

*Mirjana Bojanić, Vera Katić<sup>1</sup>*

**ADHERENCIJA BAKTERIJA KAO USLOV ZA NASTAJANJE  
MASTITISA**  
***ADHERENCE OF THE BACTERIA AS A PREREQUISITE FOR  
BEGINNING OF THE MASTITIS***

**Izvod**

Adherencija bakterija za epitelne ćelije mliječne žlijezde krava predstavlja važnu stepenicu u nastajanju mastitisa. Cilj ovog rada je bio da se ispita adherencija *Str.agalactiae* i *Staph.aureus* za epitelne ćelije mliječne žlijezde krava *In vitro*.

Adherencija je ispitivana *in vitro* miješanjem suspenzije bakterija ( $10^8$ /ml) sa suspenzijom epitelnih ćelija ( $10^4$ - $10^5$  / ml).

**Ključne riječi:** adherencija, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, mastitis, fibronektin.

**Abstract**

The adherence of bacteria for epithelial cells mammary gland of cows are important step in beginning mastitis. The aim of this study was to examine adherence of *Str. agalactiae* and *Staph. aureus* for epithelial cells of mammary gland of cows. Adherence of bacteria were examined *in vitro* by mixing the suspension of bacteria ( $10^8$ /ml) with the suspension of the epithelial cells ( $10^4$ - $10^5$  / ml).

**Key words:** adherence, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, mastitis, fibronectin.

**UVOD**

Zapaljenje vimena kod domaćih životinja se često javlja naročito kod krava a najčešće je izazvano bakterijama kao što su: *Staphylococcus*

<sup>1</sup> Mr Mirjana Bojanić - Biotehnički institut - Podgorica  
Prof. dr Vera Katić - Veterinarski fakultet - Beograd

aureus i druge stafilokoke, Streptococcus agalactiae i druge streptokoke, E.coli itd.

Oboljenje ima veliki značaj ne samo za veterinarsku već i humanu medicinu, jer uzročnici mastitisa izazivaju i oboljenje ljudi.

Patogeneza ove bolesti nije još uvijek razjašnjena pa se u svijetu intenzivno radi na njenom izučavanju.

**Frost (1975,77)**, smatra da je adherencija bakterija za epitelne ćelije mliječne žlijezde krava prvi korak u nastajanju mastitisa.

Adherencija bakterija za ćelije domaćina je interakcija između površine bakterija i površine epitelnih ćelija (**Sandholm i sar. 1986**).

**Beachy (1986)** navodi da je uspješan onaj mikroorganizam koji uspostavi stabilne kolonije na površini sluznice. Mnoge bakterije posjeduju površne strukture koje se vezuju za specifične makromolekule ćelija domaćina kao brava-ključ, način analogan kombinaciji enzim-supstrat ili antitijelo - antigen.

Pretpostavlja se da selektivna adherencija bakterija za epitelne ćelije mliječne žlijezde krava može da objasni zašto samo određene bakterijske vrste najčešće izazivaju mastitis. U ovom radu smo ispitivali adherenciju najčešćih uzročnika mastitisa za epitelne ćelije mliječne žlijezde krava.

#### MATERIJAL I METODE RADA.

Za proučavanje adherencije Staphylococcus aureus i Streptococcus agalactiae za epitelne ćelije cisterne mliječne žlijezde krava upotrijebljen je In vitro test adherencije po metodi Wanasinghea (1981,a).

Izolati bakterija korišćeni u radu su dobijeni iz uzoraka mlijeka krava sa privatnog i individualnog sektora koje su bolovale od subkliničkog mastitisa.

#### Pripremanje epitelnih ćelija

Epitelne ćelije su dobijene skarifikacijom epitela sinusa lactipheri klinički zdravih krava odmah poslije klanja. Poslije klanja, vimena su odmah odvajana od trupa, a zatim je radena sekcija svake četvrti. Otvaranje je vršeno makazama počev od otvora sise tako da se napravi presjek kroz sisni kanal i mliječni sinus. Ostatak četvrti - alveolarna masa je sječena oštrim nožem.

Epitelna površina je ispirana neko vrijeme 0,05M fosfatnim slanim puferom ( PBS) pH=7,0.

Tako pripremljeni PBS je sterilisan kroz Sajcov filter i čuvan do upotrebe u frižideru.

Epitelne ćelije su korišćene u roku 3 sata od klanja krava. Ćelije su dobijene sa vlažne epitelne površine mliječnog sinusa mekanim sterilnim četkicama za pranje pipeta. Ovim mekanim četkicama se minimalno oštećuju epitelne ćelije. Poslije 10-15 poteza epitelne ćelije su odvajane od četkice snažnim mućkanjem u 15 ml PBS. Suspenzija ćelija u PBS je centrifugovana na 1300 o/min. 15 minuta. Sediment je ispiran 5 puta u PBS. Isprane ćelije su razblaživane u maloj zapremini PBS i 0,01 ml suspenzije ćelija je prenošen na mikroskopsku pločicu na površinu 1 cm x 1 cm, sušene na vazduhu i bojene po Gimzi.

Broj epitelnih ćelija je izračunavan po sljedećem obrascu:

$$N = FM \times \bar{X} \times 100$$

N- broj epitelnih ćelija / ml

FM- faktor mikroskopa

$\bar{X}$  - srednja vrijednost broja epitelnih ćelija u jednom vidnom polju.

Preparat je posmatran pod imerzionim objektivom mikroskopa. Za izvođenje ovog testa potrebno je  $10^4$  do  $10^5$  epitelnih ćelija/ml.

#### **Pripremanje suspenzije streptokoka i suspenzije stafilokoka**

*Streptococcus agalactiae* je umnožavan u Todd-Hewitt bujonu, a *Staph. aureus* u BHI bujonu 3 puta po 18 sati. Bujonske kulture ispitivanih bakterija stare 18<sup>h</sup> su centrifugovane na 3000 o/min. 20 min. Sediment je ispiran 5 puta u PBS. Konačna suspenzija bakterija je iznosila  $10^8$  bakt./ml.

#### ***Adherencija bakterija za epitelne ćelije***

Na 0,5 ml suspenzije epitelnih ćelija je dodavano 0,5 ml bakterijske suspenzije i ta mješavina je stavljena 30 min. na 37°C uz stalno miješanje. Zatim je suspenzija centrifugovana na 900 o/min. 15 min. Sediment je ispiran najmanje 5 puta u PBS. Na kraju sediment je suspendovan u maloj količini PBS i prenesen na mikroskopsku pločicu Pasterovom pipetom u tri odvojene kapi. Po sušenju (oko 24<sup>h</sup>) i fiksaciji preparata na plamenu preparati su fiksirani u etanolu 10 minuta, a zatim obojeni rastvorom eozina i azura 15 minuta. Rastvor za bojenje je pripreman tako što je vodeni rastvor azura II (30 mg/ml) miješan sa vodenim rastvorom eozina

(20 mg / ml) i dopunjen destilovanom vodom do 100 ml. Rastvor je pripreman svjež za svaki eksperiment.

#### **Određivanje adherencije**

Preparati su pregledani svjetlosnim mikroskopom uvećanja 8 x 100 i odredivan je:

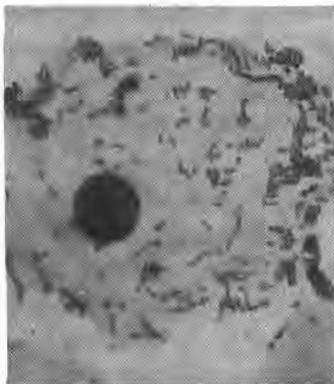
1. Broj adheriranih bakterija po jednoj epitelnoj ćeliji.
2. Broj epitelnih ćelija sa adheriranim bakterijama na 100 epitelnih ćelija.
3. Ukupan broj adheriranih bakterija na 100 epitelnih ćelija.
4. Indeks adherencije ( izražen u procentima ) - broj adheriranih bakterija izražen u procentima, računat u odnosu na adherenciju kontrolnog mikroorganizma.

Kao kontrola su upotrijebljene epitelne ćelije bez bakterija.

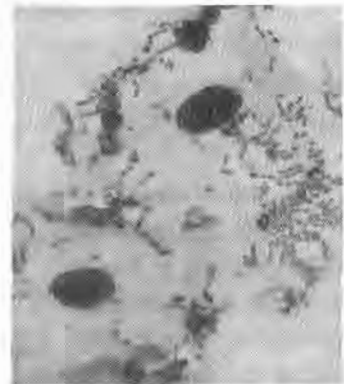
Na bazi indeksa adherencije relativna adherencija je računata (u procentima) kao:

- visoka ( više od 70 )
- srednja ( 50-70 )
- niska ( 50-30 )
- veoma niska ( ispod 30 ).

Samo one bakterije koje su bile direktno vezane za neoštećenu ćeliju samu ili u grupi od 2 - 3 ćelije su brojane. Ćelije koje nijesu bile karakteristične za epitelne ćelije nijesu računate.



Sl.1. Adherencija *Staph. aureus* za epitelne ćelije mliječne žlijezde krava  
*The adherence Staph. aureus to the epithelial cells bovine mammary gland*



Sl.2. Adherencija *Str. agalactiae* za epitelne ćelije mliječne žlijezde krava  
*The adherence Str. agalactiae to the epithelial cells bovine mammary gland*

### REZULTATI

Rezultati in vitro testa adherencije sa izolatima *Staph aureus* iz mlijeka krava sa individualnog sektora su prikazani u tablici 1.

Rezultati prikazani u tablici 1. pokazuju da se indeks adherencije *Staph. aureus* kretao od 7 do 80 u odnosu na kontrolni *Staph. aureus*. Broj ćelija sa adheriranim bakterijama na 100 epitelnih ćelija se kretao od 16 - 76, a broj adheriranih bakterija na 100 epitelnih ćelija od 41- 573. Srednja vrijednost broja adheriranih bakterija na 100 epitelnih ćelija je iznosila 250, standardna devijacija je 170, a koeficijent varijacije 68%.

Rezultati ispitivanja adherencije *Staph. aureus* izolovanih iz mlijeka krava sa farme PKB su prikazani u tablici 2.

Tab.1. Rezultati in vitro testa adherencije izolata *Staph.aureus* iz mlijeka krava sa individualnog sektora.

*Results of in vitro test adherence of the Staph. aureus isolates from the milk of cows from private farms.*

Izolat Staph. aureus	Broj ćelija sa adher. bakt. na 100 epit. ćel.	Ukupan broj adher. bakt. na 100 epit. ćel.	Indeks adherencije
1	76	573	100
2	31	104	18
3	43	271	34
4	42	271	47
5	45	111	19
6	67	380	66
7	30	110	19
8	16	41	7
9	57	463	80
10	33	66	11
11	73	368	64
X	47	250	42
Sd	18	170	30
CV%	38	68	70

Tab.2. Rezultati in vitro testa adherencije sa izolatima *Staph. aureus* sa farme PKB  
*Results of in vitro test adherence of the Staph. aureus isolates from the PKB farm.*

Results of izolat <i>Staph. aureus</i> <i>Isolate Staph. aureus</i>	roj ćelija sa adher. bakt. na 100 epit. ćel. <i>° of cells with adher. bact. on 100 epit. cells.</i>	Ukupan broj adher. bakt. na 100 epit. ćel. <i>Total N° adher. bact. on 100 epit. cells</i>	Indeks adherencije <i>Index of adher.</i>
1	55	757	100
2	35	297	39
3	46	411	54
4	22	100	13
5	30	189	24
<i>X</i>	37	350	46
<i>Sd</i>	12	225	30
<i>CV%</i>	32	65	66

Rezultati prikazani u tablici 2. pokazuju da se indeks adherencije kretao od 13 do 54, broj ćelija sa adheriranim bakterijama na 100 epitelnih ćelija se kretao od 22 do 55, a broj adheriranih bakterija na 100 epitelnih ćelija od 100 do 757. Srednja vrijednost broja adheriranih bakterija na 100 epitelnih ćelija je 350, standardna devijacija 225, a koeficijent varijacije 65%.

Rezultati in vitro testa adherencije sa izolatima *Str. agalactiae* sa farme PTK "Nikšić" su prikazani su u tablici 3.

Rezultati prikazani u tablici 3. pokazuju da se indeks adherencije *Str. agalactiae* kretao od 5 - 80, broj epitelnih ćelija sa adheriranim bakterijama na 100 epitelnih ćelija od 32 do 74, a broj adheriranih bakterija na 100 epitelnih ćelija od 32 - 578. Srednja vrijednost broja adheriranih bakterija na 100 epitelnih ćelija je 379, standardna devijacija je 184, a koeficijent varijacije 49%.

Rezultati in vitro testa adherencije sa izolatima *Str. agalactiae* sa farme PKB "Beograd" prikazani su u tablici 4.

Tab.3. Rezultati in vitro testa adherencije sa izolatima *Str. agalactiae* sa farme PTK "Nikšić".

*Results of in vitro test adherence of the Str. agalactiae isolates from the farm PTK "Nikšić".*

Izolat <i>Staph. aureus</i> <i>Isolate Staph. aureus</i>	Broj ćelija sa adher. bakt. na 100 epit. ćel. <i>Nº of cells with adher. bact. on 100 epit. cells.</i>	Ukupan broj adher. bakt. na 100 epit. ćel. <i>Total Nº adher. bact. on 100 epit. cells</i>	Indeks adherencije <i>Index of adher.</i>
1	74	578	100
2	32	32	5
3	62	463	80
4	46	430	74
5	52	394	68
<i>X</i>	53	379	65
<i>Sd</i>	14	184	32
<i>CV%</i>	27	49	49

Tab.4. Rezultati in vitro testa adherencije sa izolatima *Str. agalact.* sa farme PKB.

*Results of in vitro test adherence of the Str. agalactiae isolates from the farm PKB.*

Izolat <i>Str. agalactiae</i>	Broj ćelija sa adher. bakt. na 100 epit. ćel.	Ukupan broj adher. bakt. na 100 epit. ćel.	Indeks adherencije
1	51	566	100
2	40	236	41
3	38	311	54
4	37	198	34
5	35	409	72
<i>X</i>	40	344	60
<i>Sd</i>	5	59	24
<i>CV%</i>	12	17	40

Rezultati prikazani u tablici 4. pokazuju da se indeks adherencije *Str. agalactiae* kretao od 34 - 72, broj ćelija sa adheriranim bakterijama na 100 epitelnih ćelija od 35 - 51, a broj adheriranih bakterija na 100 epitelnih ćelija od 198 - 566. Srednja vrijednost broja adheriranih bakterija na 100 epitelnih ćelija je 344, standardna devijacija je 59, a koeficijent varijacije 17%.

Rezultati relativne adherencije ispitivanih izolata *Staph. aureus* su prikazani u tabeli 5.

Tab.5. Rezultati relativne adherencije ispitivanih izolata *Staph. aureus*  
*Results of the relative adherence of the Staph aureus isolates.*

<b>Relativna adher. Staph. aureus</b> <b>Relative adh. Staph. aureus</b>	<b>Privatni sektor</b> <b>Private farms</b>	<b>Farma PKB</b> <b>PKB farm</b>
Visoka / High	2	1
Srednja / Middle	2	1
Niska / Low	2	1
Veoma niska / Very low	5	2

Rezultati prikazani u tablici 5 pokazuju da su 2 izolata *Staph. aureus* imala visoku relativnu adherenciju, 2 srednju, 2 nisku i 5 veoma nisku relativnu adherenciju.

Izolati *Staph. aureus* sa farme PKB su imali: jedan visoku, jedan srednju, jedan nisku i dva veoma nisku relativnu adherenciju.

Rezultati ispitivanja relativne adherencije izolata *Str. agalactiae* sa farme PTK "Nikšić" i PKB su prikazani u tablici 6.

Tab. 6. Rezultati relativne adherencije *Str. agalactiae* sa farme PTK "Nikšić" i PKB  
*Results of the relative adherence of the isolates Str. agalactiae from farm PTK "Nikšić" and PKB*

<b>Relativna adher. Str. agalactiae</b> <b>Relative adh. Str. agalactiae</b>	<b>Farma PTK</b> <b>Nikšić</b>	<b>Farma PKB</b>
Visoka / High	3	2
Srednja / Middle	1	1
Niska / Low	-	2
Veoma niska / Very low	1	-



Rezultati prikazani u tablici 6. pokazuju da su tri izolata sa farme PTK "Nikšić" imala visoku relativnu adherenciju, jedan srednju i jedan veoma nisku relativnu adherenciju. Sa farme PKB dva izolata su imala visoku, jedan srednju i dva nisku relativnu adherenciju.

Rezultati poredenja relativne adherencije izolata *Staph. aureus* i *Str. agalactiae* su prikazani u tablici 7.

Tab. 7. Rezultati poredenja relativne adherencije izolata *Staph. aureus* i *Str. agalactiae*

*Results of the comparison of relative adherence between the isolates *Staph. aureus* and *Str. agalactiae**

Relativna adher. <i>Str. agalactiae</i> Relative adh. <i>Str. agalactiae</i>	<i>Staph. aureus</i>	<i>Str. agalactiae</i>
Visoka / High	3	5
Srednja / Middle	3	2
Niska / Low	3	2
Veoma niska / Very low	7	1

Rezultati prikazani u tablici 7. pokazuju da su od ukupno 16 ispitivanih izolata *Staph. aureus* tri imala visoku, tri srednju, tri nisku i sedam izolata veoma nisku relativnu adherenciju. Od ukupno 10 izolata *Str. agalactiae* 5 izolata su imala visoku, dva srednju, dva nisku i jedan veoma nisku relativnu adherenciju.

Upoređujući relativnu adherenciju izolata *Staph. aureus* i *Str. agalactiae* uočava se da su 3 od 16 izolata *Staph. aureus* i 5 od 10 izolata *Str. agalactiae* imali visoku relativnu adherenciju. Veoma nisku relativnu adherenciju je imalo sedam izolata *Staph. aureus*, a samo jedan izolat *Str. agalactiae*. Ovi rezultati pokazuju da je *Str. agalactiae* imao veću relativnu adherenciju od *Staph. aureus*.

## DISKUSIJA

Naši rezultati pokazuju da je epitel mliječne žlijezde krava vrlo prijemljiv za *Staph. aureus* i *Str. agalactiae*. Zavisno od osobina, tipa epitelnih ćelija stadijuma keratinizacije ovih ćelija vimeaa krava, virulentnosti prouzrokovaca, debljine sloja fibronektina koji oblaže ćelije, odbrambenih sposobnosti makroorganizma, zavisi u kojem stepenu će se mikroorganizmi vezivati.

Analizom varijanse utvrđeno je da nema značajne razlike u broju adheriranih bakterija na 100 epitelnih ćelija između ispitivanih serija izolata što nam ukazuje da obadvije ispitivane vrste mikroorganizama imaju sličnu sposobnost za adherenciju i da su jednako prijemljivi za životinje na farmi i na individualnom sektoru.

Standardnom devijacijom i koeficijentom varijacije je utvrđeno da se radi o nehomogenim serijama, što nam ukazuje da postoje znatne razlike u broju adheriranih bakterija na 100 epitelnih ćelija između izolata unutar jedne serije.

S obzirom da u prirodi postoji veliki broj sojeva ispitivanih vrsta bakterija, to se dovodi u vezu sa velikim variranjem indeksa adherencije unutar serije kao i sa individualnim osobinama makroorganizma.

**Cifrian i sar. (1994,1995)** navode da se bakterije *Staph.aureus* znatno više adheriraju za kulturu epitelnih ćelija izloženih djelovanjem alfatoksina *Staph.aureus* za vrijeme od 18 sati, pa smatraju da je oštećenje površine epitelnih ćelija uslov za adherenciju *Staph.aureus* u mliječnoj žlijezdi *in vivo*. Nekapsulirani sojevi *Staph.aureus* adheriraju lakše od kapsuliranih, pa se smatra da zid bakterija ima veliki afinitet za ekstracelularni proteinski matriks i za oštećene ćelije.

**Myllys i sar. (1994)** smatraju da su oštećenja epitela sisnog kanala jedan od predisponirajućih faktora za stafilokoknu infekciju.

**Sandholm i sar. (1986)** smatraju da deskvamacija izumrlih epitelnih ćelija za koje su adherirane bakterije sprečava slobodno kretanje bakterija naviše u mliječnoj žlijezdi. Ispiranje tokom muže je vjerovatno najvažniji antibakterijski mehanizam mliječne žlijezde, a bakterije mu se suprotstavljaju adherencijom za tkivo ili povećanjem stepena replikacije.

**Beachy (1986)** smatra da je vezivanje mikroorganizama onemogućeno kada je umnožavanje ćelija brzo i kada je obnavljanje površine sluznice brže od njenog odstranjivanja deksvamacijom. Autor dalje smatra da lipotejkska kiselina (LTA) igra centralnu ulogu u adherenciji *Str.pyogenes* za epitelne ćelije.

**Ryc i sar. (1985)** smatraju da se adhezini - strukture grupe A streptokoka nalaze na fibrilama i filamentima i da LTA, hijaluronska kiselina kapsule i M protein igraju ulogu u adherenciji grupe A streptokoka.

**Frost (1975)** smatra da stafilokoke, *Str.agalactiae*, mikrokoke, vrste bakterija koje su najčešće izolovane iz inficiranog vimena adheriraju

za epitelne ćelije mliječne žlijezde brže i u većem broju nego mikroorganizmi koji se rjeđe izoluju. Smatra se da je selektivna adherencija bakterija za epitelne ćelije faktor koji doprinosi sposobnosti mikroorganizama za infekciju mliječne žlijezde.

**Talafantova i sar. (1985)** navode da je adherencija preduslov za patogenu aktivnost većine bakterija.

**Aly i Levit (1987)** smatraju da na adherenciju bakterija za tkivo prvenstveno utiče mjesto infekcije i virulencija mikroorganizma.

**Shibl (1985)** tvrdi da antibiotici mijenjaju antigenu površinu bakterija, morfologiju i biosintezu različitih faktora virulencije, a samim tim modifikuju interakciju bakterija sa tkivom domaćina, što se manifestuje smanjenjem bakterijske adherencije i smanjenjem fagocitoze.

Fibronektin (FN) na površini epitelnih ćelija služi kao receptor za vezivanje mikroorganizama.

**Proctor (1987,a)** navodi da je fibronektin veliki glikoprotein sastavljen od blokova koje čine 3 tipa ponavljajućih peptidnih sekvenci. Specifične oblasti omogućuju fibronektinu da pomaže adheziju ćelije za ćeliju, vezivanje ćelije za bazalnu membranu, stabilizaciju gružanja, embriogenezu, nervnu regeneraciju, migraciju fibroblasta, funkciju makrofaga i vezivanje patogena za mliječnu žlijezdu i ekstracelularni matriks. Ovaj skup funkcija fibronektina je uključen u patogenezu infekcije. FN se nalazi u rastvorenom obliku u krvi i nerastvoren na ćelijskoj površini i ekstracelularnom matriksu.

**Nelson i sar. (1991) i Mamo (1986 a,b)** smatraju da je adherencija *Staph. aureus* za FN važan korak u procesu infekcije. Na površini *Staph. aureus* je lokalizovan fibronektin vezujući protein (FNBP). Antitijela protiv FNBP *Staph. aureus* smanjuju virulentnost bakterija, pa FNBP može služiti kao vakcinalna komponenta. FN pored toga što prepoznaje *Staph. aureus* ima funkciju prirodnog opsonina, što znači bakterije vezane za FN povećano adheriraju za neutrofile.

**Wanasinghe (1981,b)** navodi da se adherencija smanjuje dejstvom proteolitičkih enzima, antistafilokoknog antiseruma kuniča, mlijeka, a da se povećava dejstvom lipaze pšeničnih klica.

S obzirom da je FN, prema mišljenju velikog broja istraživača, najznačajniji posrednik u vezivanju bakterija za epitelne ćelije, izučavanje njegovih osobina, uticaja na selektivno vezivanje bakterija, uloge u zaštiti

makroorganizma od mikroorganizma je neophodno za razumijevanje mastitisa kao i mnogih drugih bolesti.

Adherencija bakterija za mukozne površine je neophodna za nastajanje infekcija uopšte, pa je potrebno dalje raditi na proučavanju adhezina bakterija i receptora epitelnih ćelija, njihove interakcije, uslova pod kojim ona nastaje i faktora koji na nju djeluju. Proučavanje ovog procesa je značajno za preveniranje nastanka infekcija.

Izučavanje bakterijske adherencije je neophodno ne samo za proučavanje patogeneze mastitisa već i drugih bakterijskih bolesti. Ovaj proces je bitan za kolonizaciju mukoznih površina bakterija, što je uslov za njihov opstanak, odnosno uspješnu borbu sa makroorganizmom.

#### ZAKLJUČAK

Broj adheriranih ćelija sa *Str.agalactiae* se kretao od 32-74, broj adheriranih *Str.agalactiae* na 100 epitelnih ćelija se kretao od 32-578, a indeks adherencije je varirao od 5-100. Broj epitelnih ćelija sa adheriranim *Staph.aureus* se kretao od 16-76, broj adheriranih *Staph.aureus* na 100 epitelnih ćelija se kretao od 41 do 757, a indeks adherencije je varirao od 7 do 100.

S obzirom da je adherencija bakterija za mukozne površine neophodna za nastajanje infekcije uopšte neophodno je dalje raditi na proučavanju "adhezina" bakterija i "receptora" epitelnih ćelija, tj. molekula koji učestvuju u ovom procesu. Izučavanje ove interakcije tj. faktora koji posreduju u adherenciji bakterija za epitelne ćelije može dovesti do novih metoda za kontrolu suzbijanja mastitisa.

#### LITERATURA

1. **Aly R., Levit S. (1987):** Adherence of *Staph. aureus* to squamous Epithelium: Role of fibronectin and Teichoic acid. *Rev. Infect. Dis.* Vol. 9, Suppl. 4, p. 341-350.
2. **Beachy E.H.(1986):** Bacterial adherence: the lipoteichoic acid-mediated attachment of group A streptococci to fatty acid binding sites of fibronectin on oral epithelial cells. *International symposium on Bacteria and host*, Prague, p. 21-26.
3. **Cifrian E., Guidry A. J., O'Brien C. N., Nickerson S. C., Marquardt W. W. (1994):** Adherence of *Staph. aureus* to Cultured bovine mammary Epithelial cells, *Dairy Science*, Vol. 77, No 4.

4. **Cifrian E., Guidry A. J., O'Brien C. N., Marquardt W. W. (1995):** Effect of alpha toxin and capsulae exopolisaccharide on the adherence of *Staph. aureus* to cultured teat, ductal and secretory mammary epithelial cells. *DSA*, Vol. 57. No 4 (2181).
5. **Frost A. J. (1975):** Selective adhesion of microorganisms to the ductular epithelium of the Bovine Mammary gland. *Inf. Immun.* p. 1154-1156.
6. **Frost A. J., Wanasinghe D. D., Woolcock J. B. (1977):** Some factors affecting selective adherence of microorganisms in the Bovine Mammary Gland Infection and Immunity, p. 245-253.
7. **Mamo W., Froman G., Tokkel W., Wadstrom T. (1986, a):** Bacterial adhesion as virulence factor in bovine mastitis: possible role of cell surface hydrophobicity capsule, , fibronectin, fibrinogen and collagen binding. *Proceedings of Symposium on mastitis control*, Espoo, Finland, p. 77-87.
8. **Mamo W., Froman G., Wadstrom T. (1986, b):** Fibronektin, fibrinogen and type II collagen binding to streptococci isolated from bovine mastitis. *Proceedings of Symposium on mastitis control* , Espoo, Finland, p. 89-90.
9. **Nelson L., Flock J.I., Hook M., Lindberg M., Muller H. P., Wadstrom T. (1991):** Adhesins in staphylococcal mastitis as vaccine components. *Flem. Vet. J.*, 62, Suppl. 1, 111-125
10. **Proctor R. A. (1987, a):** Fibronectin: A brief overview of its structure function and physiology. *Reviews of infections Diseases*, Vol. 9, Suppl.4, 317-321.
11. **Ryc M., Havlíček J., Bicova R., Jelinkova J., Rotta J., Totolian A. A., Grabovskaya K. B. (1985):** Electron microscopy of the adherence of group A and B streptococci to human epithelial cells. *International symposium on Bacteria and host.*, Prague, Czechoslovakia, p. 31-35.
12. **Sandholm M., Mattila T. (1986):** Mechanisms of infections and inflammation of the mammary gland - on overview. *Proceedings of symposium on mastitis control*, Espoo, Finland, p. 7-15
13. **Shibl. A. M. (1985):** The interaction between host defense and *Sty. pyogenes* in the presence of antibiotics. *International symposium on Bacteria and host*, Prague. p. 13

- 14. Talafantova M., Mandel L., Dlabač V. (1985):** Studies on the adherence of *E. coli* K88 + to intestinal mucosa of gnotobiotic pigs. International symposium on Bacteria and the host, Abstracts Prague, p. 15
- 15. Wanasinghe D.D. (1981,a):** In vitro adherence of *Staphylococcus aureus* to bovine mammary gland epithelial cells. *Acta. Vet. Scand.* 99-108.
- 16. Wanasinghe D.D. (1981, b):** Adherence as a prerequisite for infection of the mammary gland by bacteria. *Acta. Vet. Scand.* 109-117,

***ADHERENCE OF THE BACTERIA AS A PREREQUISITE FOR  
BEGGING OF THE MASTITIS***

*by*

*Mirjana Bojanić, Vera Katić*

***Summary***

Mastitis are infectious process in mammary gland, the most frequently challenge with pathogenic bacteria.

According Frost (1975,77), the adherence of bacteria for epithelial cells mammary gland cows are important step in beginning of mastitis. The aim of this study was to examine the adherence of *Str. agalactiae* and *Staph. aureus* for epithelial cells mammary gland of cows. Adherence of bacteria were examined in vitro by mixing the suspension of bacteria ( $10^8$ /ml) with the suspension of the epithelial cells ( $10^4$ - $10^5$ /ml). The adherence index of *Staph. aureus* was in the range from 7 to 80, the number of epithelial cells with adhered bacteria was in the range from 16 to 76 and the number of the bacteria adhering to epithelial cells was from 41 to 757. The adherence index of *Str. agalactiae* isolated from milk of the cows from farm was in the range from 5 to 80, the number of epithelial cells with adhered bacteria was from 32 to 74 and the number of bacteria adhering to epithelial cells was from 32 to 578.