Epidemiologie 1/05 25.1.2005 9:57 Stránka 34
proLékaře.cz | 13.2.2026

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol. 54, 2005, č. 1, s. 34–38

Vyšetření genotypu HCV pomocí kombinace testu Cobas Amplicor HCV 2.0 a reverzní hybridizace Versant HCV Genotype Assay

Nemcová J., Němeček V.

NRL pro virové hepatitidy, SZÚ Praha

Souhrn

Genotypizace viru hepatitidy C /HCV)má význam zejména pro stanovení schématu léčby pacientů s chronickou VHC a pro prognózu úspěšnosti léčby. U souboru 62 sér pozitivních na HCV RNA v testu Cobas Amplicor HCV 2.0 (CA) byl zjišťován genotyp HCV metodou reverzní hybridizace (Versant HCV Genotype Assay (LiPA) Bayer), modifikovanou tím způsobem, že jako výchozí amplifikovaný materiál pro reakci byl použit přímo produkt CA. Z 57 vzorků (92 %) reaktivních v reverzní hybridizaci byl u 56 určen genotyp. U jednoho vzorku neodpovídal profil žádnému určitému genotypu, pět vzorků bylo nereaktivních a jeden nebyl v tomto uspořádání testován. U dvou z těchto 5 nereaktivních a u jednoho netestovaného séra byl určen genotyp reverzní hybridizací vycházející z nested PCR. Lze shrnout, že produkt získaný po jednostupňové amplifikaci HCV RNA v testu CA je pro většinu vzorků vhodným výchozím materiálem pro genotypizaci reverzní hybridizací. Pro laboratoře používající k detekci HCV RNA v séru Cobas Amplicor HCV 2.0 by tento postup vedl ke zjednodušení genotypizace a k časové a materiálové úspoře. U sér s nižší koncentrací viru, která nejsou typizovatelná touto kombinací metod, lze vycházet z nested PCR.
Čtyřicet osm vybraných vzorků bylo typizováno vedle reverzní hybridizace také sérologicky soupravou Murex HCV Serotyping 1–6 Assay (Abbot Murex). Typ byl určen u 37 ze 48 testovaných sér (77 %) včetně všech tří sér negativních v reverzní hybridizaci. Přestože je sérologická typizace méně citlivá, může být významná při typizaci některých sér s nízkou hladinou HCV RNA a sér neobsahujících již detekovatelnou virovou NK, která nejsou typizovatelná reverzní hybridizací.
U 33 sér, jež byla genotypovatelná oběma metodami, byly tyto metody ve vzájemné shodě. Pouze ve dvou případech zjistila sérologická metoda přítomnost jednoho typu viru navíc (smíšený genotyp) oproti reverzní hybridizaci.

Klíčová slova: genotypizace HCV – reverzní hybridizace – sérotypizace.

Summary

Nemcová J., Němeček V.: HCV Genotyping by Combination of Cobas Amplicor HCV 2.0 Test and Versant HCV Genotype Assay

Genotyping of hepatitis C virus (HCV) is of relevance to scheduling the treatment of patients with chronic hepatitis C (VHC), making their prognosis and monitoring the treatment efficacy. A set of 62 sera testing HCV RNA positive in Cobas Amplicor HCV 2.0 test (CA) were genotyped using Versant HCV Genotype Assay (LiPA) Bayer, i.e. the reverse hybridization method, with the CA amplified product being directly used in the assay. Fifty-six out of 57 samples reactive in reverse hybridization (92 %) were genotyped. One sample showed a profile differing from any genotype, five samples were not reactive and one sample was not tested within this study design. Two out of five non-reactive sera and one non-tested serum could be genotyped by nested PCR based reverse hybridization. It can be concluded that the CA product resulting from one-step HCV RNA amplification is suitable for use in genotyping by reverse hybridization. The CA product based genotyping procedure is easier to perform, less time-consuming and less costly. The nested PCR based procedure could be used for typing of sera with lower HCV concentrations nontypeable with the combination of CA and Versant HCV Genotype Assay. Forty-eight selected samples were typed not only by reverse hybridization but also by a serological kit Murex HCV Serotyping 1–6 Assay (Abbot Murex). Thirty-seven (77 %) of these sera, including all of three sera negative in reverse hybridization, appeared typeable by this kit. Although less sensitive, serotyping may be of relevance to typing of sera with low HCV levels or not containing detectable viral NA which are nontypeable by reverse hybridization. Thirty-three sera appeared genotypeable by both of the methods tested with the results being in good agreement. In two cases only the serotyping method revealed one more type of virus (mixed genotype) compared to the reverse hybridization.

Key words: HCV genotyping – reverse hybridization – serotyping.

proLékaře.cz | 13.2.2026

Virus hepatitity C (HCV) se vyznačuje velkou variabilitou mezi jednotlivými izoláty. Na základě molekulární analýzy různých částí genomu byly varianty klasifikovány do 6 hlavních typů (1–6) a řady subtypů (11), které se vzájemně liší svým geografickým i časovým výskytem. Genotyp viru ovlivňuje odpověď pacienta na léčbu interferonem nebo interferonem v kombinaci s ribavirinem. Léčba pacientů infikovaných typem 2 a 3 má lepší prognózu než u infekce typem 1 (9). Proto je určení genotypu významné pro stanovení schématu léčby. Metody určení genotypu většinou vycházejí z reverzní transkripce a amplifikace virové RNA pomocí PCR. Patří k nim amplifikace s použitím typově specifických primerů (8) nebo metody analyzující produkt PCR: sekvenace (12), RFLP (2, 7) a reverzní hybridizace s typově specifickými sondami (14). Metoda reverzní hybridizace, vypracovaná do podoby diagnostického testu Versant HCV Genotype Assay (LiPA; Bayer) využívá variability v 5' nekódující oblasti (NCR) virového genomu. Díky konzervativnosti této oblasti patří sice k nejcitlivějším (v typově nespecifickém amplifikačním kroku zachytí většinu izolátů), ale neumožňuje vždy rozlišení některých subtypů (1a versus 1b, 2a versus 2c) (14).

Nepřímo lze genotyp stanovit také sérotypizačním testem, založeným na reakci protilátek vyšetřovaného séra proti syntetickým peptidům odvozeným z oblasti genomu NS4 kódující nestrukturální proteiny viru (HCV Serotyping 1–6 Assay, Abbot Murex). Sérotypizace je jednodušší, ale méně citlivá a specifická (výše uvedený test neumožňuje určení subtypů) než metody založené na PCR (1, 13).

V řadě laboratoří, včetně NRL pro virové hepatitidy se v současné době k průkazu HCV RNA v séru využívá test Cobas Amplicor HCV 2.0 (CA) (Roche) založený na jednostupňové amplifikaci úseku 5' NCR virového genomu. Cílem této práce bylo zjistit, zda je amplifikovaný produkt CA vhodný k přímému stanovení genotypu viru hepatitidy C metodou reverzní hybridizace, která standardně vychází z nested PCR. Tato kombinace metod by vedla k časové a materiální úspoře. Dalším cílem bylo porovnat výsledky určení genotypu modifikovanou reverzní hybridizací a metodou sérotypizace soupravou HCV Serotyping 1–6 Assay.

Materiál a metody

Séra

Bylo použito 63 pacientských sér zaslaných do NRL pro virové hepatitidy na vyšetření HCV RNA, která byla v CA pozitivní na HCV RNA. S výjimkou skupiny 10 sér byla séra bez známé epidemiologické vazby.

Metody

Izolace virové RNA. HCV RNA byla izolována z 200 µl séra pomocí kitu QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen) podle návodu výrobce.

Reverzní transkripce a PCR. K reverzní transkripci, amplifikaci a detekci HCV RNA byl u všech sér použit automatizovaný systém Cobas Amplicor HCV 2.0 (Roche). CA je kvalitativní test, v němž je výsledné množství PCR produktu vyjádřeno jako jeho absorbance při 660 nm (hodnoty 0–4). Hranice pozitivity je při absorbanci 0,1–0,2, což odpovídá přibližně 100 kopiím virové RNA v 1 ml séra (3).

Vzorky, jejichž absorbance v CA byla nižší než 3, byly amplifikovány také v nested RT-PCR s použitím kitu Titan One Tube RT-PCR System (Roche). Před prvním během PCR bylo 50 µl reakční směsi (10 µl HCV RNA, 10 µl biotinylovaných vnějších primerů ze soupravy LiPA, 1 µl směsi polymeráz, 200 µM dNTP, 10 U inhibitoru RNáz, 5 mM DTT) inkubováno 30 min při 42 °C (reverzní transkripce). Poté byla směs denaturována 1 min při 94 °C a amplifikována (40 cyklů: 94 °C 15 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s). V druhém běhu PCR byl 1 µl produktu prvního běhu amplifikován spolu s 10 µl biotynilovaných vnitřních primerů ze soupravy LiPA ve směsi o jinak stejném složení jako pro první PCR a při stejném programu. Produkty obou běhů PCR byly detekovány elektroforeticky (v 2% PCR agaróze (Top-Bio); 100 V).

Genotypizace. Genotyp byl stanoven metodou reverzní hybridizace soupravou Versant HCV Genotype Assay (LiPA) (Bayer) podle návodu výrobce s tím rozdílem, že jako výchozí materiál pro hybridizaci byl kromě produktu nested PCR používán také produkt CA.

Sérologická genotypizace. Genotyp byl nepřímo (na základě typově specifických protilátek v séru) stanoven soupravou Murex HCV Serotyping 1–6 Assay (Abbot Murex) podle návodu výrobce. Séra vyhovující pouze jednomu z interpretačních kritérií pro určitý typ byla hodnocena jako typově nespecifikovatelná.

Stanovení protilátek anti-HCV. Protilátky proti HCV byly stanoveny soupravou CHIRON RIBA HCV 3.0 SIA, Chiron, která pracuje na principu imunoblotu. Výsledek byl hodnocen jako pozitivní, pokud protilátky ve vyšetřovaném séru reagovaly aspoň se 2 antigeny, jako neurčitelný při reakci pouze s jedním antigenem a jako negativní, pokud nereagovaly ani s jedním antigenem.

Výsledky

Genotypizace pomocí kombinace CA a reverzní hybridizace

U 63 sér pozitivních na HCV RNA v CA jsme určovali genotyp metodou reverzní hybridizace (viz tabulka 1). Všechny vzorky, jejichž absorbance v CA byla vyšší než 3 (n=55; 87%), byly v genotypizaci reaktivní. Pouze u jednoho z těchto 55 vzorků neodpovídal profil žádnému určitému genotypu. Z osmi vzorků s absorbancí v CA nižší než 3 byly dva v reverzní hybridizaci reaktivní, pět negativních a jeden nebyl testován. Těchto osm sér bylo genotypizováno také po amplifikaci v nested PCR (NP) s použitím primerů z 5'NCR dodávaných k soupravě LiPA. U pěti z nich byly produkty NP detekovatelné elektroforeticky a reaktivní v genotypizaci. Tři vzorky se v NP

proLékaře.cz | 13.2.2026

Tab. 1. Stanovení genotypu reverzní hybridizací v závislosti na absorbanci amplifikovaného produktu v CA
Table 1. Genotyping by reverse hybridization and absorbance of the CA amplified product

Absorbance v CA	Výsledek genotypizace				
	genotypovatelný	nereaktivní*	neinterpretovatelný**	netestováno	celkem
a>4	44	0	1	0	45
3<a<4	10	0	0	0	10
1<a<3	2	3	0	1	6
a<1	0	2	0	0	2

*neposkytující pozitivní signál
**poskytující profil, který nelze přiřadit k určitému genotypu
*yielding no positive signal
**yielding a profile differing from any known genotype

Tab. 2. Stanovení genotypu reverzní hybridizací ve srovnání se sérotypizací u 48 pacientských sér
Table 2. Genotyping by reverse hybridization and serotyping of 48 patient sera

GENOTYP							
	Reverzní hybridizací						
Sérotypizací	1	1a	1b	3a	neinterpretovatelný**	nereaktivní*	Celkem
1	3	1	24			3	31
3				3			3
4					1		1
1+2			2				2
nespecifikovatelný#	1		1				2
nereaktivní*			7	2			9

*neposkytující pozitivní signál
**poskytující profil, který nelze přiřadit k určitému genotypu
*yielding no positive signal
**yielding a profile differing from any known genotype
#non-type specific

nepodařilo amplifikovat (dva z nich měly v CA absorbanci nižší než 1, což svědčí o nízké koncentraci virové RNA, a všechny tři byly negativní v genotypizaci po CA).

Z 59 sér, u nichž byl pomocí reverzní hybridizace určen genotyp, byl ve 45 případech zjištěn subtyp 1b, v 8 případech 3a, v 5 případech byl stanoven typ 1 (bez rozlišení subtypu) a v jednom případě 1a. Toto rozložení genotypů nemusí ovšem vzhledem k výběru sér v naší studii odpovídat jejich zastoupení v populaci.

Porovnání výsledků genotypizace reverzní hybridizací a sérologickou metodou

Celkem 48 z 63 sér bylo typizováno vedle reverzní hybridizace také sérologicky. Výsledky shrnuje tabulka 2. Sérotypizací byl určen typ u 37 sér (77 %), z toho 31 sér mělo genotyp 1, tři genotyp 3, jedno genotyp 4 a dvě smíšený genotyp 1+2. Ze 31 sér se stanoveným genotypem 1 byla ve 28 případech shoda s reverzní hybridizací, ve 3 případech byly vzorky v reverzní hybridizaci nereaktivní. Všechny tři vzorky genotypu 3 byly shodně určeny i reverzní hybridizací. Vzorek se sérologicky určeným typem 4 měl v reverzní hybridizaci opakovaně neinterpretovatelný genotyp (reaktivní, ale neodpovídající žádnému určitému typu). U dvou vzorků se smíšeným typem 1+2 byl v reverzní hybridizaci zjištěn pouze subtyp 1b. Celkem devět sér (18 %) bylo v sérotypizační reakci negativních, u dvou sér (4 %) byly zjištěny typově nespecifikovatelné protilátky.

U tří sér (6 %), která byla negativní v reverzní hybridizaci (nízká hladina HCV RNA) se podařilo stanovit genotyp pouze sérologicky.

U celkem 11 sér pozitivních v reverzní hybridizaci ale s negativním (n=9) nebo neinterpretovatelným (n=2) výsledkem sérotypizačního testu byla přítomnost protilátek ověřována imunoblotem na stanovení anti-HCV (RIBA HCV 3.0 SIA). Osm vzorků bylo konfirmováno jako anti-HCV pozitivní, dva jako neurčitelné a pouze jeden jako negativní.

Diskuse

Genotypizace pomocí kombinace CA a reverzní hybridizace

U 62 sér pozitivních na HCV RNA jsme určovali genotyp kombinací amplifikace virové RNA v CA a reverzní hybridizace soupravou Versant

proLékaře.cz | 13.2.2026

HCV Genotype Assay. Celkem 57 z těchto sér (92 %) bylo v reverzní hybridizaci reaktivních a pouze u jednoho z nich neodpovídal profil žádnému určitému genotypu. Podobnou modifikaci reverzní hybridizace provedli Gargiulo et al., když k amplifikaci HCV RNA pro reverzní hybridizaci použili produkt kvantitativního jednostupňového testu na stanovení HCV RNA Cobas Amplicor HCV Monitor 2.0 (Roche) (CAM), amplifikujícího stejnou oblast genomu jako CA (4). Pro stanovení přítomnosti virové RNA v séru se ovšem častěji využívá CA, který je citlivější – zachytí 10^2 kopií virové RNA/ml (3) oproti 10^3–10^4 kopií virové RNA/ml u CAM – a levnější než CAM. Všechny vzorky pozitivní v CAM byly v genotypizaci reaktivní (4). V našem uspořádání bylo v genotypizaci negativních 5 sér z 62 (8 %) s absorbancí v CA nižší než 3. Přestože se v testu CA nedá stanovit přímá závislost mezi absorbancí produktu a koncentrací virové RNA v séru (jde o kvalitativní test), bylo zjištěno, že séra s absorbancí nižší než 3 obsahují přibližně 10^2–10^3 kopií viru/ml (3). Skutečnost, že CAM má nižší citlivost než CA a většinu sér s absorbancí v CA nižší než 3 tudíž nezachytí, může vysvětlovat rozdíl v procentu vzorků genotypovatelných oběma modifikovanými testy. U sér s nízkou koncentrací HCV RNA v séru nemusí být množství produktu po jednostupňové amplifikaci pro reverzní hybridizaci dostatečné. U dvou z pěti negativních a u jednoho netestovaného séra jsme genotyp stanovili po použití nested PCR, která zajišťuje vyšší míru amplifikace než CA.

Porovnání výsledků genotypizace reverzní hybridizací a sérologickou metodou

Pomocí sérologického testu HCV Serotyping 1–6 Assay jsme určili genotyp u 37 ze 48 vyšetřovaných sér (77 %), což je ve shodě s prací Gishe et al., kteří sérologicky typizovali 144 ze 187 PCR pozitivních sér (77 %) (5). U pacientů s chronickou hepatitidou C byl určen genotyp sérologicky dokonce u 183 z 210 (87 %) sér obsahujících virovou RNA (1).

U 31 z 33 sér, u nichž jsme genotyp určili reverzní hybridizací i sérotypizací, byly výsledky ve vzájemném souladu. U zbývajících dvou sér byl pomocí sérotypizace zjištěn smíšený genotyp (1+2), zatímco reverzní hybridizací byl zjištěn pouze genotyp 1b; to znamená, že shoda nastala u jednoho ze dvou typů určených sérologicky. Je zajímavé, že oba pacienti se smíšeným genotypem viru byli ve vzájemné epidemiologické souvislosti. Ve studii Prescotta (10) byly případy, kdy byl sérotypizací zjištěn smíšený a reverzní hybridizací jediný genotyp, rozhodnuty pomocí klonování a sekvenace ve prospěch výsledku reverzní hybridizace. Sérologická detekce smíšené infekce může také odrážet protilátkovou odpověď na virus, který už není prokazatelný reverzní hybridizací, nebo tvorbu quasispecies s variacemi v polymorfních místech NS4 (6). Jeden vzorek se sérologicky stanoveným genotypem 4 neodpovídal v reverzní hybridizaci žádnému určitému genotypu. Opakovaně reagoval kromě amplifikační kontroly pouze se subtypizačními sondami pro subtypy 1a a 1b, nikoli se sondami pro typ 1. Podle návodu výrobce testu reaguje s těmito subtypovými sondami zkříženě většina genotypů, takže výsledek reverzní hybridizace není v přímém rozporu s výsledkem sérotypizace. Ani fakt, že genotyp 4 se v České republice vyskytuje velmi vzácně a je rozšířen převážně na Středním východě, nezpochybňuje výsledek sérotypizace, protože se jednalo o sérum cizince. Jednoznačně by genotyp mohl být v tomto případě určen pouze po srovnání výsledků s některou další genotypizační metodou, nejlépe sekvenací, která je považována za referenční metodu (12).

U devíti sér, která byla v sérotypizační reakci negativní, jsme konfirmovali přítomnost protilátek anti-HCV testem RIBA založeným na principu imunoblotu. Šest z těchto devíti sér bylo pozitivních na anti-HCV, u dvou byl výsledek neurčitelný a pouze jedno bylo negativní. U séra, v němž nebyly protilátky anti-HCV potvrzeny pomocí imunoblotu, byla přítomnost protilátek stanovena pomocí dvou nezávislých imunoenzymatických souprav (MONOLISA anti-HCV PLUS version 2 BIO-RAD a ORTHO HCV 3.0 ELISA Test Systém Enhanced SAVe, ORTHO).

Závěr

Stanovení genotypu viru hepatitidy C má význam hlavně pro prognózu onemocnění a stanovení schématu léčby. Lze shrnout, že produkt získaný po jednostupňové amplifikaci HCV RNA testem CA je pro většinu vzorků vhodným výchozím materiálem pro genotypizaci reverzní hybridizací. Pro laboratoře používající k detekci HCV RNA v séru Cobas Amplicor HCV 2.0 by tento postup vedl ke zjednodušení genotypizace a k časové a materiálové úspoře. U sér s nižší koncentrací viru, která nejsou typovatelná touto kombinací metod, lze vycházet z nested PCR.

Přestože sérologická typizace je méně citlivá (otypovali jsme pouze 77 % testovaných sér pozitivních na HCV RNA), může být významná při typizaci některých sér s nízkou hladinou HCV RNA a sér neobsahujících již detekovatelnou virovou NK, která nejsou typizovatelná reverzní hybridizací.

proLékaře.cz | 13.2.2026

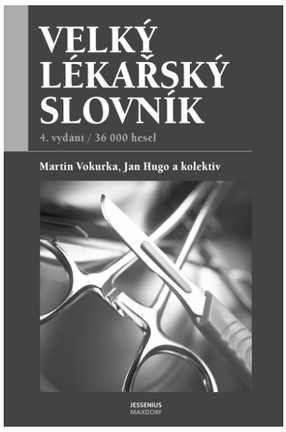
Seznam použitých zkratek:
VHC – virová hepatitida C
HCV – virus hepatitidy C
RNA – ribonukleová kyselina
PCR – polymerázová řetězová reakce
RFLP – restriction fragment lengths polymorfism
NCR – nekódující oblast genomu
CA – Cobas amplicor HCV 2.0
RT – reverzní transkripce
DTT – dithiotreitol
NK – nukleová kyselina
NP – nested PCR
CAM – Cobas Amplicor HCV Monitor 2.0

Literatura

1. **Bhattacherjee, V., Prescott, L. E., Pike, I., Rodgers, B. et al.** Use of NS-4 peptides to identify type-specific antibody to hepatitis C virus genotypes 1, 2, 3, 4, 5 and 6. J. Gen. Virol., 1995; 76, 7, s. 1737–1748.
2. **Davidson, F., Simmonds, P., Ferguson, J. C., Jarvis, L. M. et al.** Survey of major genotypes and subtypes of hepatitis C virus using RFLP of sequences amplified from the 5' non-coding region. J. Gen. Virol., 1995, 76, 5, s. 1197–1204.
3. **Doglio, A., Laffont, C., Caroli-Bosc, F. X., Rochet, P., Lefebvre, J.** Second generation of the automated Cobas Amplicor HCV assay improves sensitivity of hepatitis C virus RNA detection and yields results that are more clinically relevant. J. Clin. Microbiol., 1999, 37, 5, s. 1567–1569.
4. **Gargiulo, F., de Francesco, M. A., Pinsi, G., Pollara, C. et al.** Determination of HCV Genotype by direct sequence analysis of quantitative PCR products. J. Med. Virol. 2003, 69, s. 202–206.
5. **Gish, R. G., Qian, K., Brooks, L., Leung, J. et al.** Characterization of anti-hepatitis C virus-positive sera not genotyped by restriction fragment length polymorphism or sérology. J. Gastroenterol. Hepatol., 1999, 14, 4, s. 339–344.
6. **Khan, R. U., Tong, C. Y., Bloom, S., Gilmore, I. T. et al.** Evaluation of two simplified methods for genotyping hepatitis C virus. J. Med. Virol., 1997, 52, 1, s. 35–41.
7. **Mcomish, F., Chan, S. W., Dow, B. C., Gillon, J. et al.** Detection of three types of hepatitis C virus in blood donors: investigation of type-specific differences in sérologic reactivity and rate of alanineaminotransferase abnormalities. Transfusion, 1993, 33, 1, s. 7–13.
8. **Okamoto, H., Sugiyama, Y., Okada, S., Kurai, K. et al.** Typing hepatitis C virus by polymerase chain reaction with type-specific primers: application to clinical surveys and tracing infectious sources. J. Gen. Virol., 1992, 73, 3, s. 673–679.
9. **Pawlotsky, J. M.** Hepatitis C virus resistance to antiviral therapy. Hepatology 2000, 32, s. 889–896.
10. **Prescott, L. E., Berger, A., Pawlotsky, J. M., Conjeevaram, P. et al.** Sequence analysis of hepatitis C virus variants producing discrepant results with two different genotyping assays. J. Med.Virol., 1997, 53, 3, s. 237–244.
11. **Simmonds, P., Alberti, A., Alter, H. J., Bonino, F. et al.** A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes. Hepatology, 1994, 19, 5, s. 1321–1324.
12. **Simmonds, P., Holmes, E. C., Cha, T. A., Chan, S. W. et al.** Classifications of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. J. Gen. Virol., 1993; 74, 11, s. 2391–2399.
13. **Simmonds, P., Rose, K. A., Graham, S., Chan, S. W. et al.** Mapping of serotype-specific, immunodominant epitopes in the NS-4 region of hepatitis C virus (HCV): use of type-specific peptides to sérologically differentiate infections with HCV types 1, 2, and 3. J. Clin. Microb., 1993, 31, 6, s. 1493–1503.
14. **Stuyver, L., Wyseura, A., Van Arnhem, W., Hernandez, F., Maertens, G.** Second generation line probe assay for Hepatitis C virus genotyping. J. Clin. Microb., 1996, 34, s. 2259–2266.

Do redakce došlo 8. 10. 2004

Dr. J. Nemcová
SZÚ – NRL pro virové hepatitidy
Šrobárova 48
100 42 Praha 10



VELKÝ LÉKAŘSKÝ SLOVNÍK
4. vydání

Martin Vokurka, Jan Hugo a kol.

Čtvrté, rozšířené vydání výkladového slovníku lékařských termínů pro odbornou veřejnost a čtenáře s hlubším zájmem o medicínu. Více než 36.000 hesel zachycuje celou anatomickou terminologii, biochemii a molekulární biologii, patologii, farmakologii, několik tisíc vnitřních, neurologických a vrozených nemocí, obsáhle je zatoupena psychiatrie, chirurgické obory, gynekologie, sexuologie, ORL, oční lékařství, stomatologie a řada dalších oborů. Slovník klade důraz na souvislosti uvnitř medicíny, i mimo ni.

Vydal Maxdorf v roce 2004, váz., B5, 966 str., 1495,- Kč,

Objednávku můžete poslat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz