

## Hemolytický antagonismus mezi $\beta$ -hemolyzinem *Staphylococcus aureus* a exosubstancí některých kmenů *Enterococcus faecalis*

Vítková A.<sup>1</sup>, Votava M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mikrobiologické oddělení, Nemocnice Břeclav, příspěvková organizace

<sup>2</sup>Mikrobiologický ústav LF MU a FN u sv. Anny v Brně

### Souhrn

**Cíl:** Náhodně se zjistilo, že některé kmeny *Enterococcus faecalis* inhibují hemolýzu *Staphylococcus aureus* s produkcí  $\beta$ -hemolyzinu. Cílem práce bylo najít optimální podmínky pro vznik tohoto jevu a pokusit se charakterizovat látku, která za něj odpovídá.

**Materiál a metodika:** Celkem 91 kmenů z klinických vzorků a 5 sbírkových kmenů *E. faecalis* a 9 kmenů *E. faecium* z klinických vzorků bylo testováno na krevním agaru s 5 % ovčích erytrocytů vyrobeném z těchto základů: Columbia Agar Base (BBL, 211124), Columbia Agar (Bio Mérieux, 51026), Blood Agar Base (Bio-Rad, 64524), Blood Agar Base (Columbia) (Ferosa, 1-034), Columbia Blood Agar Base (HiMedia, M114), Základ pro krevný agar č. 4 (Imuna), Columbia Agar Base (Merck, 10455) a Columbia Agar Base (Oxoid, CM331). Exosubstance produkovaná kmeny *E. faecalis* byla izolována acetonovou precipitací a podrobena účinku zvýšené teploty a trypsinu.

**Výsledky:** Ze souboru 91 kmenů *E. faecalis* z klinických vzorků jich 33 (36 %) produkovalo látku, která inhibovala hemolýzu vyvolanou  $\beta$ -hemolyzinem *S. aureus*. Stejný nález vykazovaly též 2 z 5 sbírkových kmenů *E. faecalis* a žádný kmen *E. faecium*. K inhibici hemolýzy docházelo na všech testovaných půdách. Popsaný jev byl nejvýraznější na krevních agarrech připravených ze Základu pro krevný agar č. 4 (Imuna) a Columbia Agar Base (BBL) při pH půd 7,0–7,5 a za kultivace při 37 °C po dobu 24 hod. Stejný účinek měla substance izolovaná z pozitivních kmenů. Tento účinek zrušilo vystavení látky teplotě 70 °C po dobu 15 min, stejně jako působení 0,1% trypsinu po dobu 30 min. Schopnost kmene inhibovat stafylokokovou hemolýzu korelovala s jeho schopností produkovat proteázu.

**Závěr:** Asi třetina kmenů *E. faecalis* pocházejících z klinických vzorků produkuje substanci pravděpodobně proteinové povahy a charakteru proteázy, která částečně potlačuje hemolýzu způsobenou  $\beta$ -hemolyzinem *S. aureus*.

**Klíčová slova:** *Enterococcus faecalis* – *Staphylococcus aureus* – inhibice hemolýzy – proteáza.

### Summary

**Vítková A., Votava M.: Inhibition of Hemolytic Activity of *Staphylococcus aureus*  $\beta$ -hemolysin by an Exosubstance Produced by some *Enterococcus faecalis* Strains**

**Objective:** Accidentally, some *Enterococcus faecalis* strains were found to inhibit the hemolysis caused by *Staphylococcus aureus* beta-hemolysin. The study objectives were to define the conditions under which this phenomenon appears and to characterize the inhibitory agent.

**Materials and Methods:** Ninety-one wild strains and five type strains of *E. faecalis* and nine wild *E. faecium* strains were tested for antihemolytic activity on blood agar with 5 % sheep erythrocytes prepared using the following agar bases: Columbia Agar Base (BBL, 211124), Columbia Agar (Bio Mérieux, 51026), Blood Agar Base (Bio-Rad, 64524), Blood Agar Base (Columbia) (Ferosa, 1-034), Columbia Blood Agar Base (HiMedia, M114), Blood Agar Base No. 4 (Imuna), Columbia Agar Base (Merck, 10455) and Columbia Agar Base (Oxoid, CM331). The exosubstance produced by *E. faecalis* strains was isolated by means of acetone precipitation and was exposed to elevated temperature and trypsin.

**Results:** Thirty-three (36 %) out of 91 wild strains of *E. faecalis* produced the substance inhibiting hemolysis caused by *Staphylococcus aureus* beta-hemolysin. Two out of five *E. faecalis* type strains and none of *E. faecium* strains appeared to be producers of the same substance. Inhibition of the hemolysis was observed on all of the media tested, being the most pronounced with the use of Blood Agar Base No. 4 (Imuna) and Columbia Agar Base (BBL) at pH 7.0–7.5 when cultured at 37 °C for 24 hours. The exosubstance lost its inhibitory effect after exposure to 70 °C for 15 min and to 0.1% trypsin for 30 min. The inhibitory potential against staphylococcal hemolysis correlated with the ability of strains to produce protease.

**Conclusion: About one third of wild *E. faecalis* strains produce a protease-like substance that seems proteinaceous in nature and has an inhibitory effect on the hemolysis caused by *Staphylococcus aureus* beta-hemolysin.**

**Key words: *Enterococcus faecalis* – *Staphylococcus aureus* – inhibition of hemolysis – protease.**

Hemolytické účinky mikrobů jsou prakticky velmi důležité, neboť napomáhají v laboratorní diagnostice při orientačním určování vyrostlých kolonií. Zajímavá jsou i vzájemná působení mezi mikroby, ať ve smyslu hemolytického synergismu či antagonismu (15). Snad nejznámější ukázkou hemolytického synergismu je interakce stafylokokového  $\beta$ -hemolyzinu s exosubstancí *Streptococcus agalactiae*, dobře známá pod pojmem CAMP-test (5). Opačným jevem je hemolytický antagonismus, jehož příkladem je reverzní CAMP-test, který popsali čeští autoři Záhorová s Kubelkou (20) a vysvětlili manželé Součkoví (16). Jde o potlačení stafylokokové hemolýzy vyvolané  $\beta$ -hemolyzinem *Staphylococcus aureus* fosfolipázou D produkovanou *Arcanobacterium haemolyticum*.

V r. 1997 si jeden z nás (M. V.) při rutinním odečítání vzorků všiml jevu podobného reverznímu CAMP-testu, totiž hemolytického antagonismu na krevním agaru s plnou ovčí krví mezi kmenem *Staphylococcus aureus* produkujícím  $\beta$ -hemolyzin a kmenem *Enterococcus faecalis*. Poněvadž tento jev prozatím nebyl v literatuře popsán, pokusila se o jeho bližší studium Vrbatová. Zjistila, že látku inhibující stafylokokový  $\beta$ -hemolyzin produkuje 55 % kmenů *E. faecalis* a žádný z izolovaných kmenů *Enterococcus faecium*. Dále konstatovala, že popsáný jev je lépe hodnotitelný na agaru s pranými ovčími erytrocyty a nedochází k němu na agaru s erytrocyty lidskými, koňskými ani králičími (18).

Poněvadž nálezy enterokoků v klinickém materiálu jsou v důsledku jejich stále se zvyšující antibiotické rezistence stále významnější, rozhodli jsme se tento jev podrobněji charakterizovat, abychom zjistili jeho případný přínos pro diagnostiku enterokoků.

## Materiál a metody

Testováno bylo 105 kmenů enterokoků, z nichž 100 pocházelo z klinického materiálu dodaného na Mikrobiologické oddělení Nemocnice Břeclav. Z gynekologického materiálu bylo zachyceno 47 kmenů, z moče 8, ze stěrů z uretry 7, z axily a zvukovodu novorozenců po 4, z ran 11, z výplachu bronchů 1, z močového katétru 7 a ze stěrů klinikem blíže neidentifikovaných 11 kmenů. Zbylých 5 kmenů bylo získáno z České sbírky mikroorganismů v Brně (kmeny *E. faecalis* CCM č. 1875, 2665, 4224, 3956 a 4647).

Kmeny enterokoků izolované z klinického materiálu byly předběžně identifikovány podle skupinového D-antigenu za použití latexové aglutinace (PASTOREX STREP, Bio Rad).

Konečná identifikace byla provedena pomocí komerčního setu API 20 STREP (Bio Mérieux). Ze 100 kmenů izolovaných z klinického materiálu bylo 91 (91 %) určeno jako *E. faecalis* a 9 kmenů (9 %) jako *E. faecium*.

Kmen *S. aureus* (Mau 126/89) s produkcí  $\beta$ -hemolyzinu byl získán z České národní sbírky typových kultur v Praze. Kmen neprodukuje jiné typy hemolyzinů.

Hemolytická interakce byla sledována na krevním agaru připraveném z těchto základů: Columbia Agar Base (BBL, 211124), Columbia Agar (Bio Mérieux, 51026), Blood Agar Base (Bio-Rad, 64524), Blood Agar Base (Columbia) (Ferosa, 1-034), Columbia Blood Agar Base (HiMedia, M114), Základ pre krvný agar č. 4 (Imuna), Columbia Agar Base (Merck, 10455) a Columbia Agar Base (Oxoid, CM331). K základům bylo přidáno 5 % sterilních praných ovčích erytrocytů.

Kmeny enterokoků byly očkované krátkou čarou kolmo k čáře *S. aureus* Mau 126/89. Misky byly inkubovány 48 hodin při teplotách 24, 30, 37 a 42 °C. Hemolytické interakce se odečítaly po 24 a 48 hodinách kultivace. V pozitivním případě se v místě styku stafylokokové a enterokokové čáry projevilo potlačení hemolýzy trojúhelníkového tvaru (obr. 1). Předpokládanou exosubstancí jsme se z enterokoků pokusili izolovat metodou podle Skalky et al. (14). Její účinnost jsme sledovali obdobně: koncentrovaná exosubstance byla nanášena kličkou kolmo k čáře stafylokoka. Izolovaný inhibiční produkt byl testován na odolnost vůči zvýšené teplotě (od 15 do 60 minut při 45, 55 a 70 °C) a trypsinu (0,1% Trypsin 1:250 Difco v Tris-HCl pufru o pH 8, 30 min při pokojové teplotě). Produkce proteázy byla stanovena na základě schopnosti kmene štěpit želatinu jednak za použití černobílého osvětleného negativu ponořeného do živného média (Columbia Broth Base, HiMedia), jednak kultivací v Nutrient Gelatine (HiMedia). Kmeny byly uchovávány při teplotě -20 °C v kryozkumavkách (ITEST Kryobanka B).

## Výsledky

Inhibice stafylokokové hemolýzy byla prokázána u 33 terénních (36 %) a 2 sbírkových kmenů *E. faecalis* (CCM 2665 a CCM 4647) a u žádného z 9 kmenů *E. faecium*. Hemolytická interakce byla sledována na osmi typech půd, a přestože intenzita inhibice hemolýzy se na jednotlivých půdách lišila, bylo ji možno hodnotit na všech uvedených půdách. Nikdy však popisovaná inhibice hemolýzy nebyla úplná (obr. 1).

Pro hodnocení intenzity inhibiční reakce byla důležitější míra schopnosti stafylokoka hemolyzovat než schopnost enterokoka produkovat inhibitor hemolýzy. Šířka zóny hemolýzy stafylokoka se totiž lišila u různých typů půd, při různém pH a také v závislosti na teplotě a délce kultivace.

K nejvýraznější inhibici stafylokokové hemolýzy docházelo na půdách Základ pre krvný agar č. 4 (Imuna) a Columbia Agar Base (BBL), při pH

půd 7,0–7,5 a při teplotě 37 °C. Ve většině případů bylo nejlépe hodnotit reakci po 24 h. Po 48 h pak stafylokok hemolyzoval výrazněji, a proto byla inhibiční interakce méně zřetelná. Při pH <7,0 a při pokojové teplotě byla stafylokoková hemolýza natolik úzká, že její inhibici nebylo možno hodnotit. Při teplotě 42 °C a pH 8,0 byl na jednotlivých typech půd výsledek hemolýzy a inhibiční interakce rozdílný, přičemž nejvýraznější inhibice hemolýzy byla pozorována opět na půdách připravených ze Základu pre krvný agar č. 4 (Imuna) a Columbia Agar Base (BBL).

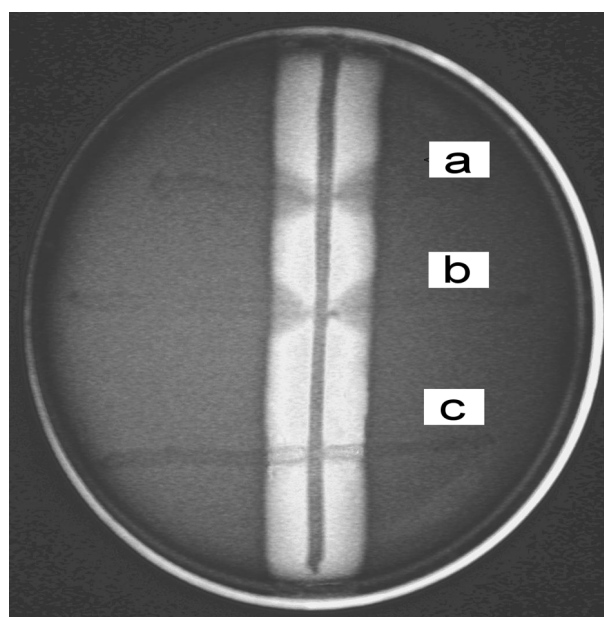
Pokud kmeny *E. faecalis* byly schopny inhibovat hemolýzu vyvolanou  $\beta$ -hemolyzinem *S. aureus*, byla intenzita této inhibice u všech kmenů stejná, s výjimkou dvou, u nichž bylo zjištěno, že hydrolyzují želatinu opožděně.

Exosubstance izolovaná z kmenů *E. faecalis* nanesená k čáře *S. aureus* působila stejný efekt jako kultura původního kmene. Vystavení izolované látky teplotě 70 °C po dobu 15 min, stejně jako působení 0,1% trypsinu po dobu 30 min zrušilo její účinek. Všechny kmeny *E. faecalis*, které byly schopny inhibovat hemolýzu stafylokoků, produkovaly proteázu. Reakci bylo možno hodnotit již po 24 h; pouze u 2 kmenů, které hemolýzu *S. aureus* inhibovaly slaběji, bylo nutno prodloužit inkubaci na 48 h. Z kmenů, které hemolýzu neinhibovaly, žádný netvořil proteázu.

## Diskuse

Ačkoliv hemolýzou a hemolytickými interakcemi mezi dvojicemi rozličných bakteriálních druhů se zabývá nesčetné množství autorů, hemolytický antagonismus mezi *S. aureus* s produkcí  $\beta$ -hemolyzinu a *E. faecalis* nebyl dosud v literatuře popsán. V žádném případě však není tak výrazný jako antagonismus mezi stafylokokovým  $\beta$ -hemolyzinem a fosfolipázou D *Arcanobacterium haemolyticum* v reverzním CAMP-testu. Zdá se, že inhibici hemolýzy *S. aureus* s produkcí  $\beta$ -hemolyzinu nevyvolávají všechny kmeny *E. faecalis*, ale pouze jejich část (v našem souboru dat se jednalo o 36 % kmenů), nejde tedy o znak typický pro celý druh. Inhibici hemolýzy bylo možno při použití praných ovčích erytrocytů pozorovat – byť v různé intenzitě – na všech použitých půdách a lze konstatovat, že pro sledování tohoto jevu je optimální pH půdy 7,0–7,5 a kultivace při 37 °C po dobu 24 h.

Ze 100 kmenů enterokoků izolovaných z různých druhů klinického materiálu bylo 91 % kmenů identifikováno jako *E. faecalis* a 9 % kmenů jako *E. faecium*. Schopnost potlačovat hemolýzu *S. aureus* Mau 126/89 s produkcí  $\beta$ -hemolyzinu



**Obr. 1.** Hemolytický antagonismus mezi *Staphylococcus aureus* (Mau 126/89) s produkcí  $\beta$ -hemolyzinu a kmeny *Enterococcus faecalis*. Na krevním agaru s pranými ovčími erytrocyty svisle roste *S. aureus*, krátké horizontální linie jsou kmeny *E. faecalis* (a, b – kmeny *E. faecalis* inhibující hemolýzu *S. aureus*; c – kmen *E. faecalis* neovlivňující hemolýzu *S. aureus*).

**Fig. 1.** Inhibition of hemolytic activity of *Staphylococcus aureus* (Mau 126/89) beta-hemolysin by an exosubstance produced by some *Enterococcus faecalis* strains on blood agar with washed sheep erythrocytes. Vertical line: *S. aureus*, short horizontal lines a, b: *Enterococcus faecalis* strains inhibiting hemolysis caused by *S. aureus*; c: *Enterococcus faecalis* strain with no effect on hemolysis caused by *S. aureus*

byla nalezena pouze u kmenů *E. faecalis*. Počet kmenů *E. faecium* je ovšem příliš malý na to, aby bylo možno tvrdit, že *E. faecium* inhibici hemolýzy  $\beta$ -hemolytického kmene *S. aureus* nikdy nezpůsobuje. Naše zjištění je však v tomto ohledu shodné s výsledky práce Vrbatové (18), která rovněž uvádí, že inhibiční reakci vyvolávají pouze kmeny *E. faecalis*.

Protože vysoká teplota a trypsin účinek izolované inhibiční substance odstraňovaly, lze předpokládat, že má proteinovou povahu. Jednou z látek, která je *E. faecalis* produkována do extracelulárního prostředí, je proteáza (6). Fakt, že se jedná o látku, kterou produkuje výlučně kmeny *E. faecalis* a nikdy ne kmeny *E. faecium* (8), nás přivedl na myšlenku, zda by inhibitorem hemolýzy nemohla být právě proteáza. V literatuře jsme našli jedinou zmínku o kmeni *E. faecium*, který přechodně produkoval proteázu, ale autoři sami jev diskutovali jako raritní (3).

Zjistili jsme, že všechny kmeny *E. faecalis* inhibující hemolýzu *S. aureus* Mau 126/89 produkovaly proteázu a že žádný kmen enterokoka, který proteázu netvořil, inhibici hemolýzy nevytvářel. Pouze dva kmeny inhibovaly hemolýzu slaběji,

a v tomto případě bylo nutno odečítat produkci proteázy o 24 h později. Mohlo se jednat o pomaleji rostoucí kmeny, u nichž dochází k opožděnému přechodu růstu do fáze stacionární, a tudíž se nástup tvorby proteázy mohl opozdit. Je totiž známo, že syntéza obou sledovaných exosubstancí, jak  $\beta$ -hemolyzinu *S. aureus*, tak uvažované proteázy, je zahajována při přechodu růstu z fáze exponenciální do fáze stacionární (2, 12, 13).

*E. faecalis* může být nositelem genů pro dva typy proteáz, a sice pro GelE (Zn-metaloproteázu) (19) a SprE (serinovou proteázu) (11). Oba enzymy jsou řízeny společnou skupinou genů a jsou společně prepisovány (9, 10, 12). V podmínkách rutinní klinické laboratoře nebylo možno rozlišit, která z obou typů proteáz se podílí na inhibici hemolýzy.

Přes všechny uvedené údaje svědčící o tom, že sledovaným inhibitorem hemolýzy může být proteáza, je nutno zdůraznit, že se jedná pouze o předpoklad, který je zapotřebí dále potvrdit. Jak již bylo uvedeno, geny pro oba typy proteáz jsou řízeny společnou skupinou regulačních genů (skupina genů *fsr*). Poněvadž není známo, jak širokou skupinu genů geny *fsr* ovlivňují (a nevíme, které geny leží za geny pro oba typy proteáz) (12), není možné na základě naší 100% shody mezi kmeny proteáza pozitivními a kmeny inhibujícími hemolýzu *S. aureus* stavět tvrzení, že onou exosubstancí způsobující inhibici hemolýzy *S. aureus* je skutečně proteáza. Procento kmenů *E. faecalis* s produkcí proteázy izolovaných z klinického materiálu se u jednotlivých autorů velmi liší (49–64 %) (4). Podíl našich kmenů produkujících proteázu (a zároveň inhibujících hemolýzu) byl 36 %, což je znatelně méně. Rozdíl může být způsoben rozdílnou metodikou a také druhem vyšetřovaného materiálu, neboť vesměs nešlo o materiál odebíraný ze závažných infekčních procesů (ve vyšetřovaném souboru převládá gynekologický materiál). Incidence produkce proteázy je totiž podstatně nižší u kmenů izolovaných od zdravých dobrovolníků (27 %) (1).

Je nutno zdůraznit, že během celé práce byly při přípravě krevního agarů určeného ke studiu hemolytických interakcí používány pouze prané ovčí erythrocyty, poněvadž při použití plné ovčí krve není vždy snadné hemolytickou interakci hodnotit. To může být způsobeno přítomností vyšší koncentrace proteinů (čímž může docházet k vysycení enzymu substrátem) (7) nebo plazmatickými inhibitory proteáz v séru přítomnými (17). V běžné klinické laboratoři se tedy s tímto typem hemolytické interakce pravděpodobně setkáme jen zřídka, takže ho bude možno jen těžko využít v rutinní diagnostice.

Hlavním záměrem této studie bylo upozornit na inhibici hemolýzy *S. aureus* s produkcí  $\beta$ -hemolyzinu, kterou vyvolává část kmenů *E. faecalis*. K inhibici hemolýzy docházelo při použití praných ovčích erythrocytů na všech sledovaných

půdách, přičemž byl popsán jev nejvýraznější za kultivačních podmínek optimálních pro růst obou mikrobů. Látkou inhibující hemolýzu je s určitou pravděpodobností některá z proteáz *E. faecalis*, avšak tento předpoklad je zapotřebí dále ověřit.

## Literatura

1. Coque, T. J., Patterson, J. E., Steckelberg, J. M., Murray, B. E. et al. Incidence of hemolysin, gelatinase, and aggregation substance among enterococci isolated from patients with endocarditis and other infections and from feces of hospitalised and community-based persons. *J. Infect. Dis.*, 1995, 171, s. 1223–1229.
2. Dinges, M. M., Orwin, P. M., Schlievert, P. M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2000, 13, 1, s. 16–34.
3. Eaton, T. J., Gasson, M. J. Molecular screening of *Enterococcus* virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001, 67, 4, s. 1628–1635.
4. Franz, C. H., Muscholl-Silberhorn, A., Yousif, A., Vancanneyt, M. et al. Incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococci isolated from food. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2001, 67, 9, s. 4385–4389.
5. Christie, R., Atkins, J. E., Munch-Petersen, E. A note on a lytic phenomenon shown by group B streptococci. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 1944, 22, s. 729–736.
6. Jett, B. D., Huycke, M. M., Gilmore, M. S. Virulence of enterococci. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1994, 7, 4, s. 462–478.
7. Macholán, L., Barthová, J., Kučera, I. *Enzymologie*. Brno: PpF MU, 1983. 154 s.
8. Mundy, L. M., Sahn, D. F., Gilmore, M. Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2000, 13, 4, s. 513–522.
9. Mylonakis, E., Engelbert, M., Qin, X., Sifri, C. D. et al. The *Enterococcus faecalis fsrB* gene, a key component of the *fsr* quorum-sensing system, is associated with virulence in the rabbit endophthalmitis model. *Infect. Immun.*, 2002, 70, 8, s. 4678–4681.
10. Pillai, S. K., Sakoula, G., Gold, H. S., Wennersten, C. et al. Prevalence of the *fsr* locus in *Enterococcus faecalis* infections. *J. Clin. Microbiol.*, 2002, 40, 7, s. 2651–2652.
11. Qin, X., Singh, K. V., Weinstock, G. M., Murray, B. E. Effects of *Enterococcus faecalis fsr* genes on production of gelatinase, a serine protease and virulence. *Infect. Immun.*, 2000, 68, 5, s. 2579–2586.
12. Qin, X., Singh, K. V., Weinstock, G. M., Murray, B. E. Characterization of *fsr*, a regulator controlling expression of gelatinase and serine protease in *Enterococcus faecalis* OG1RF. *J. Bacteriol.*, 2001, 183, 11, s. 3372–3382.
13. Sifri, C. D., Mylonakis, E., Singh, K. V., Xiang, Q. et al. Virulence effect of *Enterococcus faecalis* protease genes and the quorum-sensing locus *fsr* in *Caenorhabditis elegans* and mice. *Infect. Immun.*, 2002, 70, 10, s. 5647–5650.
14. Skalka, B., Literák, I., Chalupa, P., Votava, M. Phospholipase D-neutralization in serodiagnosis of *Arcanobacterium haemolyticum* and *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections. *Zbl. Bakteriol.*, 1998, 288, s. 463–470.
15. Skalka, B., Votava, M. Hemolýzy a hemolytické interakce bakterií. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.*, 1997, 46, 3, s. 87–98.
16. Součková, A., Souček, A. Inhibition of the hemolytic

- action of alpha and beta lysins of *Staphylococcus pyogenes* by *Corynebacterium hemolyticum*, *C. ovis* and *C. ulcerans*. *Toxicon*, 1972, 10, s. 501–509.
17. **Trojan, S. et al.** Lékařská fyziologie. In: Trávníčková, E. *Fyziologie krve*. Praha: Grada Publishing, 1999, s. 87–12.
18. **Vrbatová, M.** Hemolytické interakce rodu *Enterococcus* a optimální podmínky pro jejich stanovení (diplomová práce). Brno: PřF MU, 2001. 56 s.
19. **Waters, Ch. M., Antiporta, M. H., Murray, E. M., Dunny, G. M.** Role of *Enterococcus faecalis* GelE protease in determination of cellular chain length, supernatant pheromone levels, and degradation of fibrin and misfolded surface proteins. *J. Bacteriol.*, 2003, 185, 12, s. 3613–3623.
20. **Záhorová, L., Kubelka, V.** A reverse CAMP diagnostic test with *Corynebacterium pyogenes* varietas hominis. *Folia microbiol.*, 1960, 5, s. 57–59.

Do redakce došlo 1. 6. 2004

Mgr. Adéla Vítková  
Mirobiologické oddělení  
Nemocnice Břeclav, příspěv. org.  
U Nemocnice 1  
690 02 Břeclav

## IPVZ – VZDĚLÁVACÍ AKCE

### Katedra hygieny a epidemiologie

IPVZ, Ruská 85, 100 05 Praha 10

Vedoucí: MUDr. Vladimír Polanecký, tel. 224 212 039, 271 019 291, fax 271 019 269,

e-mail: hygepid@ipvz.cz

#### Katedra hygieny a epidemiologie

- Místo konání: Praha 10, Ruská 85  
**Předpokládaná cena: 1500,- Kč**  
**14.2.2005 – 18.2.2005**  
2. část (hygienické obory a epidemiologie)  
Místo konání: Praha 10, Ruská 85  
**Předpokládaná cena: 1500,- Kč**  
**28.2.2005 – 2.3.2005**  
3. část (epidemiologie)  
1. – 3. část tvoří logický celek  
Místo konání: Ústí n. L., KHS  
**Předpokládaná cena: 900,- Kč**
- 207004 Specializační kurz v oboru hygieny životního a pracovního prostředí (JOPZ)**  
Určeno pro JOPZ zařazené do specializační průpravy.  
Program: Tematické okruhy dané specializační náplní oboru, včetně znalostí správního řízení, správné aplikace legislativy, odborné terminologie, praktické ukázky.  
Vedoucí: MUDr. J. Bártová, CSc.,  
MUDr. B. Tesařová  
Místo konání: Praha 10, Ruská 85  
**Předpokládaná cena: 2400,- Kč**  
**7.3.2005 – 16.3.2005**
- 207006 Specializační odborná stáž v hygieně výživy**  
Určeno pro lékaře v přípravě k atestaci.  
Program: Aplikace poznatků vyžadovaných specializační náplní oboru.  
Školitel: MUDr. M. Čemusová  
Místo konání: bude upřesněno  
**Předpokládaná cena: 600,- Kč**  
**Termín dle dohody se školitelem.**  
3 dny
- 207007 Specializační odborná stáž v hygieně obecné a komunální**  
Určeno pro lékaře v přípravě k atestaci.  
Program: Aplikace poznatků vyžadovaných specializační náplní oboru.  
Školitel: MUDr. J. Bártová, CSc.  
Místo konání: bude upřesněno  
**Předpokládaná cena: 600,- Kč**  
**Termín dle dohody se školitelem.**  
3 dny
- 207008 Specializační odborná stáž v hygieně dětí a dorostu**  
Určeno pro lékaře v přípravě k atestaci.  
Program: Aplikace poznatků vyžadovaných specializační náplní oboru.  
Školitel: MUDr. V. Polanecký  
Místo konání: bude upřesněno  
**Předpokládaná cena: 600,- Kč**  
**Termín dle dohody se školitelem.**  
3 dny
- 207009 Specializační odborná stáž v epidemiologii**  
Určeno pro lékaře v přípravě k atestaci.  
Program: Aplikace poznatků vyžadovaných specializační náplní oboru.  
Školitel: prof. MUDr. J. Šejda, DrSc.  
Místo konání: bude upřesněno  
**Předpokládaná cena: 600,- Kč**  
**Termín dle dohody se školitelem.**  
3 dny
- 207011 \* Kurz – Diskusní soustředění**  
Určeno pro ředitele zdravotních úřadů, zdravotních ústavů a jejich poboček.  
Program: Novela zákona 258/2000 Sb. (Doporučeno hl. hygienikem ČR).  
Vedoucí: MUDr. V. Polanecký  
Místo konání: Praha 10, Ruská 85  
**Předpokládaná cena: 600,- Kč**  
**18.4.2005**  
**25.4.2005**
- 207012 \* Kurz – Dezinfekce a její kontrola**  
Určeno pro vysokoškolské pracovníky a AHS zdravotních ústavů, lékaře a sestry zdravotnických zařízení.  
Program: Novela vyhl. 440/200 Sb., způsob aplikace, testování účinnosti a specifika přípravků.  
Vedoucí: MUDr. V. Polanecký  
Místo konání: Praha 10, Ruská 85  
**Předpokládaná cena: 600,- Kč**  
**21.4.2005**
- 207013 \* Kurz – EPIINFO, EPIMAP pro pokročilé**  
Určeno pro epidemiology a asistenty hygienické služby pracující s těmito programy, pro hygieniky i lékaře jiných oborů.  
Program: Tvorba dotazníků, práce s daty, analýza dat.  
Vedoucí: MUDr. V. Polanecký  
Místo konání: Praha 10, Ruská 85  
**Předpokládaná cena: 1800,- Kč**  
**26.4.2005 – 29.4.2005**
- 207014 Kurz – Praktické výsledky v hodnocení zdravotních rizik**  
Určeno pro pracovníky hygienické služby a pro pracovníky provádějící analýzu životního prostředí pro hodnocení zdravotních rizik.  
Program: Případové studie a jejich výsledky, odhad expozice člověka.  
Vedoucí: MUDr. J. Bártová, CSc.  
Místo konání: Praha 10, Ruská 85  
**Předpokládaná cena: 600,- Kč**  
**2.5.2005**

Dokončení na str. 33