

Marja Fossi, Tiina Parviainen, Tarja Pohjanvirta, Sinikka Pelkonen ja Vesa Myllys

Sikadysenteriaa aiheuttavan *Brachyspira hyodysenteriae* -bakteerin serologinen diagnostiikka

Serology of *Brachyspira hyodysenteriae*, causative agent of the swine dysentery

YHTEENVETO

Seitsemältä suomalaiselta sikatilalta eristetyin seitsemän *Brachyspira hyodysenteriae* -kannan sekä kolmen ulkomaisen *B. hyodysenteriae* -viitekannan immunogeenisiä pintarakenteita tarkasteltiin SDS-PAGE-menetelmällä. Silmämääräisessä tarkastelussa kantojen kesken ei todettu yhtäläisiä pintarakenteita, mikä viittaa immunologiseen heterogeenisyyteen myös suomalaisten *B. hyodysenteriae* -kantojen kesken. Kabelle kotimaiselle *B. hyodysenteriae* -kannalle ja kolmelle ulkomaiselle *B. hyodysenteriae* -viitekannalle valmistettujen hyperimmuuniseerumien avulla selvitettiin mikroagglutinaatio (MA), immunodiffuusio ja mikroskooppisen agglutinaatio-testimenetelmän diagnostista spesifisyyttä *B. hyodysenteriae* -tartunnalle. Ristireagointia muiden brakyspiralajien kanssa todettiin kaikilla kolmella menetelmällä. Kun antigeeni käsiteltiin keittämällä, MA-testimenetelmä muuttui sangen kantaspesifiseksi ja tiitterit alenivat. MA-menetelmän diagnostista herkkyyttä kroonisen *B. hyodysenteriae* -tartunnan osoittamiseen tutkittiin kolmelta sikatilalta saatujen seerumien ja yhdeltä tilalta saatujen ternimaitojen avulla. MA-testin herkkyys osoittautui sangen alhaiseksi.

SUMMARY

The immunogenic lipo-oligosaccharides (LOS) of the cell wall from seven Finnish field strains and three ATCC strains of *Brachyspira hyodysenteriae* were compared by SDS-PAGE. The LOS profiles were heterogeneous between the strains. Hyperimmune sera for five *B. hyodysenteriae* strains were used to determine the diagnostic specificity of microagglutination, immunodiffusion and microscopic agglutination tests. The hyperimmune sera cross-reacted with the other species of genus *Brachyspira* using each of these methods. The microagglutination test became strain-specific for *B. hyodysenteriae* when the antigen was boiled. The boiling of the antigen led to lowered titres. Serum samples from three and colostrum samples from one herd with a chronic *B. hyodysenteriae* infection were used to evaluate the diagnostic sensitivity of the microagglutination test in detecting the infection; its sensitivity was fairly low.

JOHDANTO

Brachyspira (*B.*) *hyodysenteriae* aiheuttama sikojen tarttuva veriripuli eli dysenteria heikentää voimakkaasti eläinten hyvinvointia ja tuotantotaloutta. Dysenterian diagnosointi viljelymenetelmällä on hidasta. Näytteenottovirheet ja lääkitys voivat johtaa väärin negatiivisiin tuloksiin. Nopeampia serologisia menetelmiä dysenterian diagnosointiin on ulkomailla tutkittu vaihtelevin tuloksin (La ja Hampson 2001, Diarra ym. 1995). Brakyspirasuvun bakteerien immunogeeniset pintarakenteet ovat pääasiassa lipo-oligosakkarideja (LOS). Ulkomaisissa tutkimuksissa ne on todettu lajinsisäisesti sangen heterogeenisiksi (Halter ja Joens 1988). Tämän tutkimuksen tarkoitus oli arvioida suomalaisten dysenteriabakteerikantojen immunogeenisten pintarakenteiden LOS-profiileita SDS-PAGE-menetelmällä sekä selvittää mikroagglutinaatio (MA), immunodiffuusio ja mikroskooppisen agglutinaatiotestin diagnostista spesifisyyttä *B. hyodysenteriae* -tartunnan MA-testin diagnostista sensitiivisyyttä *B. hyodysenteriae* -tartunnan diagnosointiin tilatasolla.

AINEISTO JA MENETELMÄT

Aineisto koostui dysenteriaa kroonisesti kantavan seitsemän suomalaisen porsastuotantotilan (tilat A–G) näytteistä. Tilat eivät sijainneet lähellä toisiaan. Osalla tiloista oli

tunnistettu dysenterialle tyypillisiä oireita, ja osa tiloista oli oireettomia. Kultakin tilalta tutkittiin yksi (3 tilaa) tai kaksi (4 tilaa) *B. hyodysenteriae*-eristystä. Tilalta A oli 16 ternimaitonäytettä ja 5 seeruminäytettä. Tilalta B oli 23 seeruminäytettä ja tilalta C 15 seeruminäytettä. Kontrolleina käytettiin brakyspirojen ATCC^T-viitekantoja: kolme *B. hyodysenteriae* -kanta (ATCC^T 27164, 31212 ja 49887, vastaten serotyyppijä 1, 2 ja 8), *B. intermedia* (ATCC^T 51140), *B. pilosicoli* (ATCC^T 51139) ja *B. innocens* (ATCC^T 29796). *B. hyodysenteriae*-suhteen negatiivisina kontrolli-ternimaitoina käytettiin yhdeksää ternimaitonäytettä terveysvalvontasikalasta, jolla oli pitkäaikainen historia hyvästä terveystilanteesta. *B. hyodysenteriae* ja *B. pilosicoli*-suhteen negatiivista kontrolliseerumia saatiin neljästä varhaisvieroitetusta koesiasta.

Bakteereiden immunogeenisten pintarakenteiden tarkasteluun otettiin joka tilalta yksi *B. hyodysenteriae* -kanta sekä *B. hyodysenteriae* -serotyyppijä 1, 2 ja 8 edustavat ATCC^T-kannat. Kantojen LOS ekstrahoitui (Goldman ja Leive 1987), denaturoitiin natriumdodekyylisulfaattilla (SDS) ja ajettiin polyakryliamidigeelielektroforeesissa (PAGE) (Laemmli 1970). Saadut LOS-profiilit vertailtiin silmämääräisesti valopöydällä.

Kaneissa valmistettiin hyperimmuniseerumia kahden tilan *B. hyodysenteriae* -kannoille ja kolmelle *B. hyodysenteriae* -serotyyppijä 1, 2 ja 8 edustaville ATCC^T-kannoille. Bakteriini ja antiseerumi valmistettiin Hampsonin ym. (1989) mukaan, paitsi että adjuvanttina käytettiin Freundin epätäydellistä adjuvanttia. Kaikkia serologisia testejä varten antigeeni oli 0,3-prosenttinen formaliinilla inaktivoitu kokosolupreparaatti tai antigeeni oli inaktivoinnin lisäksi keitetty tai sonikoitu.

MA

MA-testi suoritettiin 96-kuoppaisella mikrotiitterilevyllä (Parviainen 2003). Positiivinen tulos todettiin silmämääräisesti harsomaisena agglutinaationa. Tulos oli negatiivinen, jos testilevyn kuopan pohjalla näkyi nappimainen bakteerikasauma. Hyperimmuniseerumit testattiin ristiin *B. hyodysenteriae* ja kontrollikantoja vastaan. Kolmen dysenteriatilan seerumit ja yhden dysenteriatilan ternimaidot testattiin tilan *B. hyodysenteriae* -kanta ja kontrollikantoja vastaan. *B. hyodysenteriae* -negatiiviset kontrolliseerumit ja ternimaidot testattiin kolmea *B. hyodysenteriae* ATCC^T -kanta ja kolmea muuta brakyspiralajia edustavaa kontrollikantaa vastaan.

Immunodiffuusiotesti

Kaksoisimmunodiffuusiotesti suoritettiin Cogginsin agarilla (Parviainen 2003). Levyjä inkuboitui kosteuskammiossa kahteen vuorokauden asti ja tarkkailtiin silmämääräisesti presipitaatioviivojen syntymistä. Kokeita tehtiin vain hyperimmuniseerumeilla, joita testattiin ristiin *B. hyodysenteriae* -kantoja ja kolmen muun brakyspiralajin kontrollikantoja vastaan.

Mikroskooppinen agglutinaatiotesti

Mikroskooppinen agglutinaatiotesti kokosolupreparaatilla suoritettiin mikrotiitterilevyllä (Parviainen 2003). Solujen agglutinoitumista tarkasteltiin pimeäkenttämikroskoopilla. Tiitterin antoi raja, jossa vähintään 50 prosenttia soluista havaittiin agglutinoituneiksi.

TULOKSET

SDS-PAGE

Ajogeelit tarkasteltiin silmämääräisesti valopöydällä. Kotimaisten ja ulkomaisten kantojen kesken ei voitu havaita täysin identtisiä profiileita. Tulos viittaa kantojen immunogeeniseen erilaisuuteen.

MA-testi

Yli 1:80 tiitteri tulkittiin kohonneeksi ja vähintään 1:320 tiitteri

TAULUKKO 1 TABLE

Viiden hyperimmuuniseerumin mikroagglutinaatiotititit viittä *B. hyodysenteriae* -kantaa ja kolmea negatiivikontrollina käytettyä *Brachyspira* -suvun muita lajeja edustavaa kantaa vastaan.

Antibody titres in five hyperimmune sera by microagglutination test. Five *B. hyodysenteriae* strains and three non-*B. hyodysenteriae* strains of the genus *Brachyspira* were used as antigens.

Antigeeni Antigen	Antigeenin käsittely Antigen treatment		Hyperimmuuniseerumi Hyperimmune sera				
			ATCC 27164 <i>B. hyo</i>	ATCC 31212 <i>B. hyo</i>	ATCC 49887 <i>B. hyo</i>	Tila A Herd A <i>B. hyo</i>	Tila B Herd B <i>B. hyo</i>
ATCC 27164 <i>B. hyodysenteriae</i>	keitetty ^{a)}	boiled	320	40	20	20	20
	sonikoitu ^{b)}	sonicated	2560	2560	1280	640	1280
	kokosolu ^{c)}	whole-cell	2560	2560	2560	1280	2560
ATCC 31212 <i>B. hyodysenteriae</i>	keitetty	boiled	10	320	– ^{d)}	10	40
	sonikoitu	sonicated	320	2560	40	160	320
	kokosolu	whole-cell	160	2560	–	160	320
ATCC 49887 <i>B. hyodysenteriae</i>	keitetty	boiled	10	–	80	–	–
	sonikoitu	sonicated	2560	5120	2560	2560	5120
	kokosolu	whole-cell	2560	5120	2560	2560	5120
Tila A <i>B. hyodysenteriae</i>	keitetty	boiled	20	–	20	320	20
	sonikoitu	sonicated	160	320	640	1280	320
	kokosolu	whole-cell	640	1280	1280	1280	1280
Tila B <i>B. hyodysenteriae</i>	keitetty	boiled	20	160	20	10	2560
	sonikoitu	sonicated	80	80	160	160	20480
	kokosolu	whole-cell	1280	2560	1280	640	20480
ATCC 51140 <i>B. intermedia</i>	keitetty	boiled	–	–	–	–	10
	sonikoitu	sonicated	20	20	80	80	160
	kokosolu	whole-cell	80	320	160	320	640
ATCC 29796 <i>B. innocens</i>	keitetty	boiled	–	10	10	–	–
	sonikoitu	sonicated	–	–	–	–	–
	kokosolu	whole-cell	–	–	–	–	–
ATCC 51139 <i>B. pilosicoli</i>	keitetty	boiled	20	20	20	20	20
	sonikoitu	sonicated	640	2560	2560	640	2560
	kokosolu	whole-cell	640	2560	2560	640	2560

^{a)} antigeeni on inaktivoinnin lisäksi keitetty
inactivated antigen was boiled

^{b)} antigeeni on inaktivoinnin lisäksi sonikoitu
inactivated antigen was sonicated

^{c)} inaktivoitu antigeeni
inactivated antigen

^{d)} tiitteri < 10
titre < 10

TAULUKKO 2 TABLE

Dysenteriatilan A ternimaito- ja seeruminäytteiden mikroagglutinaatiotiitterit homologiselle B. hyodysenteriae -kannalle sekä kolmelle muuta Brachyspira-lajeja edustavalle kannalle.

The antibody titres by microagglutination test in colostrum and serum samples from herd A with a history of swine dysentery. A homologous strain of B. hyodysenteriae and three strains of different species of Brachyspira were used as antigens.

Näyte Sample	Nro No.	Antigeeni Antigen			
		<i>B. hyodysenteriae</i>	ATCC 51140 <i>B. intermedia</i>	ATCC 29796 <i>B. innocens</i>	ATCC 51139 <i>B. pilosicoli</i>
Ternimaito	1	40 ^{a)}	40	40	80
Colostrum	2	40	40	40	80
	3	40	40	40	40
	4	80 (20) ^{b)}	40 (- ^{c)}	80 (20)	80 (20)
	5	40	40	80	80
	6	40	160	80	80
	7	40	40	40	80
	8	80 (10)	80 (-)	80 (40)	160 (40)
	9	40	80	80	80
	10	40	40	40	80
	11	40	80	40	80
	12	160 (20)	160 (10)	160 (20)	160 (40)
	13	80 (10)	80 (10)	160 (20)	320 (20)
	14	80 (20)	80 (10)	160 (40)	160 (40)
	15	80 (20)	40 (-)	40 (40)	80 (20)
	16	80 (20)	40 (10)	40 (20)	320 (20)
Seerumi	1	80 (10)	80 (-)	320 (160)	160 (20)
Serum	2	40	80	80	80
	3	20	40	80	40
	4	10	160	80	80
	5	20	40	40	20

^{a)} tulos, kun antigeenina on käytetty inaktivoitua kokosolupreparaattia
the result using an inactivated whole-cell suspension as an antigen

^{b)} suluissa tulos, kun inaktivoitu antigeeni on käsitelty keittämällä
in parentheses: the results using a boiled, inactivated antigen

^{c)} tiitteri < 10
titre < 10

tulkittiin positiiviseksi. Hyperimmuuniseerumeiden antamat tiitterit *B. hyodysenteriae*-kokosolupreparaattia vastaan olivat korkeat (taulukko 1). Antigeenin keittäminen alensi tiittereitä huomattavasti ja kohonneita tai positiivisia tiittereitä saatiin vain homologista antigeeniä käytettäessä. Kun hyperimmuuniseerumeita testattiin käyttäen antigeeneina muista brakyspiralajeista valmistettua antigeenipreparaattia, todettiin sangen korkeita tiittereitä silloin, kun antigeeni oli kokosolu-

preparaatti tai sonikoitu (taulukko 1). *B. pilosicoli* ristireagoi voimakkaasti ja *B. intermedia* kohtalaisesti *B. hyodysenteriae*-antiseerumeita vastaan käytettäessä kokosolu- tai sonikoitua antigeenivalmistetta.

Tilojen A, B ja C seerumi- ja ternimaitonäytteiden vasta-ainetasot *B. hyodysenteriae* vastaan osoittautuivat alhaisiksi (taulukko 2, tila A; muiden tilojen tulokset saatavilla pyydetessä). Kontrollikannat *B. intermedia*, *B. innocens* ja *B. pilosicoli* antoivat useissa tapauksissa

korkeampia tiittereitä kuin tilalta eristetty *B. hyodysenteriae*-kanta. Kun käytettiin keitettyä antigeenipreparaattia, tilan A näytteiden tiitterit jäivät välille 1:10–1:20 ja tilojen B ja C näytteiden tiitterit jäivät lähes poikkeuksetta alle 1:10.

B. hyodysenteriae-tartunnan suhteen negatiivisia kontrolliseerumeita tutkittaessa todettiin yli 1:160 tiittereitä *B. hyodysenteriae* ATCC^T 31212 -kantaan vastaan, kun antigeeni oli käsittelemätön tai sonikoitu. Kontrolliternimaitojen

tiitterit eivät ylittäneet 1:80 millään antigeenin käsittelytavalla (tulokset saatavilla pyydettyäessä).

Immunodiffuusiotesti

Immunodiffuusiotestissä hyperimmuniseerumeilla kaikki antigeeneinä käytetyt *B. hyodysenteriae*-kannat käyttäytyivät melko samankaltaisesti. Suurin seerumilaimennos, jolla vielä saatiin positiivinen tulos oli 1:2. Sekä homologinen että heterologinen antigeenipreparaatti antoi useimmiten positiivisen tuloksen laimennoksella 1:2 (tulokset saatavilla pyydettyäessä). Kontrollikantojen *B. intermedia* ja *B. innocens* reaktiot *B. hyodysenteriae* -hyperimmuniseerumeita vastaan olivat heikompia kuin *B. hyodysenteriae*-kantojen, mutta *B. pilosicoli* antoi selvän ristireaktion. Ainoastaan *B. hyodysenteriae*-kannan ATCC^T 49887 reaktiot voitiin erottaa lajispesifisesti kontrollikantojen positiivisista reaktioista: tämä kanta antoi kaikkia hyperimmuniseerumeita vastaan identtisyysreaktion ja kontrollikantoja vastaan positiivisen, mutta epäidenttisyttä osoittavan reaktion.

Mikroskooppinen agglutinaatiotesti

Testin soveltuvuutta oli mahdollista tutkia vain kokosolupreparaattia antigeenina käyttäen. Hyperimmuniseerumeiden antamat tiitterit homologista antigeeniä vastaan vaihtelivat 1:160 ja 1:640 välillä. *B. hyodysenteriae*-kanta ATCC 31212:lle valmistettu hyperimmuniseerumi ristireagoi *B. intermedia* ja *B. pilosicoli* kanssa. Kenttäseerumeita ja -ternimaitoja testattaessa ei saatu 1:80 ylittäviä tiitereitä yhdelläkään *B. hyodysenteriae*-antigeenipreparaatilla (tulokset saatavilla pyydettyäessä).

POHDINTA

Tyydyttävän serologisen testin tulisi tunnistaa *B. hyodysenteriae*-tartunta ilman mainittavaa ristireagointia muiden brakyspiralajien kanssa. Epäspesifisiä reaktioita voi-

tiin MA-testissä vähentää vain, jos antigeeni keitettiin. Haittana oli testin herkkyyden huomattava aleneminen, jolloin dysenteria-tartuntaa ei kenttänäytteistä mahdollisesti havaita.

Mikroskooppinen agglutinaatiotesti osoittautui MA-testiä epäherkemmäksi ja epäspesifisemmäksi. Immunodiffuusiotestin herkkyyys luonnollisen tartunnan toteamiseksi kenttänäytteistä on myös erittäin todennäköisesti MA-testiä heikompi, sillä hyperimmuniseerumia voitiin laimentaa enintään 1:2 positiivisen tuloksen saamiseksi. Havaitut ristireaktiot *B. pilosicoli* kanssa osoittivat immunodiffuusiotestin myös epäspesifiseksi.

Egan ym. (1983) tutkivat Yhdysvalloissa MA-menetelmällä 19 sikalaa, joissa oli aiemmin todettu dysenteriaongelma. He käyttivät antigeenina *B. hyodysenteriae*en serotyyppi 1:n kuumentamatonta kokosolupreparaattia ja positiivisen tiitterin rajaksi oli asetettu 1:256. He saivat positiivisia tiitereitä 12:n (63 %) tilan seeruminäytteistä; näillä tiloilla 10–54 prosenttia tutkituista eläimistä oli positiivisia. Todettakoon, että Yhdysvalloissa oli tuolloin todettu esiintyvän vain serotyyppiä 1 ja 2. Omassa tutkimuksemme saimme homologista ja keittämätöntä antigeeniä käyttäen kolmen tilan seerumeista kohonneita (>1:80) ja enintään 1:320 tiitereitä 20, 23 ja 73 prosentilla tilan näytteistä. Tulosten luotettavuutta heikentää se, että negatiivikontrolliseerumit antoivat jopa 1:640 tiitereitä *B. hyodysenteriae*en keittämätömällä antigeenipreparaatilla.

Diarra ym. (1995) tutkivat seitsemää kanadalaista dysenteriasikalaa MA-menetelmällä käyttäen keitettyä antigeenipreparaattia. He olivat asettaneet positiivisen tuloksen rajaksi niinkin alhaisen tiitterin kuin 1:10, jolloin tilojen sioista 70–95 prosenttia oli positiivisia. Meidän tutkimuksemme keitettyä homologista antigeeniä käyttäen yhden tilan kaikkien näytteiden tiitterit olivat alle 1:10, yhdellä tilalla yksi (7 %) näyte antoi enimmillään tiit-

terin 1:10 ja yhdellä tilalla kaikki keitetyllä homologisella antigeenillä tutkitut näytteet antoivat tiitterit 1:10–1:20. Havaitsemamme sangen alhaiset tiitterit dysenteriatilojen näytteissä voivat selittyä myös infektiopaineiden erilaisuudella suomalaisten ja niiden ulkomaisten tartuntatilojen välillä, joissa tutkimuksia on tehty.

Tutkimuksemme hyperimmuniseerumeilla osoittivat, että keitettyä heterologista *B. hyodysenteriae* antigeenipreparaattia käytettäessä tiitteri voi jäädä alle 1:10. Tästä voimme päätellä, että MA-testi voi antaa luotettavia positiivisia tuloksia vain, jos antigeenipreparaatti on homologisen tilan infektoineen brakyspirakannan serotyypin kanssa.

ELISA-testi on MA-testiä herkempi menetelmä dysenteriatartunnan serologiseen osoittamiseen, mutta se on serotyypille spesifinen (Mhoma ym. 1992, Egan ym. 1983). Tutkimuksemme, suomalaisten *B. hyodysenteriae*-kantojen keskenään erilaiset LOS-profiilit viittasivat immunogeeniseen heterogeenisyyteen kantojen kesken. Hyperimmuniseerumeilla tekemämme tutkimukset tukevat selvästi olettamusta, että suomalaiset *B. hyodysenteriae*-kannat edustavat useita eri serotyyppiä. ELISA-testin käyttö edellyttäisi testin räätälöintiä kullekin serotyypille erikseen.

EELAN aineistossa *B. hyodysenteriae*-löydösten määrä on selkeästi vähentynyt viime vuosina. Sikaloiden saneeraukset dysenterian hävittämiseksi ovat olleet ilmeisen onnistuneita. Taudin käydessä harvinaiseksi on mahdollista, että *B. hyodysenteriae*-serotyyppien määrä Suomessa on vähentynyt. Koska satunnaistenkin taudinpurkausten lähteen jäljittäminen ulostenäytteistä viljelemällä on erittäin työlästä ja kallista, ELISA-menetelmän soveltamisen edellyttämää kotimaisten *B. hyodysenteriae*-serotyyppien selvittämistä olisi aiheellista jatkaa.

Tutkimusta rahoitti maa- ja metsätalousministeriön Maatilatalouden kehittämisrahasto (4183/501/2001).

KIRJALLISUUS

Diarra, A.T., Achacha, M. & Mittal, K.L. Evaluation of different serological tests for detection of antibodies against *Serpulina hyodysenteriae* in pig sera. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. 18, 1995: 215-221.

Egan, I.T., Harris, D.L. & Joens, L.A. Comparison of microtitration agglutination test and the enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of herds affected with swine dysentery. Am. J. Vet. Res. 44, 1983: 1323-1328.

Goldman, R.C. & Leive L. Electrophoretic separation of lipopolysaccharide monomers differing in polysaccharide length. Teoksessa: Ginsburg, M. (toim.) Methods in Enzymology. Academic Press Inc., New York 1987. Vol.138, s. 267-275.

Halter, M.R. & Joens, L.A. Lipooligosaccarides from *Treponema hyodysenteriae* and *Treponema innocens*. Infect. Immun. 56, 1988: 3152-3156.

Hampson, D.J., Mhoma, J.R.L., Combs, B. & Buddle, J.R. Proposed revision to the serological typing system for *Treponema hyodysenteriae*. Epidem. Inf. 102, 1989: 75-84.

La, T. & Hampson, D.J. Serologic detection of *Brachyspira* (*Serpulina*) *hyodysenteriae* infections. Anim. Health. Res. Rev. 2, 2001: 45-52.

Laemmli, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227, 1970: 680.

Mhoma, J.R.L., Hampson, D.J. & Robertson, I.D. A serological survey to determine the prevalence of infection with *Treponema hyodysenteriae* in Western Australia. Australian Vet. J. 69, 1992: 81-84.

Parviainen, T. Sikojen dysenteria-tartunnan diagnosointi serologisesti - agglutinaatioon ja immunodiffuusioon perustuvien menetelmien soveltuvuus. Espoon-Vantaan teknillinen ammattikorkeakoulu, Vantaa 2003. Insinööriö. 71 s.

Tiina Parviainen
biotekniikan insinööri
EELA,
Bakteriologian tutkimusyksikkö
PL 45
00581 Helsinki

Nykyinen osoite:
C/ General Gallarza 24-4° -Dcha
26500 Calaborra
La Rioja
Spain
Tiinatp@yahoo.com

Tarja Pohjanvirta, ELL
ryhmänjohtaja
EELA
Kuopion tutkimusyksikkö
PL 92
70701 Kuopio

Sinikka Pelkonen, professori
tutkimusyksikön johtaja
EELA
Kuopion tutkimusyksikkö
PL 92
70701 Kuopio

Vesa Myllys, professori
tutkimusyksikön johtaja
EELA
Bakteriologian tutkimusyksikkö
PL 45
00581 Helsinki

Artikkeli perustuu osittain Tiina Parviaisen opinnäytetyöhön (ohjaa ja Marja Fossi).

**KIRJOITTAJIEN
OSOITTEET**

Marja Fossi, tarttuvien eläin-
tautien erikoiseläinlääkäri
Eläinlääkintä- ja elintarvike-
tutkimuslaitos (EELA)
Seinäjoen alueyksikkö
PL 198
60101 Seinäjoki
Pub. (06) 421 8100
050 342 0954
marja.fossi@eela.fi.