood Transfusion Service — CLB) в Амстердаме и диагностическая лаборатория в Делфте (Delft Diagnostics Laboratory — DDL) совместно с Европейской экспертной группой по вирусным гепатитам организовали проверочное исследование выявления РНК ВГС — EURONER. В 31 лаборатории разных стран проведено качественное ПЦР-исследование контрольных образцов плазмы крови, 4 из которых были положительными — содержали РНК ВГС в разной концентрации и 6 — отрицательными. Анализ полученных данных позволил установить, что только 32% результатов были правильными, 29% составили ЛПР и 39% — ЛОР [37]. В ходе исследования, проведенного 3 годами позже, оказалось, что положение с выявлением РНК ВГС не улучшилось. При тестировании панели, содержащей 4 положительных и 6 отрицательных образцов РНК ВГС, 55% из 89 лабораторий представили ЛПР и/или ЛОР [8]. Таким образом, во 2-м исследовании, как и в 1-м, более половины лабораторий-участниц не смогли правильно определить концентрацию РНК ВГС в контрольных образцах. Полученные данные укрепили мнение лабораторных специалистов и клиницистов о необходимости участия лабораторий, использующих МАНК в программах ВКК [8].

Проведение первых международных программ наглядно продемонстрировало, что одной из проблем сопоставления данных, полученных с использованием МАНК в различных лабораториях, является представление содержания НК в разных единицах, таких как геномные эквиваленты — ГЭ/мл, копии/мл и др. Необходимость стандартизации исследований обусловила постановку вопроса о разработке международного стандарта (МС) РНК ВГС, который можно применять для калибровки национальных стандартов и рабочих стандартных образцов [24]. Первый МС для ВГС был разработан в 1997 г. при участии 22 лабораторий из разных стран, которым были разосланы 3 разных образца плазмы крови (2 лиофилизированных и 1 замороженный), содержащих ВГС генотипа 1 с примерной концентрацией  $10^5$  ГЭ/мл. Было предложено приготовить серию разведенных до предельных значений и исследовать их с помощью используемых в лабораториях различных коммерческих или "in-house" качественных и количественных тестов на основе МАНК. Результатом исследований стала независимая международная аттестация образцов с определением концентрации РНК ВГС, которую предложено было выражать в МЕ/мл. Один из этих образцов был принят в качестве первого МС РНК ВГС для

МАНК ВОЗ 96/790 (WHO International Standard for HCV RNA NAT assay 96/970). Образец представлял собой лиофилизированный препарат плазмы крови, содержащий РНК ВГС генотипа 1 в концентрации  $10^5$  МЕ/мл, что соответствовало примерно  $4 \cdot 10^5$  ГЭ/мл. Всего было приготовлено 2000 флаконов, содержащих МС ВОЗ, стабильный при 20°C, по крайней мере, в течение 200 дней [25—27].

Появление признанного МС позволило использовать его для калибровки имевшихся на тот момент и вновь создаваемых национальных референсных образцов и дальнейшей стандартизации исследований. В международной программе, организованной Национальным институтом биологических стандартов и контролей в Англии (National Institute for Biological Standards and Control — NIBSC), была проведена калибровка уже имевшихся на тот момент 5 рабочих образцов и референсных панелей, изготовленных в Германии (Paul Ehrlich Institute), Англии (NIBSC), Нидерландах (CLB), Италии (Istituto Superiore di Sanita — ISS), США (Division of Hematology FDA) [28]. Позднее в США калибровку панели образцов с РНК ВГС для стандартизации количественных исследований разными МАНК проводили относительно первого МС ВОЗ [13]. Как подчеркивали авторы, такая калибровка панели обеспечивает сравнение результатов, полученных в разных лабораториях, вне зависимости от используемого метода. В Канаде пробы, полученные путем разведения МС ВОЗ, использовали для оценки предела детекции (минимально определяемой концентрации) РНК ВГС с использованием коммерческих наборов на основе ПЦР (Cobas AmpliCor HCV test) и на основе амплификации посредством транскрипции (HCV RNA TMA qualitative test) [14]. В Италии при участии 22 лабораторий с использованием МС ВОЗ разработан и аттестован национальный стандарт РНК ВГС [10]. Впоследствии опыт создания первого МС ВОЗ РНК ВГС позволил разработать и создать МС для ВИЧ и ВГВ [11, 29].

После анализа результатов указанных исследований EURONER под эгидой международных организаций было организовано несколько программ ВКК выявления возбудителей различных заболеваний с использованием МАНК. Самой известной является программа лаборатории контроля качества (КК) в вирусологии (Viral Quality Control — VQC). Программа организована в 1991 г. как научно-исследовательский проект вирусологической диагностической лаборатории (Viral Diagnostics Laboratory) в составе CLB в Амстердаме для оценки работы лабораторий, определяющих наличие вирусов серологическими методами или МАНК. Именно под руководством лаборатории VQC проведены первые 2 исследования EURONER. В настоящее время VQC осуществляет ВКК качественных и количественных определений РНК ВГС, ДНК ВГВ, ДНК ВИЧ и других вирусных инфекций [36]. Также лабораторией VQC разработана референсная панель для ВКК выявления ДНК Chlamydia trachomatis. В программе лаборатории VQC принимают участие лаборатории Европы, Америки, Азии и Австралии.

Другой общеевропейской программой ВКК в 1997—2000 гг. была программа Европейского союза по согласованным действиям в области КК МАНК в вирусологической диагностике (European Union Quality Control Concerted Actions of Nucleic Acid Amplification in Diagnostic Virology — EU-QCCA), которую с 2001 г. сменила программа КК молекулярной диагностики (Quality Control for Molecular Diagnostics — QCMD). В рамках последней предлагается самый широкий спектр образцов возбудителей, включая вирусы, бактерии и простейшие [31, 33]. Ежегодное число участников программы — примерно 100 лабораторий из 20 стран. После проведения цикла КК публикуется бюллетень QCMD с анализом результатов исследований [34].

Наряду с международными программами ВКК во многих странах функционируют национальные программы. Программа ВКК микробиологических исследований Великобритании (United Kingdom National External Quality Assessment Scheme for Microbiology — UK NEQAS for Microbiology), как и VQC, предлагает референсные панели для КК молекулярных исследований — определения РНК ВГС, ДНК ВГВ, ДНК ВИЧ и др. В 2005 г. опубликованы результаты ВКК определения ДНК Chlamydia trachomatis МАНК в панели, рассылаемой в рамках указанной программы [7]. Помимо английских лабораторий в программе принимают участие и лаборатории других стран, т. е. фактически она является международной.

Комитетом изучения биотехнологий (Committee for the Study of Biotechnology — CoSbio) Итальянского общества клинической микробиологии (Italian Society of Clinical Microbiology, AMCLI) организована программа ВКК ПЦР-выявления РНК ВГС, в которой приняли участие 15 лабораторий основных

клиник Италии [16]. Программа состояла из 4 циклов, в общей сложности лаборатории получили 14 отрицательных и 22 положительных образца с разной концентрацией ВГС. Неверные данные были отмечены в 7 из 15 лабораторий, всего получено 4,54% ЛОР и 4,28% ЛПР. Последние были равномерно распределены в отрицательных пробах каждого цикла, ЛОР отмечены в пробах с наименьшей концентрацией РНК ВГС. По мнению авторов, анализ данных показал, что как ЛПР, так и ЛОР связаны с ошибками или проблемами лабораторий [16]. Во 2-й программе, организованной Итальянским обществом клинической микробиологии для улучшения выполнения методов диагностики определения РНК ВГС, участвовали 17 лабораторий основных клиник Италии, осуществляющих как качественное, так и количественное определение РНК ВГС [17]. Результаты первой национальной программы ВКК для количественных исследований, основанных на real-time ПЦР, позволили выявить значительную вариабельность результатов даже в лабораториях, работающих по одинаковым экспериментальным протоколам [22, 23].

В России программы ВКК молекулярных исследований осуществляются в рамках Федеральной системы внешней оценки качества клиник Италии, осуществляющих как качественное, так и количественное определение РНК ВГС [17]. Результаты первой национальной программы ВКК для количественных исследований, основанных на real-time ПЦР, позволили выявить значительную вариабельность результатов даже в лабораториях, работающих по одинаковым экспериментальным протоколам [22, 23].

В России программы ВКК молекулярных исследований осуществляются в рамках Федеральной системы внешней оценки качества клиник Италии, осуществляющих как качественное, так и количественное определение РНК ВГС [17]. Результаты первой национальной программы ВКК для количественных исследований, основанных на real-time ПЦР, позволили выявить значительную вариабельность результатов даже в лабораториях, работающих по одинаковым экспериментальным протоколам [22, 23].

В России программы ВКК молекулярных исследований осуществляются в рамках Федеральной системы внешней оценки качества клиник Италии, осуществляющих как качественное, так и количественное определение РНК ВГС [17]. Результаты первой национальной программы ВКК для количественных исследований, основанных на real-time ПЦР, позволили выявить значительную вариабельность результатов даже в лабораториях, работающих по одинаковым экспериментальным протоколам [22, 23].

Программы ВКК разработаны для оценки качества молекулярно-генетических методов, используемых не только для клинической диагностики инфекционных заболеваний, но и для постановки правильного диагноза наследственных заболеваний (болезнь Харрингтона, тромбофилия, мутации фактора Y (Лейдена), микроделеции Y-хромосомы). Поскольку наследственные заболевания, для диагностики которых используют молекулярные методы, достаточно редки, программы ВКК для них трудно проводить регулярно. Альтернативой общепринятым схемам является развитие программ, основанных на тестировании качества методической работы лабораторий, направленных на оценку аналитических аспектов, общих для большинства ПЦР-методик. Такая программа предложена впервые рабочей группой, созданной Обществами клинической химии и лабораторной медицины Германии (DGKC, DGLM) [19].

Рабочая группа разработала 2 программы ВКК молекулярных методов диагностики наследственных заболеваний [20]. Первая предназначена для оценки выявления мутаций, вторая является методологически ориентированной. В первой программе, проводимой впоследствии ежегодно, участвовали приблизительно 50 лабораторий из Германии, Австрии, Швейцарии. Участникам были разосланы лиофилизированные образцы ДНК для оценки качества выявления мутаций фактора Y (Лейдена).

Особенностью другой программы являлась оценка работы лабораторий на основании двух различных анализов. Одни и те же контрольные образцы исследовали в лабораториях-участниках и в центре, ответственном за проведение ВКК. В ходе повторного анализа материала пробы, присланного участниками, определяли эффективность методов, используемых лабораторией для выделения ДНК из периферической крови, эффективность амплификации для образования продуктов ПЦР и оценку размеров ампликонов лабораторией. В ходе выполнения такой программы проводится оценка качества преаналитического этапа и результатов анализа.

В Италии аналогичная программа разработана под руководством Общества клинической биохимии и молекулярной биологии (SIBioC). Программа включала специальные контроли для трех этапов ПЦР-исследования: 1) экстракция ДНК (каче-

ство и количество); 2) выполнение ПЦР (специфичность и чувствительность); 3) интерпретация результатов электрофореза. Проведено 2 цикла, в 1-м участвовали 16 лабораторий Италии, во 2-м — 35 [21]. Для общей оценки проведенных исследований организаторы суммировали оценки каждого этапа. В итоге 18% лабораторий имели неудовлетворительные результаты, 44% — хорошие. Следовательно, система ВКК молекулярных исследований, построенная по тому или иному принципу, позволяет оценить работу каждой лаборатории.

Недостаточное внимание к ВКК молекулярных исследований может приводить к ошибочной интерпретации данных. Дискутируемый в последние 15 лет в научной литературе вопрос о роли инфекционных агентов в развитии атеросклероза может служить примером необходимости ВКК при интерпретации данных, полученных МАНК. Основанием для заключения о значимости инфекционных агентов в развитии атеросклероза было обнаружение рядом исследователей более высокого содержания *Chlamydia pneumoniae* в образцах ткани сосудов, полученных тремя методами ПЦР, было выявлено несоответствие внутри- и межлабораторных результатов [18]. В указанном исследовании определены факторы, влияющие на обнаружение патогена в тканях сосудов, в том числе продемонстрировано отсутствие выявления *Chlamydia pneumoniae* в образцах ткани сосудов при увеличении специфичности реакции [9, 12], что соответственно поколебало уверенность в наличии связи между имеющейся *Chlamydia pneumoniae* и развитием сосудистых заболеваний.

Проведенный обзор литературы позволяет заключить, что как международные, так и национальные программы ВКК для оценки молекулярных методов диагностики, использующих МАНК для выявления НК инфекционных заболеваний вирусной и микробной природы, основаны на тех же принципах, что и программы ВКК для других видов исследований. Центр, осуществляющий программу, рассылает лабораториям-участникам закодированную панель проб, в которую входят положительные и отрицательные образцы. Важной проблемой является максимальное соответствие матрикса образцов панели тому, что составляет основу рутинно тестируемых МАНК клинических образцов при лабораторных исследованиях. Клинический материал (часто объединенный из нескольких источников) является лучшей основой для создания панели, позволяя наиболее точно воспроизвести ситуацию при лабораторном исследовании. При ВКК диагностики гематогенных инфекций (ВИЧ, ВГС, ВГВ, ЦМВ и др.) основой для разработки и создания панелей, как правило, служит плазма крови инфицированных доноров [34–36]. При создании контрольных панелей на *Chlamydia trachomatis* в рамках программы QCMD использовали пулы мочи, полученные из клиник Роттердама, в которых выявлялась ДНК *S. trachomatis* [33]. При невозможности использования клинического материала для создания панели используют разделение клеточных культур, содержащих возбудитель. Такое моделирование не всегда в полной мере отражает качество лабораторной диагностики при использовании реального клинического материала [34].

Вместе с пробами участники получают инструкции по применению контрольных образцов и формы, в которые заносит полученные результаты. В таких программах варьирует концентрация положительных образцов и число ежегодных циклов их рассылки. В некоторых программах объем контрольных образцов позволяет тестируемым лабораториям проводить параллельные исследования или, при возможности, определение НК инфекционных агентов несколькими методами. По результатам, полученным от лабораторий, оценивают чувствительность и специфичность, долю ЛОР и ЛПР.

Следует особо отметить, что внедрение ВКК молекулярных методов диагностики обусловлено не только стремлением к минимизации риска ЛПР и ЛОР при использовании МАНК и проблемой сопоставимости результатов анализов, полученных в разных лабораториях. Особая необходимость ВКК лабораторных исследований на основе МАНК продиктована следующими обстоятельствами:

1) высоким социальным значением инфекций (ВИЧ, ВГС, ВГВ, хламидиоз и др.), в диагностике которых МАНК играют ведущую роль;

2) отсутствием сопоставимых по чувствительности, а иногда и по специфичности хорошо изученных так называемых "традиционных" методов диагностики (микроскопия, микробиологический посев, методы определения антигенов и др.), позволяющих верифицировать или подтвердить результаты МАНК;

3) малосимптомным (по крайней мере, на ранних стадиях инфекции) течением инфекционных процессов, обусловленных

## УВАЖАЕМЫЕ АВТОРЫ!

При направлении статей в редакцию просим соблюдать правила их оформления.

1. Статья должна иметь визу научного руководителя и сопровождаться официальным направлением от учреждения, в котором выполнена работа. В официальном направлении должны быть перечислены фамилии всех авторов и указано название работы.

2. Статья должна быть подписана всеми авторами с указанием фамилии, имени и отчества автора, с которым редакция будет вести переписку, его адреса с шестизначным почтовым индексом и телефона.

3. Статья должна быть представлена в двух экземплярах. Объем оригинальных статей, включая таблицы, рисунки, литературу и резюме, не должен превышать 8—12 страниц, обзоров и лекций — 10—15 страниц, кратких сообщений из практики — 3—5 страниц.

4. Статья должна быть напечатана через 2 интервала на машинке или компьютере (с приложением дискеты), включая таблицы, литературу, подписи под рисунками, резюме, без лишних элементов (рамочек, линеек и т. д.). Обязательно просим соблюдать поля: 4 см слева, 3 см сверху (30 строк на странице, 60 букв в строке, высота буквы не менее 3 мм, на компьютере шрифт 14). Все страницы должны быть пронумерованы.

5. В выходных данных указываются: а) инициалы и фамилии авторов; б) название работы; в) название учреждения, в котором выполнена работа; г) город.

6. Статья должна быть тщательно выверена и построена по традиционному для журнала плану с выделением следующих рубрик: материал и методы, результаты и обсуждение, выводы или заключение. Изложение статьи должно быть ясным, без длинных исторических введений. В тех исследованиях, в которых без статистической обработки полученного материала трудно оценить достоверность заключений и выводов, статистическая обработка цифровых данных обязательна.

7. В математических и химических формулах должны быть четко размечены все элементы: строчные (м) и прописные (М) буквы (прописные обозначаются двумя черточками снизу, строчные — двумя черточками сверху); латинские (синим карандашом), греческие (красным) и русские (зеленым) буквы; подстрочные и надстрочные индексы; сходные по написанию цифры и буквы (0 — цифра, О — буква).

8. Цитаты визируются автором на полях, они должны иметь точную ссылку на источник (название, издание, год, том, выпуск, страница), который указывается в сноске.

9. Применяемые лекарственные вещества и методы их введения должны быть утверждены Фармакологическим комитетом МЗ и СР РФ и разрешены для клинического применения.

10. Иллюстрации представляются в двух экземплярах. На обороте каждого рисунка указываются его номер и фамилия первого автора статьи, обозначается верх и низ. Графики и схемы не должны

быть перегружены текстовыми надписями. Микрофотографии и фото могут быть черно-белыми или цветными (при оформлении их на магнитных носителях обязательно наличие распечатки). Подписи к рисункам даются на отдельном листе. В них приводятся: а) название рисунка; б) объяснение значения всех условных обозначений кривых, букв, цифр и др. В подписях к микрофотографиям указывают метод окраски (или импрегнации) материала и увеличение.

11. В тексте и на полях статьи должны быть обозначены места рисунков и таблиц (рис. 1, табл. I и т. д.).

12. Таблицы должны быть напечатаны на машинке или компьютере, иметь название, быть компактными, наглядными, заголовки граф должны точно соответствовать их содержанию. Все цифры в таблицах должны соответствовать цифрам в тексте и быть обработаны статистически.

13. Сокращения (кроме общепринятых) не допускаются. Условные обозначения специальных терминов при первом упоминании приводятся полностью.

14. К статье должен быть приложен список цитируемой литературы, напечатанной на отдельном листе. Она должна быть оформлена следующим образом.

А. Источники приводятся с указанием в алфавитном порядке фамилий авторов с инициалами, вначале отечественных, затем иностранных, названия книг, журналов, места издания, издательства, года издания, тома и номера выпуска, страниц "от" и "до". Работы отечественных авторов, опубликованные на иностранных языках, помещаются среди работ иностранных авторов в общем алфавитном порядке, а работы иностранных авторов, опубликованные на русском языке, — среди работ отечественных авторов в общем алфавитном порядке. Все источники должны быть пронумерованы, а их нумерация — строго соответствовать нумерации в тексте статьи.

Б. Если цитируется несколько работ одного автора (в том числе и в соавторстве), их располагают в хронологическом порядке.

В. При ссылках на авторефераты диссертаций следует указывать их название. Ссылаться на неопубликованные работы нельзя.

За точность библиографии несет ответственность автор.

15. К оригинальной статье должно быть приложено резюме (краткое содержание статьи) объемом 1/2 страницы машинописи, с указанием фамилий всех авторов статьи и ее названия.

16. Представление в редакцию статей, опубликованных в других изданиях или направленных для публикаций в другие редакции, не допускается.

17. При несоблюдении перечисленных правил статьи возвращаются авторам без рассмотрения.

18. Рукописи, не принятые к печати, авторам не возвращаются.

## Журналы, выпускаемые издательством «Медицина»

Название журнала	Периодичность (в год)	Индекс по каталогу «Роспечать»	
		для индивидуаль- ных подписчиков	для орга- низаций
Акушерство и гинекология	6 номеров	71400	71401
Анестезиология и реаниматология	6 номеров	71402	71403
Анналы хирургии	6 номеров	72155	72156
Архив патологии	6 номеров	71406	71407
Вестник офтальмологии	6 номеров	71414	71415
Вестник РАМН	12 номеров	71488	72154
Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова	4 номера	73064	72153
Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии	4 номера	47283	47284
Вопросы вирусологии	6 номеров	71416	71417
Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры	6 номеров	71418	71419
Гематология и трансфузиология	6 номеров	71426	72757
Гигиена и санитария	6 номеров	71429	71429
Грудная и сердечно-сосудистая хирургия	6 номеров	71432	72756
Детская хирургия	6 номеров	72096	72119
Журнал Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко	4 номера	71434	71435
Здравоохранение Российской Федерации	6 номеров	73163	73164
Иммунология	6 номеров	71492	71493
Клиническая лабораторная диагностика	12 номеров	71442	71443
Клиническая медицина	12 номеров	71444	71445
Медико-социальная экспертиза и реабилитация	4 номера	47281	47282
Медицинская помощь	6 номеров	73248	73249
Медицинская техника	6 номеров	70563	72940
Молекулярная генетика, микробиология и вирусология	4 номера	71452	72152
Молекулярная медицина	4 номера	82141	82142
Неврологический журнал	6 номеров	72157	72158
Патологическая физиология и экспериментальная терапия	4 номера	71456	72151
Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины	6 номеров	73302	72412
Проблемы туберкулеза и болезней легких	12 номеров	71460	71461
Проблемы эндокринологии	6 номеров	71462	71463
Российский журнал кожных и венерических болезней	6 номеров	48231	48232
Российский медицинский журнал	6 номеров	72758	72759
Российский онкологический журнал	6 номеров	72159	72160
Российский педиатрический журнал	6 номеров	48229	48230
Российский стоматологический журнал	6 номеров	72301	72302
Социология медицины	2 номера	81769	81770
Судебно-медицинская экспертиза	6 номеров	71470	71471
Терапевтический архив	12 номеров	71472	71473
Урология	6 номеров	71474	71475
Физиотерапия, бальнеология и реабилитация	6 номеров	81267	81268
Эпидемиология и инфекционные болезни	6 номеров	72161	72162

Телефон для справок: 248-72-04.