

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**Enfermedad de Glasser en ganado porcino**

**POR**

**JEOVANY HERNÁNDEZ LÓPEZ**

**MONOGRAFÍA**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER  
EL TÍTULO DE**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREÓN, COAHUILA**

**DICIEMBRE DE 2016**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Enfermedad de Glasser en ganado porcino

POR

JEOVANY HERNANDEZ LOPEZ

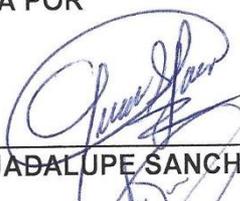
MONOGRAFIA

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACION DEL H. JURADO EXAMINADOR  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

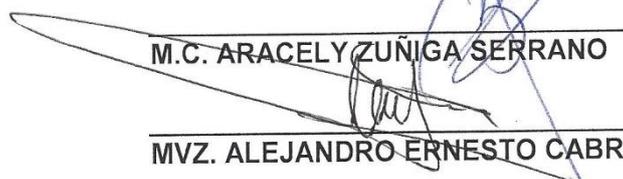
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

PRESIDENTE:

  
M.C. MARIA GUADALUPE SANCHEZ LOERA

VOCAL:

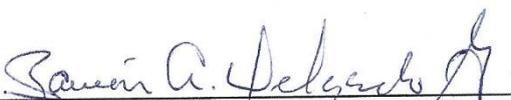
  
M.C. ARACELY ZUÑIGA SERRANO

VOCAL:

  
MVZ. ALEJANDRO ERNESTO CABRAL MARTELL

VOCAL SUPLENTE:

  
MVZ. HILDA RUTH SAGREDO ULLOA

  
M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA

DICIEMBRE DE 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Enfermedad de Glasser en ganado porcino

POR

JEOVANY HERNANDEZ LOPEZ

MONOGRAFIA

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACION DEL COMITÉ DE  
ASESORIA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

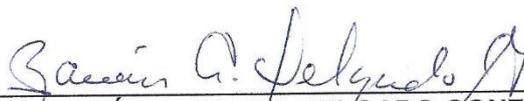
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

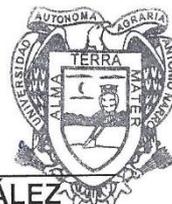


ASESOR PRINCIPAL:

M.C. MARIA GUADALUPE SANCHEZ LOERA



M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA

DICIEMBRE DE 2016

## AGRADECIMIENTOS

**Gracias al creador**, de todas las cosas, el que me ha dado fortaleza y fe para continuar cuando a punto de caer he estado, por ello, con toda la humildad que de mi corazón le brindo mi primer agradecimiento.

**Gracias a mis padres**, ya que, a ellos les debo todo lo que soy, siempre me han apoyado y comprendido en todo lo que he decidido. No hay palabras que puedan explicar lo mucho que les agradezco su ayuda. Ellos han creído siempre en mí, han sufrido cuando yo he sufrido y han disfrutado de mis éxitos tanto como yo. Gracias por apoyarme no solo en esta etapa tan importante de mi vida, sino en todo momento ofreciéndome lo mejor y buscando lo mejor para mi persona.

**Gracias a Mari Sandra** el gran amor de mi vida, por haberme aguantado tanto tiempo estando lejos, por ser mi compañera y amiga, apoyándome cuando más lo necesitaba y creyendo en mi capacidad, aunque hemos pasado momentos difíciles siempre me brindo su comprensión, cariño, amor y dándome motivación para terminar mis estudios.

**Gracias a mis hermanos**, por haberme ayudado y escuchado en este tiempo, me han proporcionado en todo momento optimismo y mucha fuerza.

**Gracias a mi asesora**, MC. María Guadalupe Sánchez Loera por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, así como también haberme tenido toda la paciencia del mundo para guiarme durante todo el desarrollo de mi monografía.

**Gracias a mis amigos**, tanto a los que están aquí como a los que tengo lejos, en especial a mis paisanos narros, por todos esos momentos de diversión y risas que me han ayudado a desconectar de mis problemas o preocupaciones y por el apoyo incondicional que he recibido y por sentirme como en mi casa ya que todos somos una gran familia.

**Gracias a mi Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, por haberme aceptado y ser parte de ella y permitirme convertirme en ser un profesional en lo que tanto me gusta y me apasiona.

**Gracias a mis profesores** que hizo parte de este proceso integral de formación, que deja como producto terminado a este Médico Veterinario.

## DEDICATORIAS

**A mis padres,** Heberto Hernández Santana y Graciela López Ramírez por toda su confianza y el apoyo no solo en esta etapa tan importante de mi vida, sino en todo momento.

**A mis hermanos,** Heber Hernández López y Jammileht Hernández López por darme todo el tiempo optimismo, los quiero mucho.

**A mi esposa,** Mari Sandra Ramírez Torres mi gran amor de mi vida, por darme su apoyo incondicional, te amo.

**A mi tía,** Valentina López Ramírez por su ayuda a seguir adelante en esta etapa de mi vida ya que sin su ayuda este sueño jamás se hubiera cumplido, la quiero mucho.

**A mi tío,** Tiburcio Castañón Hernández que aunque ya no está con nosotros, siempre fue muy buena persona conmigo y siempre me apoyo, este logro también es gracias a él.

**A mis primos,** Luis Alberto Castañón López, Anallely Castañón López y Juan Carlos Castañón López, por apoyarme todo el tiempo y por ser un gran ejemplo a seguir.

**A toda mi familia,** gracias por sus consejos y apoyos incondicionales, mil gracias a todos, este sueño cumplido también es gracias a ustedes.

## RESUMEN

*Haemophilus parasuis* es un microorganismo emergente y considerado patogénico, por colonizar tempranamente las vías respiratorias superiores de los cerdos, el cual puede causar la enfermedad de Glasser, que se caracteriza por una infección grave produciendo poliserositis, meningitis y artritis, principalmente entre la edad de 4 y 12 semanas aunque puede provocar la enfermedad en cerdos en desarrollo y engorda. En la actualidad se han descrito quince serotipos de *Haemophilus parasuis*. Los serotipos individuales difieren en la patogenicidad y existen diferencias considerables en la virulencia en cada serotipo. Los síntomas clínicos de esta enfermedad son muy variables, por lo tanto la detección del agente causal a través de cultivo, particularmente del cerebro, las articulaciones y la poliserositis es una herramienta de diagnóstico esencial. La enfermedad puede ser tratada con antibióticos, sin embargo la resistencia bacteriana es elevada para algunos antimicrobianos que son usados comúnmente en la veterinaria, aunque el *Haemophilus parasuis* se considera un productor de Betalactamasas, algunos antimicrobianos son sensibles para esta bacteria y esto puede ser por que no son de uso común para el control de la enfermedad. Las vacunas comerciales o autógenas se pueden utilizar en la inmunoprolifaxis en cerdas antes del parto y de su progenie después del destete.

**Palabras clave:** *Haemophilus parasuis*, Enfermedad de Glasser, Cerdo.

# Índice

AGRADECIMIENTOS .....	iii
DEDICATORIAS .....	ii
RESUMEN .....	iii
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. MARCO TEORICO .....	3
2.1. <i>Haemophilus parasuis</i> , la infección en cerdos. ....	3
2.2. Aspectos Históricos.....	5
2.3. Características de <i>Haemophilus parasuis</i> .....	5
2.4. Serovariedades de <i>Haemophilus parasuis</i> .....	6
2.5. Factores de virulencia de <i>Haemophilus parasuis</i> .....	7
2.5.1. Interacciones con otros agentes bacterianos o virales .....	9
2.6. Patogénesis de la enfermedad.....	10
2.7. Epidemiología de la enfermedad .....	12
2.8. Descripción general de los mecanismos de inmunidad de <i>Haemophilus parasuis</i> .....	13
2.8.1. Inmunidad innata o natural .....	13
2.8.2. Inmunidad adquirida o adaptativa.....	15
2.8.3. Inmunidad en los cerdos.....	16
2.8.4. Actividad de la inmunidad de las mucosas .....	17
2.8.5. Inmunidad contra <i>Haemophilus parasuis</i> .....	17
2.9. Cuadro clínico y lesional .....	18
2.9.1. Manifestaciones clínicas.....	20
2.9.2. Lesiones de <i>Haemophilus parasuis</i> .....	21
2.9.2.1. Poliserositis fibrinosa.....	21
2.9.2.2. Septicemia.....	23
2.9.2.3. Miositis de los músculos maseteros .....	24
2.9.2.4. Problema respiratorio o neumónico.....	26
2.9.3. Diagnóstico de la enfermedad de Glasser.....	27
2.9.3.1. Aislamiento de <i>Haemophilus parasuis</i> .....	28
2.9.4. Tratamiento contra <i>Haemophilus parasuis</i> .....	29
2.9.5. Control para la enfermedad de Glasser .....	31
2.9.5.1. Vacuna de ADN.....	31
2.9.5.2. Vacunas de fantasmas bacterianos .....	32

2.9.5.3.	Vacunas de OMV purificadas .....	32
2.9.5.4.	Vacunas combinadas .....	33
2.9.5.5.	Vacunas con Cepa LY02.....	33
2.9.5.6.	Vacunas trivalentes del mismo agente .....	35
2.9.5.7.	Vacunación a cerdas adultas .....	37
2.9.5.8.	Inactivación de las cepas .....	38
III.	CONCLUSIONES.....	39
	Abreviaturas .....	40
IV.	BIBLIOGRAFÍA.....	41

## I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Glasser es ocasionada por *Haemophilus parasuis* y fue descrita por primera vez por Glasser, en 1910, como un bastón pequeño, gram negativo, sin embargo esta bacteria a lo largo de los años recibió diversas denominaciones (Kilian, 1976).

*H. parasuis* es un patógeno oportunista comensal de la especie porcina que puede causar la enfermedad de Glasser, teniendo un gran impacto económico de pérdidas por elevados costos de tratamientos, pérdidas de productividad y alta mortalidad (Galina *et al.*, 2014).

Esta bacteria es un patógeno importante de los cerdos pero también es un comensal frecuente de la mucosa de las vías respiratorias superiores, el cual es el primer sitio blanco principalmente, las lesiones de colonización de la mucosa que desarrollan durante la infección se ha propuesto como un medio de acceso a la corriente sanguínea (Mullins *et al.*, 2011a) provocando poliserositis, meningitis, artritis y septicemia, conocida como la enfermedad de Glasser. Históricamente, *H. parasuis* causa la enfermedad en lechones recién destetados, pero con la intensificación de la producción que ahora afecta a un amplio rango de edad (Howell *et al.*, 2014).

El patógeno *H. parasuis* es una bacteria pleomorfica, Gram negativa perteneciente a la familia *pasteurellaceae*. Esta bacteria corresponde a un miembro de la microbiota normal del tracto respiratorio superior de los cerdos sanos (Zhang *et al.*, 2016a).

Se ha clasificado quince cepas de serotipo, con 26 por ciento de ser no tipificables y los aislamientos presentan diferencias en la virulencia (Zhang *et al.*, 2014d). Las cepas particularmente que causan la enfermedad y la muerte de cerdos pertenecen a los serotipos 1, 5, 10, 12, 13, 14, mientras que los serotipos 6, 7, 9 y 11 se consideran no virulentas y las cepas que pertenecen a los serotipos 2, 3, 4, 8 y 15 muestran una virulencia intermedia, causando

poliserositis y causando la muerte en algunos casos (Kielstein y Gabrielson, 1992).

La enfermedad se produce con mayor frecuencia en la edad temprana hasta principios de acabado (de alrededor de las cuatro semanas a cuatro meses de edad) y con frecuencia se asocia a situaciones de estrés, como el destete o en el movimiento a otros corrales (Brockmeier *et al.*, 2014).

La aparición de nuevas bacterias o infecciones virales también puede disminuir la inmunidad y mejorar la infección secundaria por *H. parasuis*, *Circovirus tipo 2* (PCV 2) se ha relacionado con la enfermedad de Glasser como agente primario (Salvagni *et al.*, 2012).

Otro factor que ha desempeñado un papel en el aumento del interés en la infección de *H. parasuis* en la aparición de (PRRS) en América del Norte y Europa, *el síndrome respiratorio y reproductivo porcino* es una causa importante de la enfermedad respiratoria en cerdos en crecimiento y gran parte de la morbilidad y la mortalidad en estos casos se atribuye a los patógenos bacterianos secundarios tales como infección por *H. parasuis* (AACCP, 2006).

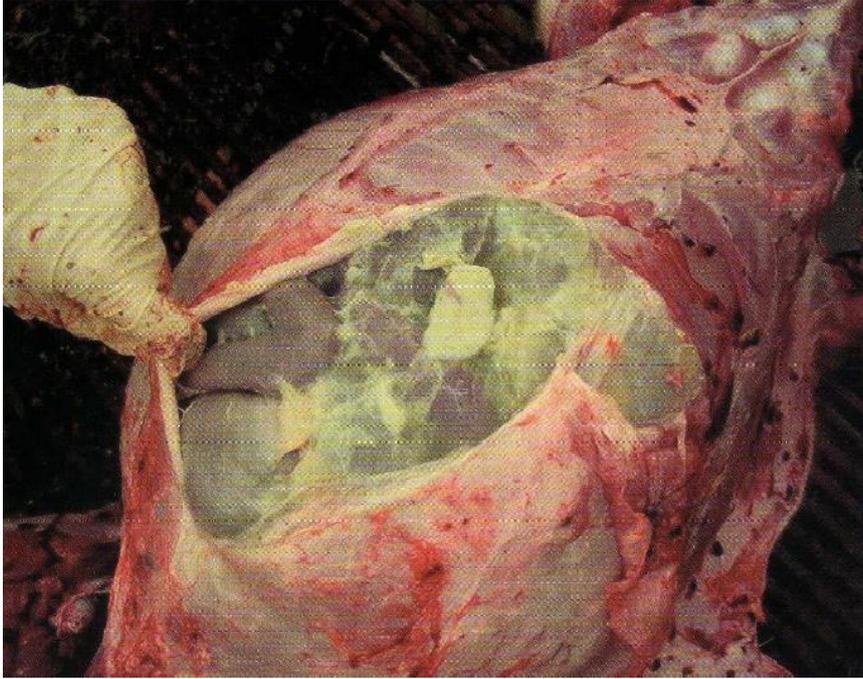
## II. MARCO TEORICO

### 2.1. *Haemophilus parasuis*, la infección en cerdos

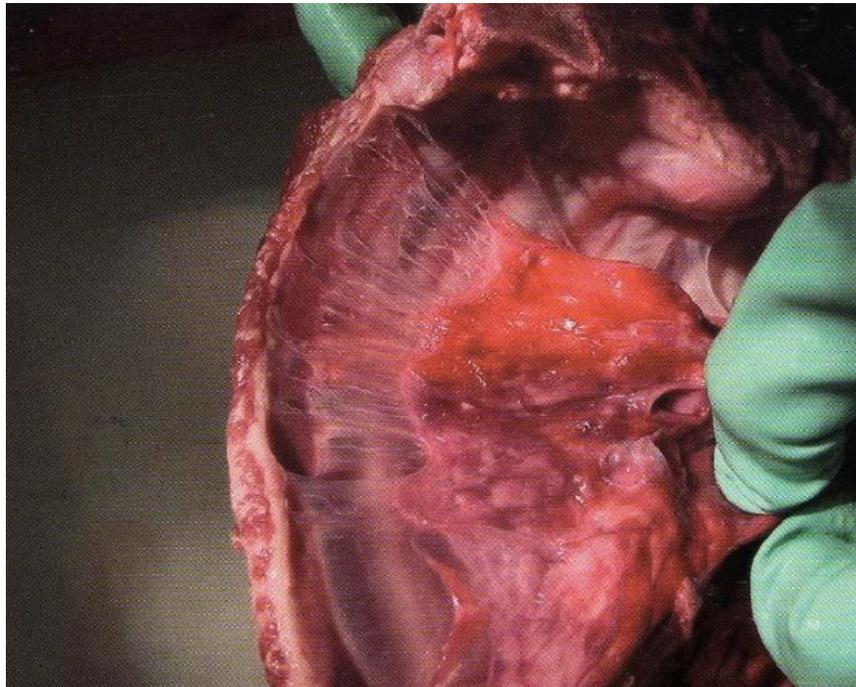
*Haemophilus parasuis* es el agente etiológico de la enfermedad de Glasser en los cerdos, que es caracterizado por una poliserositis fibrinopurulenta, artritis y meningitis, además, participa en otros resultados clínico patológicos como la neumonía, la muerte súbita, causando una elevada morbilidad y mortalidad en las poblaciones porcinas no tratados previamente. Por otra parte, *H. parasuis* coloniza el tracto respiratorio superior de los cerdos a una edad muy joven, por lo tanto, se puede aislar de vías respiratorias de cerdos sanos, aunque algunos serotipos difieren en varias características como su potencial patogénico (Olvera *et al.*, 2007b). Poliserositis es la inflamación general de las membranas serosas como Pericardio (**Figura 1**), peritoneo (**Figura 2**) y pleura (**Figura 3**), en corea, poliserositis es uno de los resultados más comunes en cerdos con retraso de crecimiento, especialmente entre las tres y cinco semanas de edad (Yeonsu *et al.*, 2012). La mortalidad neonatal se refiere básicamente a las muertes que acontecen en la primera semana de vida del lechón, durante la cual se presentan el 90% ciento de las bajas. Las pérdidas asociadas a la mortalidad neonatal pueden representar alrededor del 10% de los costos totales de la explotación (Pérez, 2009).



**Figura 1.** Pericarditis purulenta y fibrinosa (Barcellos y Sobestiansky, 2003).



**Figura 2.** Apertura de la cavidad abdominal, contenido fibrinoso y purulento (Barcellos y Sobestiansky, 2003).



**Figura 3.** Pleuritis (Barcellos y Sobestiansky, 2003).

## 2.2. Aspectos Históricos

En 1910 Glasser, describe una bacteria Gram negativa en los cerdos asociada con una serositis fibrinosa y poliartritis, sin embargo, fue hasta el año 1943 cuando la bacteria fue caracterizada por Hjarre y Wramby, denominándola como *Haemophilus suis* y posteriormente, Lecce en 1960 la renombro como *Haemophilus influenzae suis* (Vahle, 1996). Sin embargo Biberstein y White en 1969 demostraron que *H. parasuis* requiere únicamente para crecer del factor V (Nicotinamida adenina dinucleótido o fosfato de NAD) pero no del factor X (hemina), por lo tanto se denominó a *H. parasuis* como una nueva especie teniendo como prefijo "para" suis para los organismos que no necesitan la suplementación del factor X, así de esta forma finalmente se denominó a el *H. parasuis* en función de su independencia, para crecer, del factor X de coagulación de la sangre (Manrique, 2009).

## 2.3. Características de *Haemophilus parasuis*

*Haemophilus parasuis* es una bacteria pleomorfica, Gram negativa, dependiente de NAD (Nicotinamina adenina dinucleótido), y pertenece a la familia *Pasteurellaceae* (Martin *et al.*, 2009a). Es un bacilo corto y delgado, 0,2  $\mu$  de grosor, variando su longitud de 0,5-2  $\mu$  (Merchant y Packer, 1970). Este microorganismo como es pleomorfico puede variar entre cocos y cocobacilos aislados a largos bacilos, filamentos agrupados en largas cadenas y para su aislamiento es recomendable el uso de medios de cultivo ricos, también se desarrollan fimbrias cuando se cultiva en la membrana corioalantoidea de huevos embrionados de gallina (Stanchi, 2007).

## 2.4. Serovariedades de *Haemophilus parasuis*

Hasta la fecha al menos 15 serotipos se han descrito, con una capacidad variable para inducir la enfermedad severa, con diferencias aparentes en la virulencia (Assavacheep *et al.*, 2012).

Hay una clara correlación entre serovar y virulencia se ha definido, ya que las cepas que pertenecen al mismo serotipo pueden presentar diferentes grados de virulencia. Sin embargo, la serotipificación ha sido útil para la producción de vacunas (Zanolli *et al.*, 2011).

Las cepas de los serotipos 1, 5, 10, 12, 13 y 14, son altamente virulentas y causan la muerte o más morbilidad, entre todos los serotipos las serovariedades 5 y 4 son las más prevalentes entre los aislados reportados en China, Dinamarca, Alemania y Estados Unidos (Sun *et al.*, 2015). Los serotipos más virulentos pueden causar la muerte en cuatro días (Dai *et al.*, 2016). En consecuencia, las siguientes cepas serovariedad 2, 4, 8 y 15 causan poliserositis sin mortalidad y se designaron como una fuente virulenta intermedia, mientras que las serovariedades restantes 3, 6, 7, 9 y 11 no causan ningún síntoma clínico y se considera como no virulento. Otros factores de virulencia importantes de los miembros de la familia *pasteurellaceae* que colonizan el tracto respiratorio superior incluyen: capsula, fimbrias, lipooligosacáridos (LPS) y proteínas de membrana externa (OMP) (Zhang *et al.*, 2016b).

## 2.5. Factores de virulencia de *Haemophilus parasuis*

Varios factores de virulencia que contribuyen a la patogénesis de la enfermedad de Glasser se han reportado en cepas virulentas, aunque diferentes serotipos muestran diferencias significativas en la virulencia y también en un mismo serotipo, los factores de virulencia incluyen los lipooligosacaridos, la proteína de la membrana externa P2, serina proteasa extracelular, autotransportes, capsula, hemolisina, fimbrias y sialilacion, muchas de estas no se han informado totalmente a pesar de muchos años de investigación, los mecanismos de proceso de infección, incluyendo colonización, invasión, patogénesis siguen estando no muy claros, especialmente la supervivencia en el tracto respiratorio superior del cerdo (Zhang *et al.*, 2014c).

Recientemente, varios grupos han tratado de identificar los factores de virulencia de esta bacteria pero aún no se han demostrado. Informes anteriores mostraron una correlación entre el grado de virulencia y el serotipo de la cepa, lo que sugiere un papel de lipooligosacarido y otros polisacáridos en la virulencia de esta especie, también es de destacar que la producción de capsulas que son capas formada de polímeros que en las bacterias se depositan en el exterior celular, estas podrían estar vinculadas a la resistencia a la fagocitosis (Olvera *et al.*, 2009).

Los lipooligosacarido es un potente factor de virulencia de *H. parasuis* aunque no se ha analizado totalmente la resistencia y la adhesión celular, la mayoría de las moléculas de los lipooligosacaridos consisten en dos componentes principales: el lípido A y un oligosacárido núcleo no repetitivo. Los componentes del núcleo de oligosacáridos son el ácido D-mano-octulosonic típicamente 3-desoxi, heptosas (Hep), glucosa (Glu). Galactosa (Gal) y fosfato. La columna vertebral del lípido A esta sustituido en la posición 6 con un disacárido Kdo 2-4 ligado que sirve como aceptor para la trasferencia de la primera heptosa llevado a cabo por la familia heptosyltransferasa (Zhou *et al.*, 2016).

Los lipooligosacáridos de *H. parasuis* median la adhesión a las células endoteliales microvasculares del cerebro porcino y células traqueales del cerdo recién nacido. En un estudio se efectuaron tres heptosas mutantes (DopsX, DrfaF y DwaaQ) del *H. parasuis* de la cepa SC096 y se investigó la resistencia sérica, la adherencia y la invasión, y solo las mutantes DopsX y DrfaF redujeron la capacidad de adherencia e invadir células lo que indica que la heptosa I y II residuos se requieren para la interacción con las células huésped (Xu *et al.*, 2013).

La proteína de membrana externa P2 (OmpP2), un miembro de la familia porin, es la proteína más abundante en la membrana externa de *H. parasuis*, y ha sido identificada como una proteína antigénica y un factor de virulencia potencial (Zhang *et al.*, 2011). Bajo la denominación de proteínas de la membrana externa (OMP), se incluyen las proteínas integrales de la membrana externa y las lipoproteínas que se anclan en ella por su extremo N-terminal. En la respuesta adaptativa de las bacterias patógenas al estrés del medio en que se encuentran, intervienen este tipo de proteínas. La resistencia de algunas bacterias Gram negativas a los péptidos antimicrobianos viene dada por la producción de proteasas asociadas a la membrana externa, que se adhieren a los antimicrobianos degradándolos después (Stumpe *et al.*, 1998).

Las fimbrias es una porción proteica presente en muchas bacterias y que son utilizadas para adherirse a las superficies de las células epiteliales lo cual representa un aspecto importante para la colonización y patogenicidad de numerosas especies bacterianas, se ha estudiado que la producción de fimbrias en *H. parasuis* depende de las condiciones del cultivo (Martínez, 2010).

### 2.5.1. Interacciones con otros agentes bacterianos o virales

Un papel que ha aumentado la infección de *H. parasuis* es por las nuevas infecciones bacterianas o virales que inmunosuprimen a los animales como la aparición de *Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino* (PRRS) en América y Europa (López *et al.*, 2015). Otra de las enfermedades que nos disminuyen la inmunidad para favorecer las enfermedades secundarias como lo es *H. parasuis* es *Circovirus porcino tipo dos* (Torres, 2007). *Bordetella Bronchiseptica* es una bacteria común recuperado de las vías respiratorias porcinas que puede causar rinitis y neumonía, pero tan importante como la enfermedad primaria que causa, es el hecho de que esta bacteria predispone a la colonización de otras bacterias como, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis* y virus como el PRRS. (Brockmeier, 2004).

## 2.6. Patogénesis de la enfermedad

Muchos sitios del cuerpo de las especies de mamíferos proporcionan hábitats para un gran número de especies microbianas, es por eso que han aumentado en los últimos años estudios sobre la microbiota ya que la nariz es el primer lugar donde los microbios encuentran una barrera a la infección, es por eso que la nariz alberga microorganismos importantes que pueden ser patógenos en determinadas circunstancias, entre los microbios que coloniza el tracto respiratorio superior de los lechones sanos se encuentra *H. parasuis* bajo ciertas condiciones (estrés, falta de inmunidad, la presencia de otros patógenos) las cepas virulentas pueden propagarse a los pulmones e invadir los sitios sistémicos, que causa la enfermedad de Glasser (Correa *et al.*, 2016).

El organismo de *H. parasuis*, se considera que es parte de la flora normal de las vías respiratorias superiores de los cerdos, los lechones adquieren el organismo pronto después del nacimiento, pero, debido a la presencia de anticuerpos maternos, rara vez desarrollan la enfermedad (Smart *et al.*, 1989).

La patogenia de la infección por *H. parasuis* no se comprende suficientemente, habiéndose descrito que la bacteria producía una alteración de la mucosa del aparato respiratorio, desde donde se difundía a los vasos sanguíneos al cabo de 12 a 36 horas, distribuyéndose desde allí a los distintos órganos del cuerpo, en los que se asociaba con la presencia de infiltrados inflamatorios (Vahle *et al.*, 1995).

La enfermedad de Glasser con lleva un paso de la bacteria al pulmón antes de invadir la vía sistémica, las cepas no virulentas cuando alcanzan el pulmón son eliminadas por los macrófagos alveolares y cuando son cepas virulentas se induce una clara infiltración de neutrófilos y una inhibición de la activación de los macrófagos alveolares disminuyendo la fagocitosis, al no ser destruidas estas cepas se multiplican dentro del animal y pueden alcanzar el torrente circulatorio, donde sobreviven por ser resistentes al complemento sérico, e invaden otros órganos dando lugar a la enfermedad sistémica, finalmente, la multiplicación de la bacteria induce una fuerte inflamación que es la responsable de las lesiones (Costa *et al.*, 2013).

Las citoquinas juegan un importante papel tanto en la respuesta inmune innata y adaptativa, lo que permite al organismo eliminar patógenos ofensivos, por ejemplo, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 o IL-8 son secretadas antes de la respuesta inmune específica, durante la infección bacteriana e incluso después, cada una de estas citoquinas proinflamatorias muestran tanto los efectos rentables locales y sistémicos pero si sus niveles son excesivas, pueden producir daños en los tejidos, choque endotoxico e incluso la muerte del huésped (Martin *et al.*, 2009b).

En la disminución de la fagocitosis implica varios mecanismos, entre ellos la expresión de capsula bacteriana, además las cepas virulentas son capaces de incorporar ácido sialico a moléculas de superficie, como el lipooligosacarido y el polisacárido capsular, que puede facilitar la evasión del sistema inmune (Bello *et al.*, 2014).

## 2.7. Epidemiología de la enfermedad

En los últimos años, *H. parasuis*, *Actinobacillus suis* y *Streptococcus suis* se han convertido en patógenos importantes de la especie porcina en particular en manadas con excelente estado de salud, estos organismos son primero colonizadores y por esta razón es difícil de controlar por la administración de procedimientos tales como el destete precoz (MacInnes y Desrosiers, 1999).

El conocimiento de la epidemiología de *H. parasuis* dentro y entre las piaras de cerdos, es extremadamente importante para el desarrollo de estrategias de prevención y control de este microorganismo, esta bacteria se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo, es uno de los primeros agentes para colonizar el tracto respiratorio superior de cerdos sanos de granjas convencionales, y la inmunidad natural desempeña un papel importante para evitar que las bacterias invadan los tejidos y causen la enfermedad (Resende *et al.*, 2009). Aproximadamente el 15% - 41% de los aislamientos de campo son no tipificables por serotipificación, En Estados Unidos, la prevalencia de *H. parasuis* prospera y los aislamientos más frecuentes son los serotipos 4 y 5 (Oliveira y Pijoan, 2004).

El curso de la infección por *H. parasuis* es enzootica. La enfermedad se transmite generalmente por contacto directo y la transmisión indirecta solo es hipotética, las cepas patógenas son introducidas en un rebaño por compra de animales de rebaño infectado, todas las categorías de edad son susceptibles a la infección y pueden estar implicados en un brote de la enfermedad (Nedbalcova *et al.*, 2006).

## 2.8. Descripción general de los mecanismos de inmunidad de *Haemophilus parasuis*

Las células del sistema inmune que incluyen linfocitos, granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y monocitos-macrófagos, se forman en la médula ósea a partir de células pluripotentes, a través de un proceso finamente regulado y en la que participan varias citoquinas. Los linfocitos son las células que participan en la inmunidad adquirida o específica. Las células T participan en la inmunidad celular y las células B en la inmunidad humoral. Una tercera subpoblación de linfocitos, las células NK, participan en la inmunidad celular de tipo innata. Los órganos linfoides se pueden clasificar en primarios (timo y médula ósea) y secundarios (bazo, ganglios linfáticos y tejido linfoide asociado a mucosas). En el timo maduran los LT y en la médula ósea los LB. La capacidad de los linfocitos de recircular entre los órganos linfoides secundarios, vasos linfáticos, conducto torácico y vasos sanguíneos les permiten tomar contacto con antígenos en diferentes lugares del organismo (Palomo *et al.*, 2002).

### 2.8.1. Inmunidad innata o natural

La inmunidad innata aporta la primera línea de defensa frente a los microbios. Está constituida por unos mecanismos de defensa celulares y bioquímicos ya instaurados incluso antes de contraerse la infección y preparados para actuar lo más rápido posible. Los mecanismos responsables de esta inmunidad es 1. Barreras físicas y químicas, como los epitelios y sustancias antimicrobianas formadas en la superficie (piel, sudor, mucosas, enzimas, pH, tos, estornudo, movimiento ciliar, flujo de moco, vomito, diarreas, flujo de orina), 2. Células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos) y linfocitos citolíticos naturales (NK). 3. Proteínas sanguíneas como los factores del sistema de complemento y otros mediadores de la inflamación, 4. Proteínas llamadas citoquinas, que regulan, y coordinan muchas de las actividades de las células encargadas de la inmunidad innata (**Tabla 1**) (Abbas *et al.*, 2008).

Como un importante componente de la inmunidad innata son los macrófagos ya que tiene un papel esencial en la defensa del huésped a la infección, ya que a menudo median la muerte de los microbios, así como iniciar, mantener y resolver el anfitrión de las respuestas inflamatorias mediante la liberación de citocinas y quimiocinas (Wang *et al.*, 2012).

En un estudio se demostró que *H. parasuis* o sus lipooligosacárido de la pared celular pueden iniciar la respuesta inmune innata evitando la fagocitosis y de inducir la producción de citoquinas inflamatorias células IL-6 e IL-8 en las células endoteliales microvasculares del cerebro y traqueales del cerdo (Fu *et al.*, 2016).

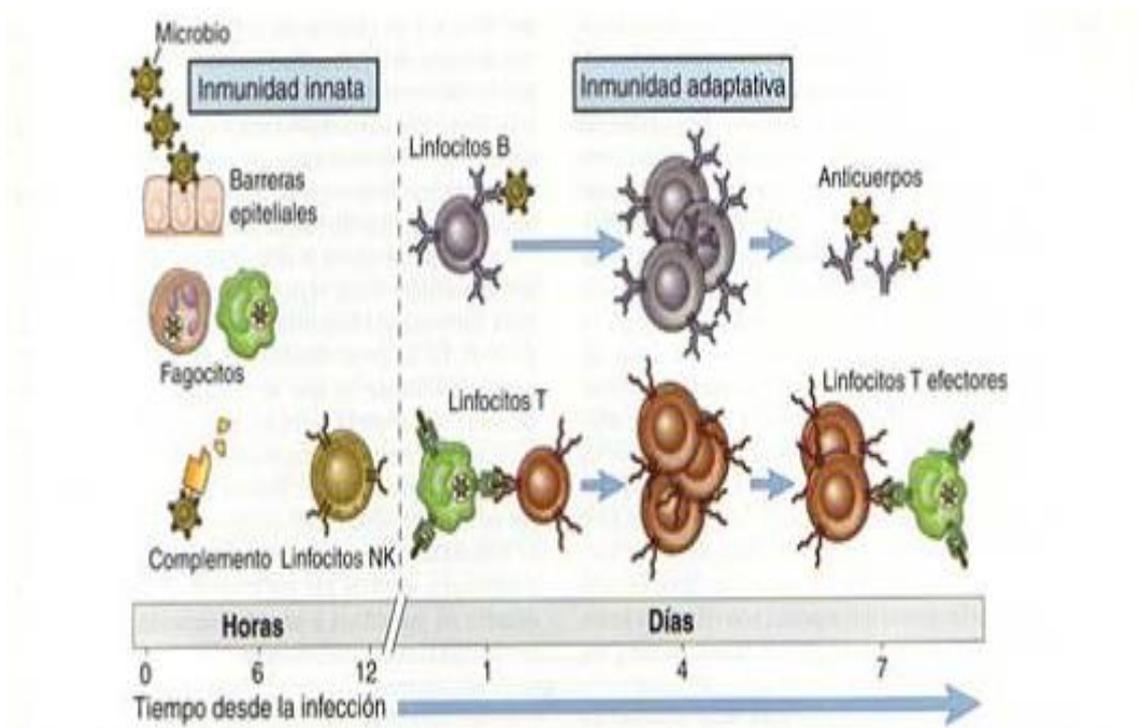
Los factores de virulencia y los mecanismos patogénicos aún no han sido completamente aclarados, sin embargo, se sabe que las cepas virulentas de *H. parasuis* pueden venir sobre la respuesta innata del pulmón que se extiende hasta el torrente sanguíneo, y allí este organismo de hace resistente a complementar el ataque del sistema y desencadena un agotamiento de linfocitos, causando la enfermedad sistémica (Martínez *et al.*, 2016).

	INNATA	ADAPTATIVA
<b>Características</b>		
Especificidad	Frente a las estructuras compartidas por grupos de microbios a fines	Para los antígenos microbianos o no.
Diversidad	Limitada: codificada por la línea germinal	Muy amplia: los receptores se producen por la recombinación somática de segmentos génicos
Memoria	Nula	Si
Falta de reactividad frente a un mismo	Si	Si
<b>Componentes</b>		
Barreras celulares y químicas	Piel, epitelios mucosos: productos químicos antimicrobianos	Linfocitos presentes en los epitelios: anticuerpos segregados en las superficies epiteliales
Proteínas sanguíneas	Complemento, otras	Anticuerpos
Células	Fagocitos (macrófagos, neutrófilos), linfocitos citolíticos naturales	Linfocitos

**Tabla 1.** Diferencias entre la inmunidad innata y la adaptativa o adquirida (Abbas *et al.*, 2008).

### 2.8.2. Inmunidad adquirida o adaptativa

La función del sistema inmunológico adquirido es reconocer antígenos de microorganismos patógenos y organizar una respuesta inmunitaria adecuada para eliminar la fuente de antígeno. Los principales componentes de la inmunidad adaptativa son unas células llamadas linfocitos y sus productos de secreción como los anticuerpos (**Figura 4**). En cambio, las sustancias ajenas que desarrollan una repuesta inmunitaria específica o que constituyen el blanco de tales respuestas son los antígenos. Los linfocitos B reconocen los antígenos extracelulares, mientras que los linfocitos T reconocen los antígenos intracelulares presentados en la superficie de las células del cuerpo (Brostoff *et al.*, 1994).



**Figura 4.** Fases de las respuestas innatas y adaptativa (Abbas *et al.*, 2008).

### 2.8.3. Inmunidad en los cerdos

Al nacer, los porcinos son en general, agammaglobulínemicos, por que la transferencia pasiva de inmunidad desde la madre a través del calostro reviste gran importancia, desde hace tiempo se conoce la relación entre la concentración de anticuerpos pasivos en el suero sanguíneo de los lechones a las 24 horas del nacimiento y su estado de salud hasta el destete. En condiciones naturales el calostro materno es la única fuente de inmunoglobulinas disponibles para el cerdo recién nacido (Benavides *et al.*, 2005). Diversas prácticas, tales con el destete precoz, pueden dar como resultado a la colonización intermitente de los lechones, lo que resulta en la exposición a la bacteria cuando los cerdos se mezclan en el vivero o más tarde después de que los niveles de anticuerpos maternos han disminuido, específicos de tal número de cepas dejando los lechones vulnerables mientras que la coinfección con otras bacterias o virus también pueden aumentar la susceptibilidad a la infección y la enfermedad (Brockmeier *et al.*, 2013).

#### **2.8.4. Actividad de la inmunidad de las mucosas**

Las superficies epiteliales del trato respiratorio representan un componente importante del sistema inmune de las mucosas ya que están expuestas continuamente a la inhalación de antígenos. La inmunoglobulina A (IgA) es esencial para la defensa de la mucosa, ya que se une a los patógenos, los atrapa y sus productos en el moco y los bloquea, pero *H. parasuis* coloniza los trastos respiratorios superiores de los cerdos lo que indica que el patógeno tiene la capacidad de traspasar los mecanismos de defensa de la inmunoglobulina A (Zhang *et al.*, 2014a).

#### **2.8.5. Inmunidad contra *Haemophilus parasuis***

Los cerdos pueden responder casi inmediatamente a un agente infeccioso a través de mecanismos inmunes innatos, que podrían controlar la infección hasta la activación del sistema inmune adaptativo. Poco después de la infección, las bacterias se encuentran con el sistema inmune innato, que se activa cuando los receptores de reconocimiento de patrones (PRRS) incluyendo los receptores tipo toll (TLR), patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs de contacto) e inducir las primeras etapas de la respuesta inmune (Uenishi y Shinkai, 2009).

La invasión bacteriana también activa el sistema del complemento, induce la migración de las células fagocíticas y la producción de diversas citoquinas, que proporcionarían la defensa antimicrobiana, recluta de más células a través del proceso inflamatorio y ayuda en la activación de la inmunidad adquirida. La activación de la respuesta inmune adquirida da como resultado la producción adicional de citoquinas, las células T, la activación de las células B y la producción de anticuerpos. La respuesta inmune adquirida proporciona una memoria específica para la protección contra infecciones posteriores (Macedo *et al.*, 2015).

## 2.9. Cuadro clínico y lesional

El cuadro clínico y lesional depende de las lesiones inflamatorias. En general se reconoce que *H. parasuis* es el agente causante del síndrome de Glasser (poliserositis fibrinosa con poliartritis y meningitis). También en ocasiones se aísla en animales con septicemia aguda y con frecuencia se asocia con lesiones neumónicas macroscópicas, miositis de músculos mesentéricos, al mismo tiempo, se considera que comúnmente está presente en las cavidades de cerdos jóvenes sanos (Morozumi y Nicolet, 1986). Estas diferentes expresiones de la enfermedad dependen de los mecanismos de cada cepa virulenta en ocasiones pueden presentar tos, fiebre, artritis, postración y pérdida de peso, el pelo de los animales tienen mal aspecto y no está asentado, acompañado de cianosis abdominal, engrosamiento de las orejas (**Figura 5**), y presencia de sintomatología nerviosa como pedaleo por meningitis (**Figura 6**) (Blackall y Turni, 2013).



**Figura 5.** Cerdo de 40 kg muerto por enfermedad de Glasser, con necrosis de las orejas y el característico engrosamiento del pabellón auricular visto en muchos cerdos afectados (Smith *et al.*, 1990).



**Figura 6.** Lechón con signos de meningitis (Barcellos y Sobestiansky, 2003).

De los 15 serotipos reconocidos, el 4 y 5 son los más aislados de las vías respiratorias y producen una infección sistémica en los cerdos, además que el serotipo 5 es uno de los principales agentes causantes de la mortalidad neonatal en la industria porcina en todo el mundo, y que el serotipo 4 es el que causa más grandes brotes de la enfermedad en Estados Unidos (Lawrence y Bey, 2015).

### 2.9.1. Manifestaciones clínicas

En la forma aguda las manifestaciones se observan a las tres a ocho semanas de edad, pero puede presentarse en cerdos en crecimiento o engorda, los primeros signos son depresión, temperatura elevada de hasta 41°C, pirexia, inapetencia, seguido de apatía, anorexia, hinchazón de las articulaciones (tarsos y carpos), signos nerviosos como temblores, pelo rizado en lechones destetados o cerdos en engorda (**Figura 7**), también es común ver tos, disnea y cojera. En la forma crónica se caracteriza por retraso de crecimiento con o sin problemas respiratorios en consecuencia de la recuperación de la enfermedad aguda o moderada, pero con lesiones que no cicatrizan y se vuelven crónicas, cuando los animales se ven afectados observamos abortos, disnea y falta de coordinación en cerdas jóvenes y cojera en verracos, del mismo modo una manifestación hiperaguda de la enfermedad es la muerte súbita en lechones sanos, mostrando una mortalidad de 10 a 50% en animales infectados por primera vez (Manrique, 2013).



**Figura 7.** Lechones postrados, con pelo erizado y artritis (Barcellos y Sobestiansky, 2003).

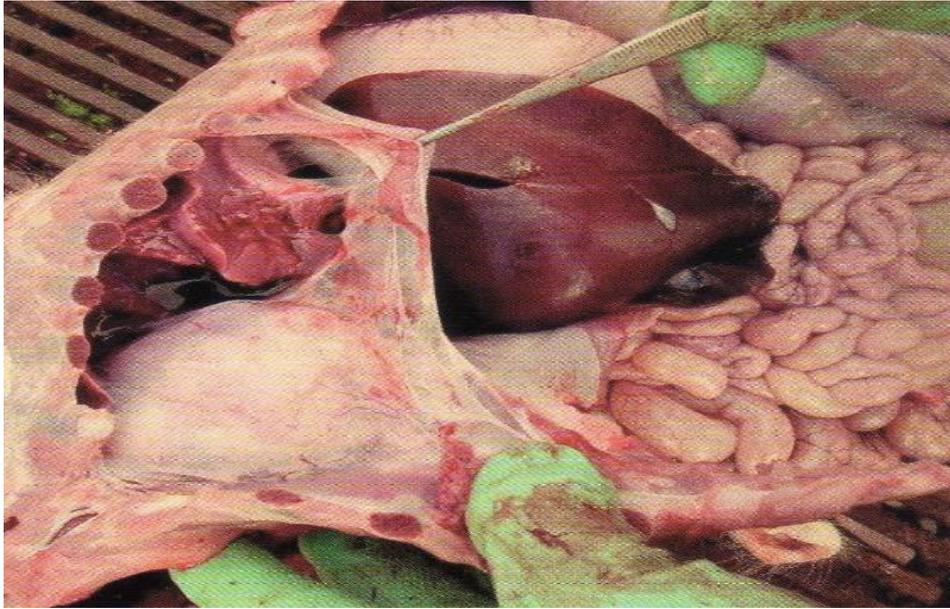
## 2.9.2. Lesiones de *Haemophilus parasuis*

### 2.9.2.1. Poliserositis fibrinosa

El curso de la enfermedad aguda afecta principalmente a animales de entre 5-12 semanas de vida, observándose hipertermia, seguida de inapetencia, pérdida de peso, apatía, y anorexia. En algunas ocasiones se produce un fallo de la circulación periférica, con áreas cianóticas en la piel (**Figura 8**), en algunos casos se observa tos, disnea, con descarga nasal y taquicardia. Los animales suelen presentar inflamación articular, y algunas veces síntomas nerviosos indicativos de meningitis como temblores. Las lesiones que caracterizan esta enfermedad son la poliserositis y poliartritis fibrinopurulenta con fibrina que se dispone en láminas o capas que pueden llegar a cubrir toda la superficie de los órganos (Martin, 2007). En las cavidades torácicas, las lesiones macroscópicas se encuentran con exudado fibrinopurulento en pleura, peritoneo, pericardio (**Figura 9**) y en articulaciones se observa líquido sinovial. Las lesiones en el sistema nervioso central se caracterizan por una inflamación de las meninges, y un aumento del líquido cefalorraquídeo que presenta una tonalidad blanquecina y opaca, causada por la presencia de leucocitos (**Figura 10**) (Torres y Ramírez, 1999).



**Figura 8.** Cerdo muerto de enfermedad de Glasser. Obsérvese la cianosis de las extremidades y las lesiones cutáneas focales (Smith *et al.*, 1990).



**Figura 9.** Pericarditis y Pleuritis (Barcellos y Sobestiansky, 2003).



**Figura 10.** Meningitis (Barcellos y Sobestiansky, 2003).

### 2.9.2.2. Septicemia

En los casos de septicemia se observa depresión a las 16 horas post infección, y a las 24 horas son evidentes la presencia de disnea, cianosis y postración. La temperatura sube inicialmente a 40°C, pero desciende en los momentos previos a la muerte del animal, presentando una alteración de la sangre, con aumento del tiempo de trombina y protrombina, descenso del número de plaquetas y leucopenia, ya a partir de las 24 horas post-infección (**Figura 11**). En la necropsia se encuentra congestión y edema en numerosos órganos. En el estudio histopatológico revela la presencia de microtrombos de fibrina en pulmón, cerebro y riñón y en algunos casos, meningitis, neumonía y poliserositis (Amano *et al.*, 1997).



**Figura 11.** Pulmones de un cerdo de 20 kg muerto de enfermedad de Glasser. Obsérvese la sangre coagulada por efecto de la trombina en la tráquea (Smith *et al.*, 1990).

### 2.9.2.3. Miositis de los músculos maseteros

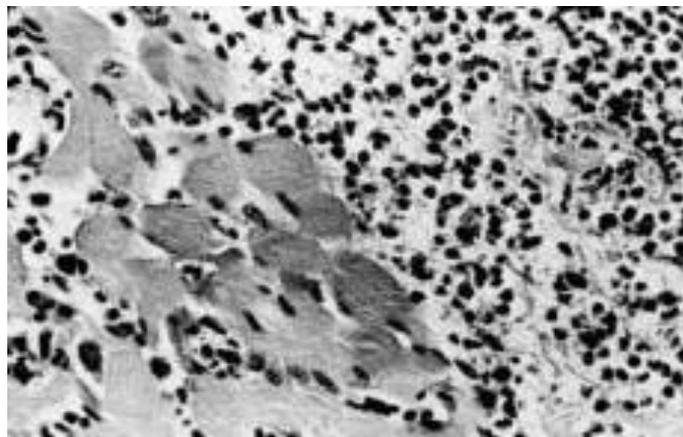
La infección por *H. parasuis* también ocasiona otros tipos de lesiones como lo descrito en cerdas de una granja SPF en el que se mostró que los animales presentaban aumento de temperatura, falta de apetito, debilidad y ataxia pero el rasgo más característico consistía en que en la parte de la cabeza aparecía zonas inflamadas, con grandes áreas cianóticas (**Figura 12 y 13**), durante el estudio histopatológico se mostró un exudado (**Figura 14**) que contenía muchas células inflamatorias en la fascia, grasa subcutánea y endomisio de los músculos macetericos (Hoefling, 1991).



**Figura 12.** Cabeza cianótica e hinchada de una cerda (Hoefling, 1991).



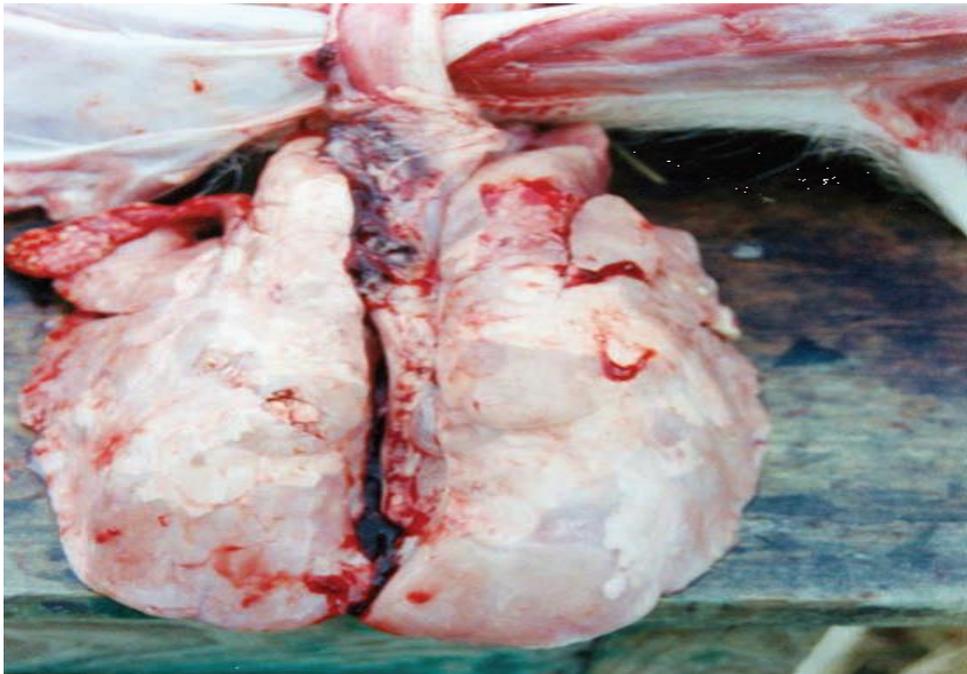
**Figura 13.** Primer plano de las lesiones cutáneas a causa de la enfermedad de Glasser (Smith *et al.*, 1990).



**Figura 14.** Estudio histopatológico que contenía muchas células inflamatorias en la fascia, grasa subcutánea y endomisio de los músculos macetericos (Hoefling, 1991).

#### 2.9.2.4. Problema respiratorio o neumónico

El patógeno *H. parasuis* comúnmente se encuentra en la cavidad nasal de cerdos aparentemente sanos y cerdos con descarga nasal o rinitis, asociándose frecuentemente con neumonía sin embargo (**Figura 15**), su papel exacto en la enfermedad respiratoria no está claro como otros patógenos bacterianos o virales (Jung y Chae, 2004).



**Figura 15.** Pulmones afectados, principalmente los lóbulos anteriores con lobulillos de color rosado intenso a color gris o rojo brillante (consolidación) correspondiente a una neumonía fibrinosa o crupal (Bencomo, 2010).

### 2.9.3. Diagnóstico de la enfermedad de Glasser

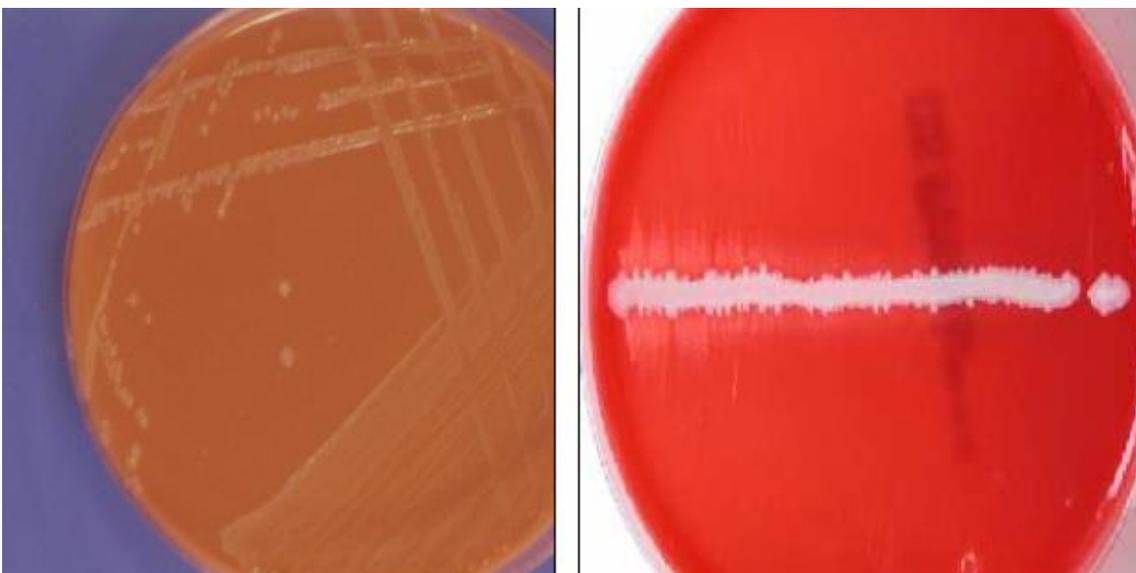
En los últimos años, nuestra comprensión de la dinámica de la infección ha mejorado en gran medida. Técnicas tales como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de este microorganismo en muestras clínicas y genotipificación de los aislamientos de campo ciertamente han mejorado, ya que las técnicas disponibles para *H. parasuis* en el diagnóstico son muy útiles para la vigilancia y el tratamiento de la infección, *H. parasuis* puede aislarse a partir de pulmones con neumonía grave, y puede que sea el principal agente implicado en el desarrollo de esta lesión (Oliveira, 2007).

Los métodos de diagnóstico se basa primeramente en los signos clínicos, hallazgos patológicos y cultivo bacteriano, pero el diagnóstico se complica por la existencia de las cepas no virulentas y principios de la colonización del tracto respiratorio de los cerdos sanos, además de que varias cepas se pueden localizar en una sola granja e incluso dentro de un solo animal por lo que es importante determinar la cepa específica que está causando el brote clínico (Olvera *et al.*, 2007a). Varios métodos de diagnóstico como la Inmunohistoquímica, oligonucleótido específico en placa de captura de hibridación (OSCPH) ensayo, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la aglutinación en placa son necesarios para el diagnóstico rápido de *H. parasuis*, varios métodos serológicos, tales como la fijación del complemento, ELISA, se han desarrollado para la detección de anticuerpos pero los resultados han sido con frecuencia inconsistentes e inexactos (Chen *et al.*, 2015).

### 2.9.3.1. Aislamiento de *Haemophilus parasuis*

*Haemophilus parasuis* es una bacteria lábil y su aislamiento en cultivo puede resultar difícil, debido a esto, la recuperación del microorganismo a partir de las lesiones macroscópicas o de distintos órganos (si la enfermedad adquiere carácter septicémico) proporciona cierta seguridad de que el aislamiento obtenido se relaciona con la enfermedad (Pinto *et al.*, 2012).

Este patógeno es estricto de la especie porcina, la bacteria se desarrolla en las vías respiratorias, pero no en pulmones de cerdos sanos, a través de mecanismos desconocidos algunas cepas pueden propagarse sistémicamente y pueden ser aislados de las cavidades nasales, tráquea, meninges, los pulmones, serosas, articulaciones y la sangre. *H. parasuis* se aísla de muestras clínicas, además es dependiente del factor V (Nicotinamida Adenina Dinucleótido, NAD) para su crecimiento, por lo que debe ser cultivado en agares que incorporan sangre calentada, ser cultivados con una estría de *Staphylococcus aureus* en el medio que le proporcionara el factor V, en agar de chocolate, se recomienda el tiempo de cultivo entre 24-48 horas (**Figuras 16**) (Mullins *et al.*, 2011b).

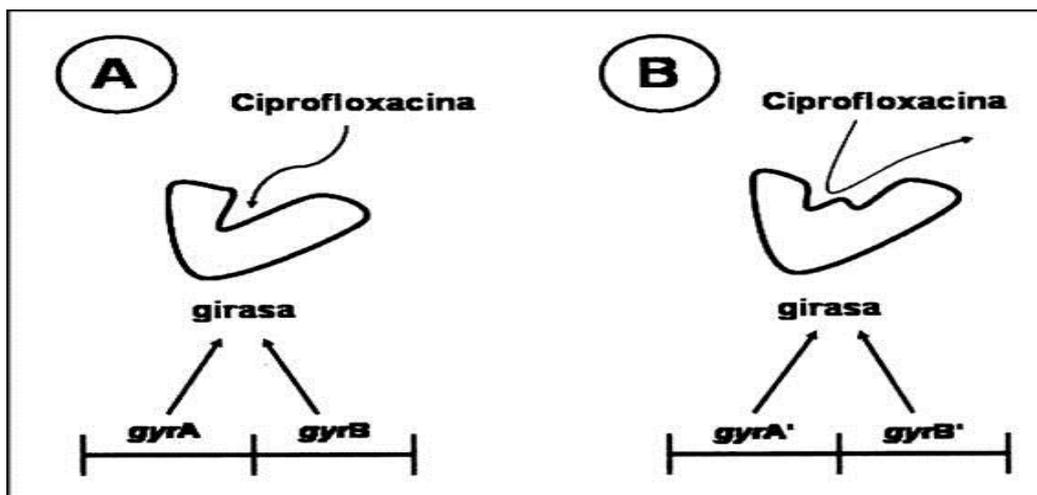


**Figura 16.** Crecimiento de *Haemophilus parasuis* en agar de chocolate (izquierda) y en agar de sangre (derecha) con una estría de *Staphylococcus aureus*. Ambas placas fueron incubadas a 37°C durante 48 horas (Martínez, 2010).

#### 2.9.4. Tratamiento contra *H. parasuis*

El tratamiento de brotes de la enfermedad de Glasser puede tratarse en base a la administración de antibióticos en la ración o inyectables de acuerdo al curso del brote. En un estudio realizado en Dinamarca se mostró que casi todas las cepas de *H. parasuis* son totalmente susceptibles a los antimicrobianos utilizados en la actualidad como son ampicilina, ceftiofur, ciprofloxacina, eritromicina, florfenicol, penicilina, espectinomicina tetraciclina, tiamulina. Dos cepas de *Haemophilus parasuis* fueron resistentes a trimetoprima-sulfametoxazol, seis cepas de *H. parasuis* tenían susceptibilidad reducida en la ciprofloxacina (Aarestrup *et al.*, 2004).

La enfermedad de Glasser es una enfermedad que ha producido grandes pérdidas en la industria porcina en todo el mundo, por lo tanto agentes antimicrobianos se han vuelto cada vez más importantes en contra del patógeno *H. parasuis*. El uso prolongado de las fluoroquinolonas (ciprofloxacina, Enrofloxacin, levofloxacin, norfloxacin y lomefloxacin) en la medicina veterinaria ha ocasionado un aumento de la resistencia a las fluoroquinolonas en *H. parasuis* en muchos países debido a las mutaciones de los genes diana *gyrA* y *gyrB* en la enzima ADN-girasa, la ciprofloxacina interactúa con la girasa, e inhibe su actividad enzimática. Una mutación en cualquiera de ambos genes, *gyrA* y *gyrB*, pueden cambiar la estructura que conforma la girasa y reducir la afinidad de la enzima por la ciprofloxacina (**Figura 17**). Esto resulta en una incapacidad del antibiótico para inhibir la girasa, y la célula se vuelve resistente al antibiótico (Guo *et al.*, 2011).



**Figura 17.** Mecanismo de una posible mutación de los genes *gyrA* y *gyrB*.

Mientras que en España hay una gran resistencia a los betalactámicos para algunas cepas de *H. parasuis* debido a la clonación de una cepa resistente, BB1018, teniendo a la luz un nuevo plásmido PB1000 que expresa funcionalmente activa una ROB-1 betalactamasa, al igual ocurre con las tetraciclinas que indica que hasta un 40% de los aislamientos clínicos son resistentes a las tetraciclinas (Millan *et al.*, 2007).

Aunque las tetraciclinas son los principales antimicrobianos utilizados contra esta bacteria, la resistencia se ha encontrado en muchos casos como en el estudio de Australia donde se aislaron 45 cepas de las cuales dos fueron resistentes a las tetraciclinas (HS256 Y HS1859) debido a un nuevo plásmido (Lancashire *et al.*, 2005).

La formación de biopelículas por microorganismo es un mecanismo que permite convertirse en colonias persistentes que resisten los mecanismos del sistema inmune del huésped y mejora la resistencia a los antibióticos y materiales genéticos de cambio. Las biopelículas se definen como comunidades de microorganismos que se adhieren entre sí y a superficies sólidas y están encerrados en una matriz extracelular compuesta de materiales tanto de los microorganismos y el medio ambiente (Zhang *et al.*, 2014b).

### **2.9.5. Control para la enfermedad de Glasser**

La infección puede ser controlada por un tratamiento antimicrobiano y con la vacunación, actualmente las vacunas disponibles se basan en ciertos serotipos de *H. parasuis*. Por lo tanto, el conocimiento de la distribución de las serovariedades y cepas será de gran información para evaluar los posibles beneficios de la vacunación, sin embargo los intentos de desarrollar vacunas eficaces contra esta bacteria se ha visto obstaculizada por la falta de conocimientos generales sobre los factores de virulencia y antígenos protectores de esta bacteria, ya que la eficacia de la vacuna inactivada varía dependiendo la cepa y el serotipo (Angen *et al.*, 2004).

La vacunación tiene factores importantes en la protección conferida por la vacuna, aparentemente cerdas inoculadas pre-parto transmiten esta inmunidad a los lechones, que son susceptibles a la infección durante las primeras semanas de vida, pero tampoco estos anticuerpos interfieren en una respuesta inmune activa. Este hecho fue la base para un método de inmunización activa de los lechones lactantes, obviamente la cepa a utilizar para inocularse a los lechones debe ser homologa a la de la granja afectada de lo contrario podrían desencadenarse brotes clínicos de la enfermedad (Zielinski, 2006).

#### **2.9.5.1. Vacuna de ADN**

Se han hecho grandes progresos en el desarrollo de las vacunas para controlar la infección de *H. parasuis*, las vacunas de ADN han surgido como un enfoque nuevo para controlar y prevenir la enfermedad, hasta la fecha una vacuna de ADN que codifica *H. parasuis* GAPDH fue diseñada, lo cual son más seguras, estables, fácil de manejar, bajo costo, fabricación rápida y además proporcionan inmunidad celular con un 83,3% y 50% de eficacia protectora frente a la exposición letal de bacteria, serotipo 4 y 5 (Fu *et al.*, 2012).

### 2.9.5.2. Vacunas de fantasmas bacterianos

El método de vacunación con vacunas inactivadas tiene algunas limitaciones, además no hay ningún método disponible para diferenciar entre animales infectados y vacunados, las vacunas inactivadas no contienen la totalidad de los serotipos virulentos que circulan en una región, los fantasmas bacterianos son bacterias extraídas la mayor parte del contenido citoplasmático que contienen propiedades antigénicas e inmunogénicas que no son infecciosos, ya que no contiene ácidos nucleicos (Liu *et al.*, 2016), en china se elaboró una vacuna fantasma, con cepa de referencia serotipo 5 Nagasaki y fue diseñada con diferentes plásmidos incluyendo *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Escherichia coli*, *Bordetella bronchiseptica* y *Pasteurella multocida*, al momento de inocularse a lechones, la eficacia de la vacuna brindó una alta concentración de anticuerpos y de interferón gamma y interleuquinas, cuatro veces mayor que una vacuna inactivada, por lo tanto, es posible que las vacunas de fantasmas puedan ser una alternativa a las vacunas inactivadas tradicionales (Hu *et al.*, 2013).

### 2.9.5.3. Vacunas de OMV purificadas

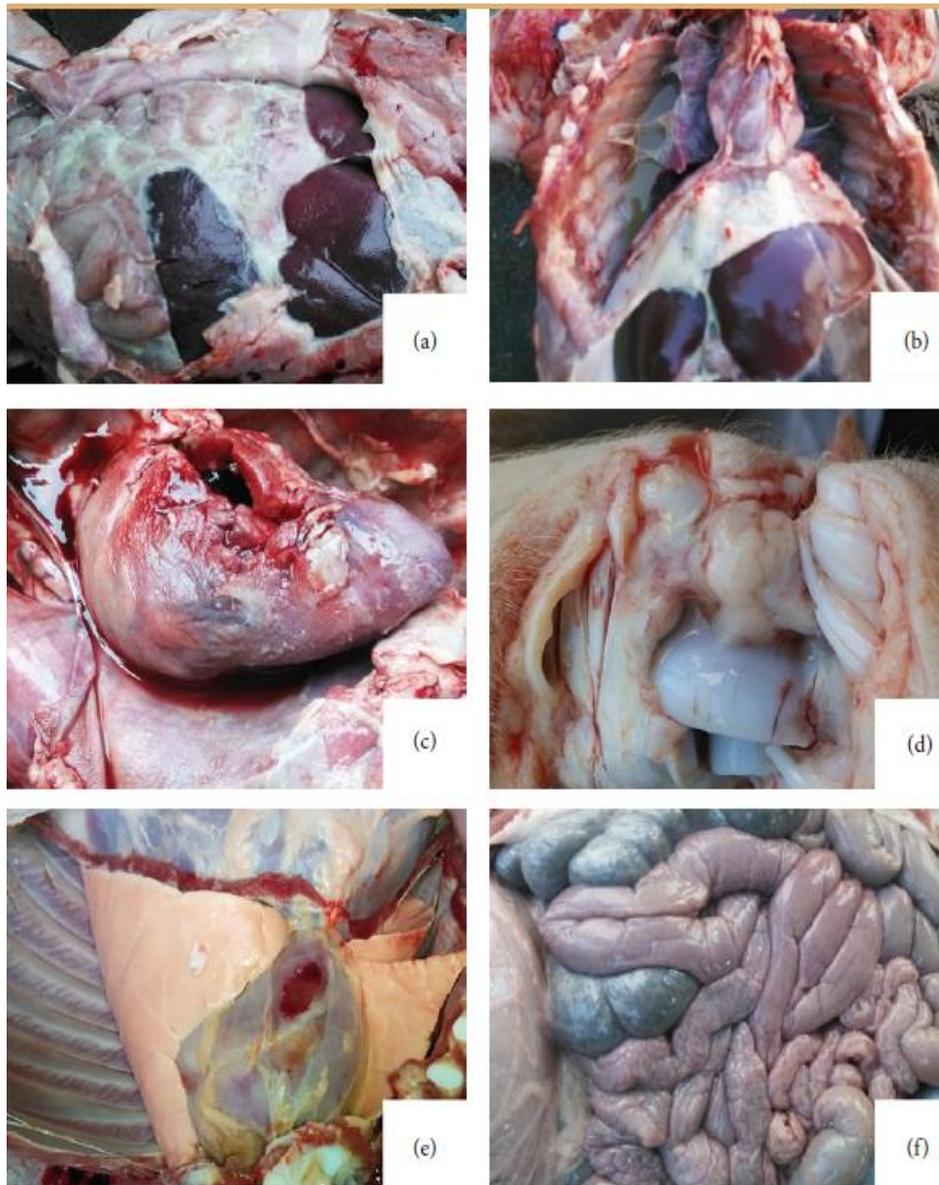
Las Bacterinas comerciales a menudo se utilizan para vacunar cerdos contra *H. parasuis*, aunque la variabilidad de las cepas y la falta de reactividad cruzada puede hacer de este un medio ineficaz de protección. Las vesículas de membrana externa (OMV) son estructuras esféricas liberados de forma natural de la membrana de las bacterias y las OMV a menudo se enriquecen en toxinas, moléculas de señalización y otros componentes bacterianos. El examen de las estructuras de la OMV ha llevado a la identificación de factores de virulencia en una serie de bacterias y se han utilizado con éxito como vacunas de subunidades. Hemos aislado OMV de ambas cepas virulentas y no virulentas de *H. parasuis* y se ha examinado su contenido de proteínas y se evaluó su capacidad para inducir una respuesta inmune en el huésped. La vacunación con OMV purificada derivada de *H. parasuis* ha proporcionado protección contra el desafío de dosis letales de la bacteria (McCaig *et al.*, 2016).

#### 2.9.5.4. Vacunas combinadas

En un estudio comparativo de la eficacia y la compatibilidad de una vacuna por separado o en unión contra *el síndrome reproductivo y respiratorio porcino* (PRRS) y *H. parasuis*, se analizaron tres grupos con 120 lechones cada uno de 26 días de edad, en el grupo A se vacunaron por separado contra *H. parasuis* y PRRS, en el grupo B se vacunaron combinadas y grupo C se mantuvo sin vacunar como grupo control. La tasa de mortalidad durante el periodo de vivero fue mucho mayor en el grupo C que en grupo A, la ganancia media diaria de peso (ADWG) durante la engorda fue mayor en los grupos vacunados que en el grupo control, los dos grupos de cerdos vacunados no desarrollaron la enfermedad y permanecieron en el estudio hasta el sacrificio, la administración combinada no tiene ninguna influencia negativa sobre la eficacia, pero mostro una compatibilidad ligeramente menos que la administrada por separado (Palzer *et al.*, 2015).

#### 2.9.5.5. Vacunas con Cepa LY02

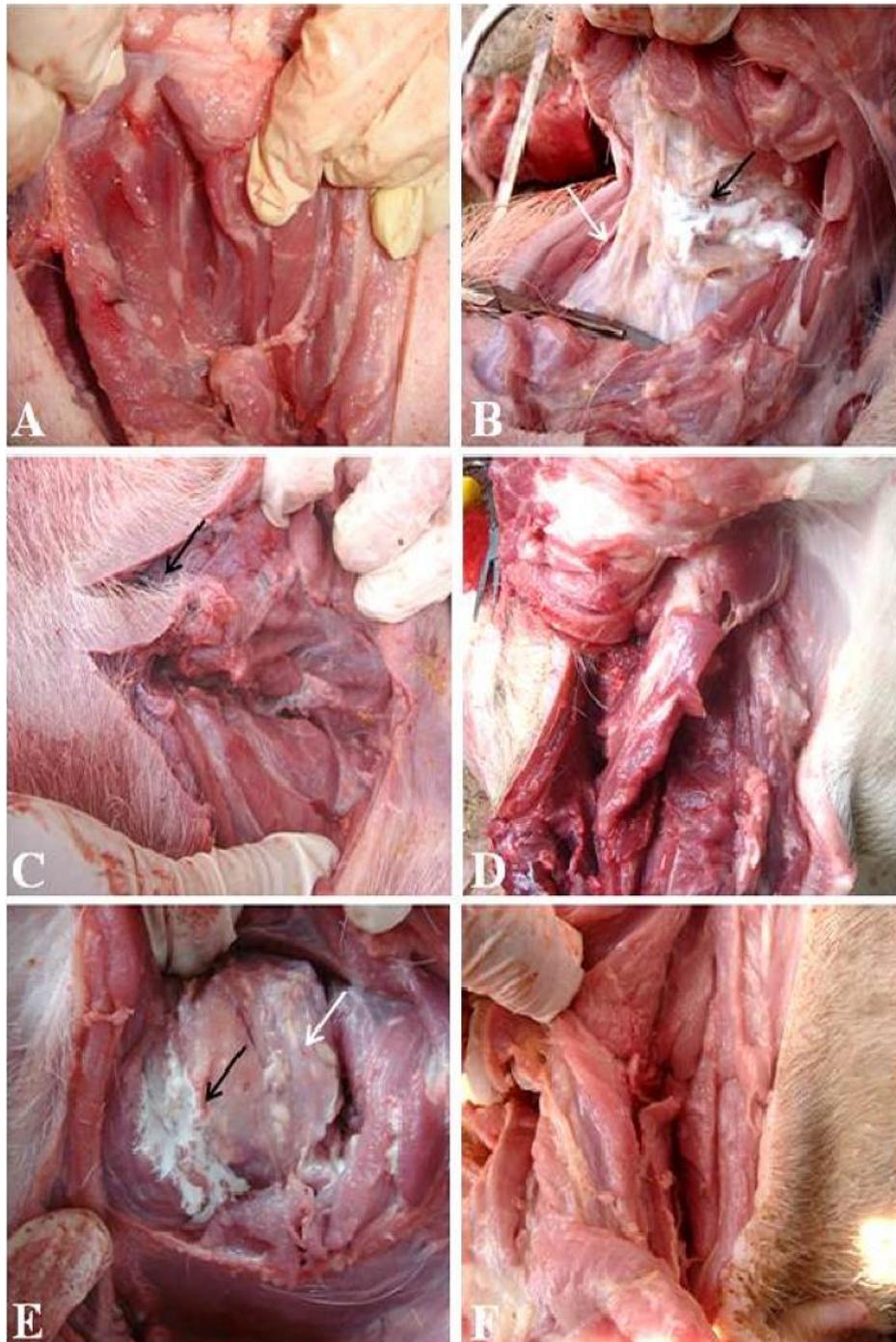
La prevención de la enfermedad de Glasser se basa principalmente en vacunas inactivas sin embargo la eficacia protectora no suele funcionar siempre en desafíos heterogéneos u homologas. Con el fin de identificar una cepa novedosa que podría provocar una protección inmunitaria eficaz contra retos homólogos en china se estudió una cepa LY02 caracterizado del serotipo 5, para evaluar la inmunidad protectora contra la infección aguda de *H. parasuis* en lechones, en el cual solo se observaron lesiones leves en los cerdos inmunizados con la vacuna muerta (**Figura 18**), esto quiere decir que la vacuna utilizada LY02 podría servir como un candidato potencial para prevenir la prevalencia de *H. parasuis* en las diferentes cepas del serotipo 5 (Xiao *et al.*, 2015).



**Figura 18.** Resultados de necropsia macroscópica de lechones desafiados. (A) – (D) contienen capas de fibrina en superficies serosas en tórax, pericardio y cavidad articular de cerdos no vacunados. (E) y (F) lesiones en tórax de cerdos inmunizados (Xiao *et al.*, 2015).

### 2.9.5.6. Vacunas trivalentes del mismo agente

Otro estudio en china revela una nueva vacuna trivalente con ayuda de adyuvantes como el aceite mineral, hidróxido de aluminio y Montanide Gel 01 PR, Montanide IMS 1313N VG y Montanide ISA 760 VG con el fin de encontrar una nueva bacterina inactivada, que pueda proteger contra el serotipo 12 ya que las vacunas comerciales serotipo 4 y 5 de *H. parasuis* no producen inmunidad contra este serotipo, es por eso que se estudió esta nueva vacuna en lechones por separado, examinando el título de anticuerpos y la eficacia protectora, dando como resultado una alta concentración de anticuerpos y un 100% de eficacia protectora para los lechones (**Figura 19**). El grupo de vacuna ALH y IMS no tenían ningún residuo de la reacción adversa solo que proporcionaban bajas concentraciones de anticuerpos, Montanide Gel 01 PR es un adyuvante que puede proporcionar protección en serotipos más homólogos que otras vacunas inactivadas y en desarrollo debe ser utilizado como un adyuvante candidato (Zhao *et al.*, 2015).

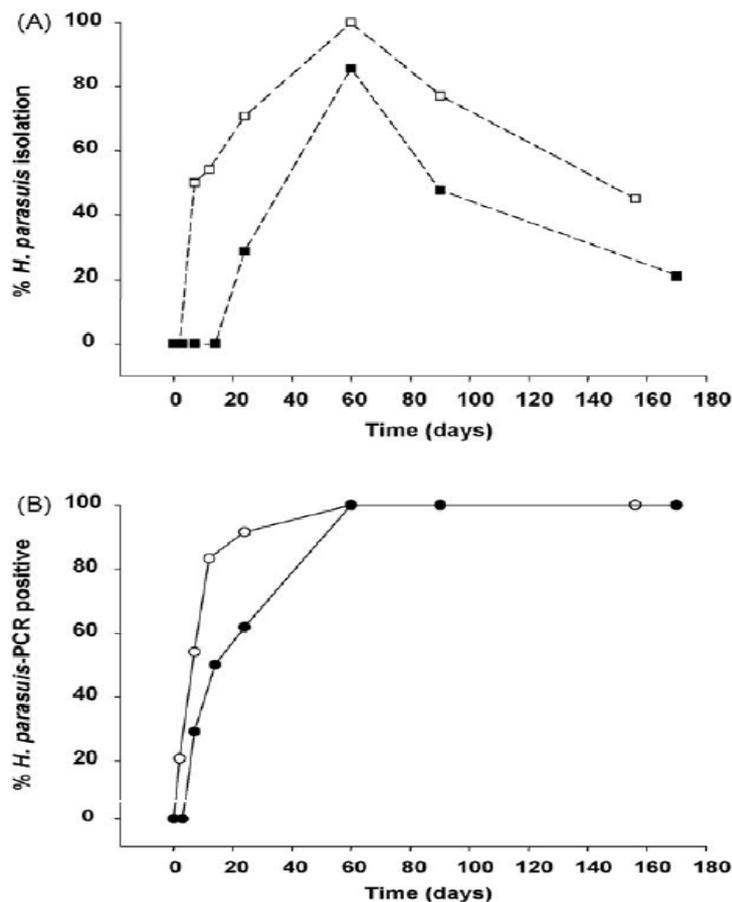


**Figura 19.** Hiperplasia de tejido de granulaci3n y residuos de la vacuna en el sitio de inyecci3n:

A: grupo de control, B: grupo de la vacuna de aceite, C: grupo de la vacuna hidr3xido de aluminio, D: grupo de la vacuna Montanide Gel, E: grupo de la vacuna montanide ISA, F: grupo de la vacuna Montanide IMS, flecha negra: residuos de la vacuna, flecha blanca: hiperplasia de tejido de granulaci3n (Zhao *et al.*, 2015).

### 2.9.5.7. Vacunación a cerdas adultas

Un buen equilibrio entre la colonización y la inmunidad es importante para evitar un brote de una enfermedad. La vacunación a las cerdas gestantes produce más elevación de los niveles de IgG en los tiempos tempranos y posteriormente fueron colonizados más tarde y en un grado menor que los lechones que provenían de cerdas no vacunadas (**Figura 20**). Una alta rotación de cepas se encontraron en ambos grupos de lechones (16 cepas) principalmente en lechones de cerdas no vacunadas, lo que indica que la vacunación en las cerdas en una granja retrasa la colonización en los lechones y reduce el transporte para más colonización de cepas de *H. parasuis* (Cerdea *et al.*, 2010).



**Figura 20.** Detección de *H. parasuis* en lechones de cerdas vacunadas (símbolos negros) y no vacunadas (símbolos blancos) por aislamiento de cultivo bacteriano (A) y detección por PCR (B) (Cerdea *et al.*, 2010).

#### **2.9.5.8. Inactivación de las cepas**

Las vacunas inactivadas de *H. parasuis* son ampliamente utilizadas en la actualidad. A nuestro entender, todas las vacunas para esta bacteria son inactivadas. La mayoría de las vacunas comerciales disponibles en la actualidad son producidas por la propagación de una cepa virulenta de *H. parasuis*. A continuación, las cepas se inactivan con una solución de formaldehído a 37°C durante 48 horas y a continuación los cultivos se sedimentan por centrifugación a alta velocidad y se resuspenden en solución salina taponada con fosfato estéril, y posteriormente, formularse con un adyuvante apropiado, tal como aceite mineral, hidróxido de aluminio, o propóleos. Además de las vacunas monovalentes, hay bivalentes, trivalentes o tetravalentes que incluyen diferentes serotipos y que por lo general proporcionan generalmente un bajo nivel de protección cruzada y son más eficaces contra las serovariedades homologas ya que producen altos niveles de anticuerpos neutralizantes (Li *et al.*, 2015).

### III. CONCLUSIONES

La enfermedad de Glasser afecta solamente a los cerdos, en cuyas fosa nasales se recupera el agente productor, *Haemophilus parasuis* en ocasiones, sin relación con un cuadro clínico alguno, hasta el punto de que representa una de las especies bacterianas más prevalentes en los lechones de una semana de edad, a lo que coloniza precozmente. La colonización en el pulmón por *H. parasuis* se comporta como un agente oportunista, que produce la enfermedad asociada con otros agentes bacterianos o víricos, coincidiendo con una depresión inmune. La enfermedad puede ser tratada con antibióticos sin embargo el costo es bastante y la resistencia bacteriana es elevada para algunos antimicrobianos usados frecuentemente en una área o granja, es por eso que se debe rotar los antibióticos y el manejo de dosis debe ser prioridad del médico veterinario. El control se puede realizar mediante la utilización de vacunas comerciales o autógenas obviamente la cepa a utilizar para inocularse a lechones y hembras gestantes deben ser homologa a la de la granja afectada a lo contrario desencadenaría brotes clínicos de la enfermedad.

## Abreviaturas

Omp P2	Proteína de membrana externa
LPS	Lipooligosacaridos
HEP	Heptosas
GLU	Glucosa
GAL	Galactosa
NK	Linfocitos citolíticos naturales
LT	Linfocitos T
PRRS	Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino
PCV2	Circovirus porcino tipo 2
NAD	Nicotinamina adenina dinucleótido
LB	Linfocitos B
IgA	Inmunoglobulina A
TLR	Receptores tipo toll
PAMPS	Patrones moleculares asociados a patógenos
SPF	Obtención y mantenimiento de lechones donantes
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
OSCPH	Oligonucleótido específico en placa de captura de hibridación
ADN	Acido desoxirribonucleico
GAPDH	Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa
IgG	Inmunoglobulina G
ADWG	Ganancia media diaria de peso
OMV	Vesículas de membrana externa

#### IV. BIBLIOGRAFÍA

- AACP. (2006). Síndrome reproductivo y respiratorio del cerdo (PRRS) y su importancia en la producción porcina. [En línea]. [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar) [Consulta: 10 de octubre de 2016]. pp. 1-10.
- Aarestrup, F. M., A. M. Seyfarth, and O. Angen (2004). Antimicrobial susceptibility of *Haemophilus parasuis* and *Histophilus somni* from pigs and cattle in Denmark. *Journal of Veterinary Microbiology*. 101:142-146.
- Abbas, A. K., A. H. Lichtman y S. Pillai (2008). Introducción al sistema inmunitario. *Inmunología Celular y Molecular*. 6 ed. S.A. EL SEVIER, Madrid, España. pp. 3-8.
- Amano, H., M. Shibata, K. Takahashi, and Y. Sasaki (1997). Effects on Endotoxin pathogenicity in pigs with acute septicemia of *Haemophilus parasuis* infection. *Veterinary Diagnostic Investigation*. 59(6): 451-455.
- Angen, O., B. Svensmark, and R. K. Mittal (2004). Serological characterization of Danish *Haemophilus parasuis* isolates. *Veterinary Microbiology*. 103:255-258.
- Assavacheep, P., A. Assavacheep, and C. Turni (2012). Detection of a putative hemolysin operon, hhdBA, of *Haemophilus parasuis* from pigs with Glasser disease. *Veterinary Diagnostic Investigation*. 24(2):339-343.
- Barcellos, D., y J. Sobestiansky (2003). Enfermedades de Glasser. Atlas de las enfermedades de los cerdos. Pfizer salud animal. Goiania, Brasil. pp. 55-58.
- Bello, O. B., V. Deslandes, D. Y. Tremblay, J. Labrie, J. K. Howell, W. A. Tucker, J. D. Maskell, V. Aragon, and M. Jacques (2014). Biofilm formation by virulent and non-virulent strains of *Haemophilus parasuis*. *Veterinary Research*. 45(104):1-2.
- Benavides, A., J. Almansa, A. Caldron, O. Torres, N. Delgado y G. García (2005). Caracterización preliminar de la inmunidad pasiva natural en granjas porcolas y evaluación de un sistema para incrementar la transferencia de anticuerpos. *Microbiología Agrícola y Veterinaria*. 3(4): 30-35.
- Bencomo, G., A., B. 2010. Principales enfermedades de los cerdos. Neumonías en cerdos. AECID. Managua, Nicaragua. Pp. (27-28).

- Blackall, J. P. and C. Turni (2013). Understanding the Virulence of *Haemophilus parasuis*. *The Veterinary*. 198:549-550.
- Brockmeier, L. S. (2004). Prior infection with *Bordetella bronchiseptica* increases nasal colonization by *Haemophilus parasuis* in swine. *Veterinary Microbiology*. 99:75-78.
- Brockmeier, S. L., C. L. Loving, M. A. Mullins, K. B. Register, T. L. Nicholson, B. S. Wiseman, R. B. Baker, and M. E. Kehrl J. (2013). Virulence, Transmission, and Heterologous Protection of Four Isolates of *Haemophilus parasuis*. *Journal Clinical and Vaccine Immunology*. 20(9): 1466-1477.
- Brockmeier, L. S., B. K. Register, S. L. Kuehn, L. T. Nicholson, L. C. Loving, O. D. Bayles, M. S. Shore, and J. G. Phillips (2014). Virulence and draft genome sequence overview of multiple strains of the swine pathogen *Haemophilus parasuis*. *PLOS ONE* 9(8):1-2.
- Brostoff, J., G. K. Scadding, D. K. Male, and I. M. Roitt (1994). Introduccion a las respuestas inmunitarias, *Inmunología Clínica*. 1 Ed. Madrid, España. pp. 9-10.
- Cerda, C. M., F. J. Naranjo, A. Verge, M. Nofrarias, M. Cortey, A. Olvera, J. Segales, and V. Aragón (2010). Sow vaccination modulates the colonization of piglets by *Haemophilus parasuis*. *Veterinary Microbiology*. 145:315-320.
- Chen, S., Y. Chu, P. Zhao, Y. He, Y. Jian, Y. Liu, and Z. Lu (2015). Development of a recombinant OppA-based indirect hemagglutination test for the detection of antibodies against *Haemophilus parasuis*. *Acta tropica* 148:8-12.
- Correa, F. F., L. Fraile, and V. Aragón (2016). Piglet nasal microbiota at weaning may influence the development of Glasser is disease during the rearing period. *BMC Genomics*. 17(404):1-2.
- Costa-Hurtado, M., A. Olvera, V. Martínez-Moliner, N. Galofre-Mila, P. Martínez, J. Dominguez, and V. Aragón (2013). Changes in Macrophage phenotype after infection of pigs with *Haemophilus parasuis* strains with different levels of virulence. *Journal Infection and Immunity*. 81(7):2327-2333.

- Dai, K., J. Jin, Y. Wen, X. Wen, L. He, S. Cao, X. Huang, R. Wu, and Q. Zhao (2016). Complete genome sequence of highly virulent *Haemophilus parasuis* serotype 11 strain SC1401. *Genome Announcements*. 4(4):e00628-16.
- Fu, S., M. Zhang, J. Ou, H. Liu, C. Tan, J. Liu, H. Chen, and W. Bei (2012). Constructios and immune effect of *Haemophilus parasuis* DNA vaccine encoding glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAODH) in mice. *Vaccine*. 30:6839-6844.
- Fu, S., L. Xu, S. Li, Y. Qiu, Y. Liu, Z. Wu, C. Ye, Y. Hou, and A. H. Chien-An, (2016). Baicalin suppresses NLRP3 inflammasome and nuclear factor-kappa B (NF-kB) signaling during *Haemophilus parasuis* infection. *Veterinary Research*. 47:80
- Galina, P. L., B. Stammen, B. Minton, and D. Amodie (2014). Serologic profiling of *Haemophilus parasuis* vaccinated sows and their litters using a novel oligopeptide permease A enzyme-linked immunosorbent assay reveals unexpected patterns of serological response and maternal antibody transfer. *Veterinary Diagnostic Investigation*. 26(1):125-130.
- Guo, L., J. Zhang, C. Xu, Y. Zhao, T. Ren, B. Zhang, H. Fan, and M. Liao (2011). Molecular characterization of fluoroquinolone resistance in *Haemophilus parasuis* isolated from pigs in south china. *Antimicrobial Chemotherapy*. 66:539-542.
- Hoefling, C. D. (1991). Acute Myositis associated whit *Haemophilus parasuis* in primary SPF sows. *Veterinary Diagnostic Investigation*. 3:354-355.
- Howell, J. K., A. L. Weinert, R. R. Chaudhuri, L. S. Luan, E. S. Peters, J. Corander, D. Harris, O. Angen, V. Aragon, A. Bensaid, M. S. Williamson, J. Parkhill, R. P. Langford, N. A. Rycroft, W. B. Wren, T. M. Holden, W. A. Tucker, and J. D. Maskell (2014). The use of genome wide association methods to investigate pathogenicity, population structure and serovar in *Haemophilus parasuis*. *BMC Genomics*. 15:1179.
- Hu, M., Y. Zhang, F. Xia, G. Li, J. Li, W. Si, S. Liu, S. Hu, Z. Zhang, N. Shen, and C. Wang (2013). Protection of piglets by a *Haemophilus parasuis* ghost vaccine against homologous challenge. *Clinical and Vaccine Immunology*. 20(6):795-802.

- Jung, K. and C. Chae (2004). In-situ Hybridization for the Detection of *Haemophilus parasuis* in Naturally Infected Pigs. *Journal of Comparative Pathology*. 130:294-298.
- Kielstein, P. and R. V. J. Gabrielson (1992). Designation of 15 Serovars of *Haemophilus parasuis* on the basis of immunodiffusion using heat-stable antigen extracts. *Journal of clinical Microbiology*. 30(4):862-865.
- Kilian, M. (1976). A taxonomic study of the genus *Haemophilus*, with the proposal of a new species. *Journal of General Microbiology*. 93:9-62.
- Lancashire, J. F., T. D. Terry, P. J. Blackall, and M. P. Jennings (2005). Plasmid-Encoded tet B Tetracycline resistance in *Haemophilus parasuis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 40(5):1927-1931.
- Lawrence, P. and R. Bey (2015). Map-Based Comparative Genomic Analysis of Virulent *Haemophilus Parasuis* Serovars 4 and 5. *Journal of Genomics*. 3:59-71.
- Li, M., S. Song, D. Yang, C. Li, and G. Li (2015). Identification of secreted proteins as novel antigenic vaccine candidates of *Haemophilus parasuis* serovar 5. *Vaccine*. 33:1695-1701.
- Liu, H., Q. Xue, Q. Zeng, and Z. Zhao (2016). *Haemophilus parasuis* vaccines. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 180:52-58.
- López-Heydeck, S. M., R. A. Alonso-Morales, H. Mendieta-Zeron y J. C. Vázquez-Chagoyan (2015). *Síndrome reproductivo y respiratorio del cerdo* (PRRS). Revisión. *Revista Mexicana de Ciencia Pecuaria*. 6(1):69-68.
- Macedo, N., A. Rovira, and M. Torremorell (2015). *Haemophilus parasuis*: infection, immunity and enrofloxacin. *Veterinary Research*. 46:128.
- MacInnes, J. I. and R. Desrosiers (1999). Agents of the suis-ide Diseases of Swine: *Actinobacillus suis*, *Haemophilus parasuis*, and *Streptococcus suis*. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. 63:83-89.
- Manrique R., P. C. (2009). Estudio bacteriológico y caracterización molecular por ERIC-PCR del *Haemophilus parasuis* en granjas porcinas intensivas de Colombia. Tesis. Maestría. Universidad javeriana, Bogotá, Colombia. pp.29-31.

- Manrique R., P. C. (2013). Identification and partial characterization of acid phosphatases from *Haemophilus parasuis*. Tesis. Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. Bellaterra, España. pp. 3-4.
- Martínez-Martínez, S., E. F. Rodríguez-Ferri, R. Frandoloso, J. J. Garrido-Pavón, S. Zaldívar-López, C. Barreiro, and C. B. Gutiérrez-Martin (2016). Molecular analysis of lungs from pigs immunized with a mutant transferrin protein B-based vaccine and challenged with *Haemophilus parasuis*. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*. 48:69-78.
- Martínez, M. S. (2010). Respuesta de fase aguda y estudio de la inmunidad humoral en cerdos vacunados con diferentes formulaciones frente a *Haemophilus parasuis*. Tesis. Doctorado. Universidad de León. León, España. p. 13.
- Martin F., A. J. (2007). Estudios de inmunidad en cerdos frente a *Haemophilus parasuis*. Tesis. Doctoral. Universidad de león, León, España, pp. 47- 48.
- Martin F., A. J., E. F. Rodríguez-Ferri., R. Frandoloso, S. Martínez, F. Tejerina, and C. B. Gutiérrez-Martin. (2009a). Systemic antibody response in colostrum-deprived pigs experimentally infected with *Haemophilus parasuis*. *Veterinary Science*. 86:248-253.
- Martin F., A. J., E. F. Rodríguez F., F. Tejerina, R. Frandoloso, M. S. Martínez, and C. B. Gutiérrez M. (2009b). Cytokine expression in colostrum-deprived pigs immunized and challenged with *Haemophilus parasuis*. *Veterinary Science*. 87:47-52.
- McCaig, W. D., C. L. Loving, H. R. Hughes, and S. L. Brockmeier (2016). Characterization and Vaccine Potential of Outer Membrane Vesicles Produced by *Haemophilus parasuis*. *PLOS ONE*. 11(3):e0149132.
- Merchant, A. I. y A. R. Packer (1970), *Genero Haemophilus y Bordetella*. *Bacteriología y Virología Veterinarias*. 3 ed, Acribia, Zaragoza, España. pp. 367-375.
- Millán, A. S., J. A. Escudero, A. Catalán, S. Nieto, F. Farelo, M. Gibert, M. A. Moreno, L. Domínguez, and B. González-Zorn (2007). B-Lactam resistance in *Haemophilus parasuis* is mediated by plasmid pB1000 bearing bla ROB-1. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 51(6):2260-2264.

- Morozumi, T., J. Nicolet (1986). Morphological Variations of *Haemophilus parasuis* Strains. *Journal of Clinical Microbiology*. 23(1):138-142.
- Mullins, A. M., B. K. Register, O. D. Bayles, and E. J. Butler (2011a). *Haemophilus parasuis* exhibits IgA protease activity but lacks homologs of the IgA protease genes of *Haemophilus Influenzae*. *Veterinary Microbiology*. 153:407-412.
- Mullins, A. M., B. K. Register, O. D. Bayles, W. D. Dyer, S. J. Kuehn, and J. G. Phillips (2011b). Genome sequence of *Haemophilus parasuis* strain 29755. *Standards in Genomic Sciences*. 5:61-68.
- Nedbalcova, K., P. Satran, Z. Jaglic, R. Ondriasova, and Z. Kucerova (2006). *Haemophilus parasuis* and Glasser's disease in pigs: a review. *Veterinary Medicina*. 51(5):168-179.
- Olvera, A., J. Segales, and V. Aragón (2007a). Update on the diagnosis of *Haemophilus parasuis* infection in pigs and novel genotyping methods. *The Veterinary journal*. 174:522-529.
- Olvera, A., M. Ballester, M. Nofrarias, M. Sibila, and V. Aragón (2009). Differences in phagocytosis susceptibility in *Haemophilus parasuis* strains. *Veterinary Research* 4:24.
- Olvera, A., M. Cerda-Cuellar, M. Nofraria, E. Revilla, J. Segales, and V. Aragón (2007b). Dynamics of *Haemophilus parasuis* genotypes in a farm recovered from an outbreak of Glasser's disease. *Veterinary Microbiology*. 123:1-3.
- Oliveira, S., and C. Pijoan (2004). *Haemophilus parasuis*: new trends on diagnosis epidemiology and control. *Veterinary Microbiology*. 99:1-12.
- Oliveira, S. (2007). *Haemophilus parasuis* diagnostics. *Journal of Swine Health and Production*. 15(2):99-103.
- Palomo, G. I., V. A. Ferreira, C. C. Sepúlveda, S. M. Roseblat, and C. U. Vergara (2002). Inmunidad. *Fundamentos de inmunología Básica y Clínica*. Gutenberg-talca, Chile. pp. 58-60.
- Palzer, A., M. Eddicks, S. Zoels, J. Stark, S. Reese, K. Strutzberg-Minder, K. Fiebig, and M. Ritzmann (2015). Field evaluation of the efficacy, compatibility and serologic profiling of a combined vaccine against *porcine reproductive and respiratory syndrome* and *Haemophilus parasuis* in nursery pigs. *Preventive Veterinary Medicine*. 119:134-140.

- Pérez, F. A. (2009). Prácticas de manejo del lechón en maternidad estrategias para mejorar su sobrevivencia y aumentar la productividad. *Revista Electrónica de Veterinaria*. 11(1):1-5.
- Pinto, J. C., E. S. Calle, y C. S. Morales (2012). Aislamiento de *Haemophilus parasuis* en pulmones de porcinos en Lima, Perú: reporte de tres casos. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 23(4):537-540.
- Resende, M. N., O. S. Rodrigues, L. A. Pereira, y R. M. Carvalho, G. (2009). Epidemiología molecular de *Haemophilus parasuis*. *Ciencia Rural Santa María*. 39(8):2576- 2582.
- Salvagni, C., K., D. D. Sena G., M. L. Zanolli, R. Paixao, C. T. Alen, S. J. Lucio, and M. A. Micke (2012). Characterization of *Haemophilus parasuis* isolated from Brazilian swine through serotyping AFLP and PFGE. *Research in Veterinary Science*. 92:366-371.
- Smart, N. L., O. P. Miniats, S. Rosendal, and R. M. Friendship (1989). Glasser's disease and prevalence of subclinical infection with *Haemophilus parasuis* in swine in southern Ontario. *Journal Canadian Veterinary*. 30:339-343.
- Smith, W. J., D. J. Taylor, y H. C. Penny R. (1990). Enfermedades bacterianas. *Atlas en color de patología porcina*. Mc GRAW-HILL. Madrid, España. pp. 76-124.
- Stanchi, N. O. (2007). *Haemophilus, Histophilus y Avibacterium*, *Microbiología Veterinaria*. 1° ed. Inter médica. Buenos Aires, Argentina. pp 244-253.
- Stumpe, S., R. Schmid, D. L. Stephens, G. Georgiou, and E. P. Bakker (1998). Identification of OmpT as the protease that hydrolyzes the antimicrobial peptide protamine before it enters growing cells of *Escherichia coli*. *Journal Bacteriology*. 180(15):4002-4006.
- Sun, J., X. Xiao, R. J. Huang, T. Yang, Y. Chen, X. Fang, T. Huang, Z. Yu-Feng, and L. Ya-Hong (2015). In vitro Dynamic Pharmacokinetic /Pharmacodynamic (PK/PD) study and CO<sub>2</sub> of Marbofloxacin against *Haemophilus parasuis*. *Veterinary Research*. 11:293.
- Torres A., M. O. (2007). Enfermedades asociadas al *Circovirus porcino tipo 2*. *Latinoamericanos de Producción Animal*. 15(1):155-157.

- Torres-León, M.A., y R. G. Ramírez-Porras (1999). Enfermedades de los porcinos diagnosticadas en la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán durante los años de 1998 a 1997. *Revista Biomed.* 10:93-101.
- Uenishi, H., and H. Shinkai (2009). Porcine Toll-like receptors: The front line of pathogen monitoring and possible implications for disease resistance. *Developmental and Comparative Immunology.* 33:353-361.
- Vahle, J. L. (1996). Pathogenesis of *Haemophilus parasuis* infection in swine. Tesis. Doctoral. Universidad del estado de Iowa, Ames. Estados Unidos. pp. 1-10.
- Vahle, J. L., J. S. Haynes, and J. J. Andrews (1995). Experimental reproduction of *Haemophilus parasuis* infection in swine: clinical, bacteriologic, and morphologic findings. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation.* 7:476-480.
- Wang, Y., C. Liu, Y. Fang, X. Liu, W. Li, S. Liu, Y. Liu, Y. Liu, C. Charreyre, J. C. Audonnet, P. Chen, and Q. He (2012). Transcription analysis on response of porcine alveolar macrophages to *Haemophilus parasuis*. *BMC Genomics.* 13:68.
- Xiao-Hua, L., Z. Guo-Zhen, Q. Long-Xin, D. Ai-Ling, W. Wang-Wei, and Y. Xiao-Yan (2015). Protective efficacy of an inactive vaccine based on the LY02 Isolate against acute *Haemophilus parasuis* infection in piglets. *BioMed Research International.* 2015(ID 649878):8.
- Xu, C., L. Zhang, B. Zhang, S. Feng, S. Zhou, J. Li, Y. Zou, and M. Liao (2012). Involvement of lipooligosaccharide heptose residues of *Haemophilus parasuis* SC096 strain in serum resistance, adhesion and invasion. *The Veterinary journal.* 195:200-204.
- Yeonsu, O., H. Kiwon, W. S. Hwi, P. Changhoon, and C. Chanhee (2012). Program of vaccination and antibiotic treatment to control polyserositis caused by *Haemophilus parasuis* under field conditions. *The Canadian Journal of Veterinary Research.* 77:183-190.

- Zanolli, M. L., C. K. Salvagni, D. D. Sena G., C. T. Alen, T. S. Porfida F., and M. A. Micke (2011). ERIC-PCR Genotypic characterization of *Haemophilus parasuis* isolated from Brazilian swine. *Brazilian journal of Microbiology*. 42:1420-1426.
- Zhang, B., C. Tang, M. Liao, and H. Yue (2014a). Update on the pathogenesis of *Haemophilus parasuis* infection and virulence factors. *Veterinary Microbiology*. 168:1-7.
- Zhang, B., S. Feng, C. Xu, S. Zhou, Y. He, L. Zhang, J. Zhang, L. Guo, and L. Liao (2011). Serum resistance in *Haemophilus parasuis* SC096 strain requires outer, membrane protein P2 expression. *Research Letter*. 326:109-115.
- Zhang, J., C. Xu, H. Shen, J. Li, L. Guo, G. Cao, S. Feng, and M. Liao (2014b). Biofilm formation in *Haemophilus parasuis*: relationship with antibiotic resistance, serotype and genetic typing. *Research in Veterinary Science*. 97:171-175.
- Zhang, L., Y. Li, Y. Wen, W. G. Lau, X. Huang, R. Wu, Q. Yan, Y. Huang, Q. Zhao, X. Ma, X. Wen, and S. Cao (2016a). HtrA is important for stress resistance and virulence in *Haemophilus parasuis*. *Infection and Immunity*. 84(8):2209-2219.
- Zhang, L., Y. Wen, Y. Li, X. Wei, X. Yan, X. Wen, R. Wu, X. Huang, Y. Huang, Q. Yan, M. Liu, and S. Cao (2014c). Comparative proteomic analysis of the Membrane proteins of two *Haemophilus parasuis* strains to identify proteins that may help in habitat adaptation and pathogenesis. *Proteome Science*. 12:38.
- Zhang, Y., Y. Li, W. Yuan, Y. Xia, and Y. Shen (2016b). Autophagy is associated with pathogenesis of *Haemophilus parasuis*. *Frontiers in Microbiology*. 7:1423.
- Zhang, Z. N., Z. D. Hui, H. S. Yang, M. Wang, S. X. Chun, D. Ciren, and Z. X. Quan (2014d). Seroprevalence and risk factors associated with *Haemophilus parasuis* infection in Tibetan pigs in Tibet. *Acta Tropica*. 132:94-97.

- Zhao, Z., Q. Xue, H. Liu, K. Chen, Y. Xue, and L. Wang (2015). First comparison of adjuvant for trivalent inactivated *Haemophilus parasuis* serovar 4, 5 and 12 vaccines against Glasser's disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 168(2015):152-158.
- Zielinski, G. (2006). Enfermedades Re-emergentes: infecciones por *Streptococcus Suis* y *Haemophilus parasuis*. [En línea]. [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar) p. 6.
- Zhou, Q., S. Feng, J. Zhang, A. Jia, K. Yang, K. Xing, M. Liao, and H. Fan (2016). Two glycosyltransferase genes of *Haemophilus parasuis* SC096 implicated in lipooligosaccharide biosynthesis, serum resistance adherence and invasion. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 6:100.