Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

Glaesserella parasuis: nuevos alcances de la enfermedad de Glasser

TESINA

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Arturo Andrés GARCÍA BARRAZA

ASESOR

Mg. Sonia Yenny CALLE ESPINOSA

Lima, Perú

2024



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

García A. Glaesserella parasuis: nuevos alcances de la enfermedad de Glasser [Tesina de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2024.

Metadatos complementarios

Datos de autor 1	
Nombres y apellidos	Arturo Andrés García Barraza
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	45963186
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-1964-9462
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Sonia Yenny Calle Espinosa
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	10321145
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-4955-2378
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Siever Miguel Morales Cauti
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10685645
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Juan José Siuce Moreno
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	42807429
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Virginia Rivadeneira
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	48367422
Datos de investigación	

Línea de investigación	B. 4. 1. 5. Microbiología y Parasitología Veterinaria
Grupo de investigación	No aplica
Agencia de financiamiento	No aplica.
Ubicación geográfica de la investigación	PAIS: PERU DEPARTAMENTO: LIMA PROVINCIA: LIMA Latitud: -12.056445 Longitud: -77.085994
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Enero 2024 - Mayo 2024
URL de disciplinas OCDE	Ciencia veterinaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

ACTA DEL PROGRAMA DE TUTORÍA EN INVESTIGACIÓN PARA OPTAR ELTÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO POR LA MODALIDAD DE EXAMEN DE APTITUD PROFESIONAL

En el auditorio principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día miércoles 12 de junio de 2024, a las 12**:00** horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral **Nº030-PROGR-TUTORIA /FMV-2024**, integrado por los siguientes profesores:

MV. Mg. MORALES CAUTI SIEVER MIGUEL	**Presidente del Jurado**
Blga. Mg. SONIA CALLE ESPINOZA	**Tutora**
MV. Dr. SIUCE MORENO JUAN JOSÉ	**Miembro del Jurado**
MV. Mg. RIVADENEIRA VIRGINIA	**Miembro del Jurado**

Luego de la instalación del Jurado a cargo del Presidente y bajo la dirección del mismo, el Bachiller Don**: ARTURO ANDRÉS GARCÍA BARRAZA**, para optar el Título Profesional de Médico Veterinario, procedió a la sustentación pública del tema de investigación:

"GLAESSERELLA PARASUIS: NUEVOS ALCANCES DE LA ENFERMEDAD DE GLASSER"

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria del Tutor y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **dieciocho (18)**.

Habiéndose aprobado la sustentación pública del tema de investigación, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que esta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **13:37 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de la Tesina en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:

UNMSM Firmado digitalmente por MORALES CAUTI Siever Miguel FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 28.06.2024 13:29:06 -05:00

Morales Cauti Siever Miguel MV. Mg.Prof. Asociado TC

UNMSM Firmado digitalmente por CALLE ESPINOZA DE CAMACHO Sonia Yenny FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 28.06.2024 12:09:15 -05:00

Calle Espinoza Sonia Yenny Blga. Mg. Prof. Principal DE

UNMSM Firmado digitalmente por SIUCE MORENO Juan Jose FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 28.06.2024 10:50:21 -05:00

Siuce Moreno Juan José: MV. Dr. Prof. Auxiliar DE

Rivadeneira Virginia: MV. Mg. Prof. Auxiliar.DE

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SANMARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA)
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

UNIDAD / LABORATORIO DE BACTERIOLOGIA Y MICOLOGIA
Av. Circunvalación cdra. 28 s/n San Borja

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Que habiendo pasado por el TURNITIN la tesis sobre **"GLAESSERELLA PARASUIS: NUEVOS ALCANCES DE LA ENFERMEDAD DE GLÄSSER"** cuya autoría es del MV. Arturo Andrés García Barraza para obtener el grado de Medico Veterinario en la Facultad de Medicina Veterinaria. Correspondiente al Programa de Tutoría en Investigación por la Modalidad del Examen de Aptitud Profesional para Optar el titulo de Medico Veterinario. Cuyos resultados del análisis son del 3% de similitud.

Doy fe y solicito seguir con los trámites pendientes los 23 días del mes de junio del 2024

San Borja, 24 de junio de 2024

UNMSM
Firmado digitalmente por CALLE ESPINOZA DE CAMACHO Sonia Yenny FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 24.06.2024 15:56:52 -05:00

.....

Dra. Sonia Calle Espinoza
Profesora Principal. DE
Asesor de Tesis
scallee@unmsm.edu.pe

ÍNDICE

RESUMEN i

ABSTRACT ii

LISTA DE CUADROS iii

LISTA DE FIGURAS iv

I. INTRODUCCIÓN 5

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 7

2.1. GENERALIDADES DE LA ENFERMEDAD DE GLÄSSER 7

2.1.1. Importancia 7

2.1.2. Etiología 7

2.1.3. Taxonomía y clasificación 8

2.2. EPIDEMIOLOGÍA 18

2.2.1. Hospedadores 18

2.2.2. Transmisión 18

2.2.3. Colonización 18

2.2.4. Frecuencia de serovares aislados de GPS 19

2.2.5. Factores de riesgo 23

2.3. VIRULENCIA DE LOS AISLADOS DE *Glaesserella parasuis* 25

2.3.1. Factores de virulencia 25

2.3.2. Virulencia y serovares 29

2.4. PATOGENIA DE LA ENFERMEDAD DE GLÄSSER 31

2.5. SIGNOS CLÍNICOS 32

2.6. LESIONES 33

2.6.1. Macroscópicas 33

2.6.2. Microscópicas 34

2.7. DIAGNÓSTICO 35

2.7.1. Diagnóstico lesional diferencial 35

2.7.2. Diagnóstico microbiológico 36
2.7.3. Diagnóstico serológico 37
2.7.4. Diagnóstico molecular 38
2.8. TRATAMIENTO 39
2.8.1. Tratamiento antibiótico 39
2.8.2. Tratamiento alternativo 40
2.9. RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS (RAM) 40
2.10. PREVENCIÓN Y CONTROL 44
2.10.1. Manejo de animales en granja 44
2.10.2. Adecuado uso de antibióticos 45
2.11. VACUNACIÓN 46
III. OBJETIVOS 49
IV. METODOLOGÍA 49
V. CONCLUSIONES 50
VI. BIBLIOGRAFÍA 51

RESUMEN

Glaesserella parasuis, agente causal de la enfermedad de Glässer, continúa siendo una de las causas bacterianas más importantes de mortalidad en la producción porcina en todo el mundo. Los signos clínicos de los cerdos infectados varían desde fiebre, signos respiratorios, artritis con cojera, alteración del sistema nervioso central y muerte súbita. Las infecciones crónicas se asocian con tasas de crecimiento reducidas, cojeras y pelo hirsuto. Los principales hallazgos patológicos incluyen poliserositis fibrinopurulenta, poliartritis y meningitis, en su forma aguda. El conocimiento sobre la bacteria y la enfermedad ha ido modificándose durante los últimos años. En la presente revisión se detalla sobre distintos aspectos de *Glaesserella parasuis* como la reclasificación taxonómica, las nuevas técnicas de serotipificación y la frecuencia de los serovares en distintas regiones del mundo; así mismo la importancia de los genes *vtaA* como predictores de la virulencia de los aislados y la relevancia que está alcanzando el serovar 7 en la enfermedad de Glässer. Otro punto importante es el diagnóstico de la enfermedad desde el cuadro lesional hasta su confirmación por pruebas de laboratorio como el cultivo microbiológico y las pruebas moleculares que han permitido una evaluación más rápida, sensible y específica para la identificación de especie y serovar de *Glaesserella parasuis*. Por último, la secuenciación del genoma completo es otra herramienta que permite conocer mejor la epidemiologia molecular y la virulencia de los aislados, para aplicar estos conocimientos en el diagnóstico, control y prevención de la enfermedad de Glässer.

Palabras clave: *Glaesserella parasuis*, Enfermedad de Glässer, serovares, *vtaA*, virulencia, diagnóstico, control y prevención

ABSTRACT

Glaesserella parasuis continues to be one of the most important bacterial causes of mortality in swine production worldwide. The clinical signs of infected pigs are fever, respiratory signs, arthritis with lameness, alteration of the central nervous system and sudden death. Chronic infections are associated with reduced growth rates, lameness and shaggy hair. The most important pathological findings include fibrinopurulent polyserositis, polyarthritis and meningitis, in its acute form, known as Glässer's disease, which is one of the most prevalent bacterial infections in swine worldwide. Knowledge about the bacteria and the disease has been changing in recent years. This review details different aspects of *Glaesserella parasuis* such as taxonomic reclassification, new serotyping techniques and the frequency of serovars in different regions of the world; Likewise, the importance of the *vtaA* genes as predictors of the virulence of the isolates and the relevance that serovar 7 is achieving in Glässer disease. Another important point is the diagnosis of the disease from the lesion until its confirmation by laboratory tests such as microbiological culture and molecular tests that have allowed a faster, more sensitive and specific evaluation for the identification of species and serovar of *Glaesserella parasuis*. Finally, whole genome sequencing is another tool that will allow us to better understand the molecular epidemiology and virulence of the isolates and apply this knowledge in the diagnosis, control and prevention of Glässer disease.

Keywords: *Glaesserella parasuis*, Glässer's disease, serovars, *vtaA*, virulence, diagnosis, control and prevention

LISTA DE CUADROS

	Descripción	Pág.
Cuadro 1.	Taxonomía de *Glaesserella parasuis.*	8
Cuadro 2.	Comparación de pruebas bioquímicas entre *Glaesserella parasuis*, *Glaesserella australis* y otros *Pasteurellaceae.*	9 y 10
Cuadro 3.	Pruebas bioquímicas diferenciales del género *Haemophilus* y *Glaesserella.*	11
Cuadro 4.	Características de los tres linajes de aislados norteamericanos de *Glaesserella parasuis.*	14
Cuadro 5.	Distribución de secuenciotipos (ST) y serovares de *Glaesserella parasuis* en siete granjas porcinas.	16
Cuadro 6.	Perfiles de secuenciotipos de aislados de *Glaesserella parasuis* (2012-2023).	17
Cuadro 7.	Perfil genotípico de seis aislados peruanos de *Glaesserella parasuis.*	17
Cuadro 8.	Frecuencia de serovares de *Glaesserella parasuis* en diferentes países (1992-2018).	21
Cuadro 9.	Frecuencia de serovares de *Glaesserella parasuis* en diferentes países (2019-2023).	22
Cuadro 10.	Factores de virulencia descritos en *Glaesserella parasuis.*	26
Cuadro 11.	Clasificación de genes *vtaA.*	27
Cuadro 12.	Importancia de los genes *vtaA* del grupo 1 en cepas virulentas de *Glaesserella parasuis.*	28 y 29
Cuadro 13.	Diferencia entre grados de virulencia de serovares de *Glaesserella parasuis.*	30
Cuadro 14.	Porcentaje de resistencias a los antimicrobianos evaluados por concentración mínima inhibitoria en diferentes países (2007-2014).	42
Cuadro 15.	Porcentaje de resistencias a los antimicrobianos evaluados por concentración mínima inhibitoria en diferentes países (2018-2022).	43 y 44
Cuadro 16.	Esquema de vacunación con vacunas inactivadas.	47

LISTA DE FIGURAS

	Descripción	Pág.
Figura 1.	Linajes de cepas norteamericanas de *Glaesserella parasuis.*	13
Figura 2.	Distribución de secuenciotipos y serovares de *Glaesserella parasuis.*	16
Figura 3.	Colonización temprana de lechones por *Glaesserella parasuis.*	19
Figura 4.	Distribución de los serovares aislados más frecuentes de diferentes países en los últimos años.	22
Figura 5.	Factores de riesgo asociados a la presentación de la enfermedad de Glässer.	25
Figura 6.	Lesiones macroscópicas de la enfermedad de Glässer.	34
Figura 7.	Diagnóstico lesional diferencial.	36
Figura 8.	Crecimiento satelital de colonias de *Glaesserella parasuis* en la estría de *Staphylococcus aureus* en agar sangre.	37
Figura 9.	Medidas para el control de la enfermedad de Glässer desde un enfoque multifactorial.	45

I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Glässer, continúa siendo una de las causas infecciosas porcinas más frecuentes en todo el mundo; es una enfermedad sistémica que se caracteriza por poliserositis, meningitis y artritis. El agente causante es la bacteria gram negativa *Glaesserella parasuis* (GPS), anteriormente llamada *Haemophilus parasuis*; que está presente en la cavidad nasal de los lechones como un colonizador temprano después del parto (Cerdà-Cuéllar *et al.*, 2010). Generalmente el cuadro se inicia por factores desencadenantes externos como mala ventilación, alta densidad de animales, mezcla o movimiento de animales y las coinfecciones con otros patógenos (Oliveira y Pijoan, 2004).

GPS forma parte de la microbiota del tracto respiratorio superior, quiere decir que los cerdos pueden considerarse portadores de esta bacteria. Mientras que los lechones recién nacidos son colonizados durante sus primeros días de vida por el contacto con la marrana; los lechones destetados se ven afectados con mayor frecuencia por la enfermedad debido a los factores anteriormente mencionados y por la disminución de la inmunidad materna pasiva (Aragón, 2019).

Durante los últimos años se han realizado diferentes estudios sobre esta bacteria; relacionados a su taxonomía, lo que conllevó a una reclasificación (Dickerman *et al.*, 2020), estudios en colonización (Correa-Fiz *et al.*, 2016; Lin *et al*., 2018), factores de virulencia donde cabe destacar la importancia de los genes *vtaA* del grupo 1, que actualmente son considerados como un buen predictor de virulencia de los aislados de GPS (Olvera *et al.*, 2012; Mugabi *et al*., 2023). Otros estudios evidencian el cambio de las frecuencias de los serovares en las distintas regiones del mundo. Además se han realizado investigaciones para determinar la asociación serovar-virulencia, y la importancia de los aislamientos sistémicos (Kielstein y Rapp-Gabrielson, 1992; Aragon *et al.*, 2010; Brockmeier *et al.*, 2014; Dazzi *et al.*, 2020).

La evolución del diagnóstico es otro punto importante que se ha ido mejorando, desde el clásico cultivo microbiológico, aún vigente, hasta las pruebas moleculares como la PCR multiplex (Howell *et al.*, 2015; Lacouture *et al.*, 2017), PCR tiempo real (Cui *et al.*, 2021) y la secuenciación del genoma completo (Mugabi *et al.*, 2023); estas han permitido mejorar la identificación bacteriana, así como la detección de serotipos y virotipos (Galofré-Milà *et al.*, 2017).

Abordar el tratamiento y control de la enfermedad es de relevancia, aquí cabe destacar la aparición de resistencia a los antimicrobianos por el incorrecto uso de los antibióticos (Costa-Hurtado *et al.*, 2020). Por último la prevención mediante la vacunación es una medida comprobada, así que es un pilar sólido en la prevención de la enfermedad (Liu *et al*., 2016; Zhao *et al*., 2016). Por ello, la finalidad de la presente investigación es hacer una revisión de la bibliografía que se ha

ido generando sobre GPS, dando a conocer los nuevos alcances de esta enfermedad a los profesionales interesados en sanidad porcina.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. GENERALIDADES DE LA ENFERMEDAD DE GLÄSSER

2.1.1. Importancia

La enfermedad de Glässer, es una enfermedad infecciosa que se caracteriza por poliserositis fibrinosa, meningitis y artritis; esta se observa en poblaciones de cerdos de todo el mundo. La casuística está relacionada con situaciones de estrés, tanto en el manejo de la granja (ventilación, densidad, mezcla o movimiento de animales) y las coinfecciones con otros patógenos virales y/o bacterianos. A pesar de esto último, los brotes de enfermedad de Glässer pueden ocurrir aún en granjas de buen estado de salud (Oliveira y Pijoan, 2004; Brockmeier *et al.*, 2014).

El impacto económico de esta enfermedad es bastante importante sobre todo en la etapa de recría y al inicio del engorde (Costa-Hurtado *et al.*, 2020). Los cuadros de enfermedad de Glässer pueden causar alta mortalidad entre 5-10% en lechones. En el Reino Unido se estimó que esto puede generar una pérdida promedio de £80 ($98.95 aprox.)/lechón, además del aumento de los costos de producción por la baja calidad productiva (hay perdida de crecimiento de 50 g/día), gastos en tratamiento de £2 ($ 2.47 aprox.)/lechón y gastos en el control de la enfermedad como la implementación de un programa de vacunación contra GPS que puede generar un gasto continuo de £6000 ($ 7422.00 aprox.) en promedio por granja al año (Costa-Hurtado *et al.*, 2020).

2.1.2. Etiología

La enfermedad de Glässer es causada por la bacteria *Glaesserella parasuis* (GPS), anteriormente llamada *Haemophilus parasuis*; que está presente en la cavidad nasal de los lechones como un colonizador temprano después del parto (Cerdà-Cuéllar *et al.*, 2010). Es una bacteria heterogénea porque comprende 15 serovares, que se clasifican de acuerdo al antígeno capsular, y por su amplia diferencia de virulencia entre sus cepas, incluso en aislados del mismo serovar (Aragon *et al.*, 2010). Las cepas no virulentas se consideran microbiota normal en el tracto respiratorio superior, por otro lado, las cepas virulentas pueden ser consideradas como patógenos primarios y causar la enfermedad de Glässer (Aragon *et al.*, 2019).

GPS es una bacteria gram negativa con morfología pleomórfica, desde cocobacilos (en cepas encapsuladas, aunque pueden llegar a formar filamentos) hasta una forma bacilar o filamentosa (en cepas no encapsuladas) (Münch *et al.*, 1992). Es una bacteria anaerobia facultativa, no móvil, que requiere el factor V de la coagulación para su crecimiento; es oxidasa y catalasa positiva, producen ácido a partir de la fermentación de galactosa, manosa, maltosa y sacarosa; no produce indol ni ureasa y no requiere del factor X para su crecimiento (Dickerman *et al.*, 2020;

Bojesen *et al*., 2022). Son nutricionalmente exigentes, no crecen en agar Mc Conkey y ONPG y crecen *in vitro* bajo 5-10% de CO_2 a 37°C (Markey *et al.*, 2013; Dickerman *et al.*, 2020)

2.1.3. Taxonomía y clasificación

La bacteria GPS pertenece a la Familia *Pasteurellaceae* (único miembro del orden *Pasteurellales*) que incluye otros géneros de importancia como *Pasteurella*, *Actinobacillus* y *Haemophilus* (Christensen *et al.*, 2014); hasta hace unos años GPS estaba considerada dentro de este último género (Bojesen *et al.*, 2022). Ha habido una serie de cambios en los miembros del género *Haemophilus*, por ejemplo, la especie *Haemophilus somnus* ahora es el *Histophilus somni,* que incluso abarca a *Histophilus ovis* e *Histophilus agni*, *Haemophilus paragallinarum* ahora es *Avibacterium paragallinarum*, *Haemophilus piscium* cambió a *Aeromonas salmonicida* (Markey *et al.*, 2013) y *Haemophilus parasuis* ahora es *Glaesserella parasuis*. En el cuadro 1 se muestra la taxonomía actual de GPS (Schoch *et al.*, 2020).

Cuadro 1. Taxonomía de *Glaesserella parasui*

Categoría taxonómica	Nombre
Phylum	*Pseudomonadota* (*Proteobacteria)*
Clase	*Gammaproteobacteria*
Orden	*Pasteurellales*
Familia	*Pasteurellaceae*
Genero	*Glaesserella*
Especie	*Glaesserella parasuis*

Fuente: Elaborado en base a la información reportada por Schoch *et al.*, 2020.

GPS era la única especie caracterizada del género *Glaesserella,* pero últimamente se ha descrito una nueva especie de este género en Australia; aislada de cerdos entre 12-18 semanas de edad (caso clínico) y en camal (provenientes de animales donde no se reportaron signos clínicos), ambos con lesiones pulmonares como abscesos en los lóbulos dorsales y craneoventrales, además de áreas de consolidación, atelectasia y nodulaciones multifocales que contenían material caseoso (Watt *et al*., 2018; Turni *et al*., 2020). La caracterización fenotípica y genotípica de estos aislados confirmaron que representan una nueva especie estrechamente relacionada con GPS, que ha sido denominada como *Glaesserella australis* (Turni *et al.*, 2020).

Fenotípicamente el nuevo aislado mostró propiedades que lo distinguen de otros microorganismos de los *Pasteurellaceae* y mostró características distintivas que lo separan claramente de GPS, como la prueba de catalasa, el indol y los patrones de fermentación de carbohidratos (ver cuadro 2) (Turni *et al.*, 2020). Genotípicamente, el análisis de la secuencia del gen *ARNr 16s* tuvo una similitud del 97% con la cepa de referencia de GPS (Turni *et al.*, 2020), este porcentaje representa una separación límite de especie (Stackebrandt y Goebel, 1994).

Para confirmar dicha separación de especies, se compararon las secuencias completas de ambos genomas y se estimó el grado de renaturalización ADN-ADN (DDN, por sus siglas en inglés); observándose un 30.9% de DDN entre GPS y el nuevo aislado, lo que indica que el nuevo aislado es una especie única (Turni *et al.*, 2020), ya que el umbral de DDN para separación entre especies de procariotas en general es del 70% (Wayne *et al.*, 1987). Mientras que el DDN de cuatro aislados de *Glaesserella australis* fue de 99-100% (Turni *et al.*, 2020).

Cuadro 2. Comparación de pruebas bioquímicas entre *Glaesserella parasuis*, *Glaesserella australis* y otros *Pasteurellaceae*

Prueba bioquímica	***Glaesserella***		***Actinobacillus***		
	G. parasuis	***G. australis***	***A. indolicus***	***A. pleuropneumoniae***	***A. suis***
Dependencia del factor X (NAD)	+ (+)	+	+ (+)	D	−
Hemolisis	−	−	−	D	−
Catalasa	+ (+)	−	+ (+)	D	+
Ureasa	−	−	−	+	+
Indol	−	+	+ (+)	−	-
Prueba de CAMP	−	−	−	+	ND
Producción de ácido a partir de:					
(−)-D-Arabinosa	ND	+	(+)	ND	ND
(+)-L-Arabinosa	−	−	−	−	ND
(+)-D-Galactosa	+ (+)	+	−	+	ND
Lactosa	−	−	D	−	ND

Cuadro 2. Comparación de pruebas bioquímicas entre *Glaesserella parasuis*, *Glaesserella australis* y otros *Pasteurellaceae.* Continuación

Prueba bioquímica	*Glaesserella*		*Actinobacillus*		
	G. parasuis	***G. australis***	***A. indolicus***	***A. pleuropneumoniae***	***A. suis***
Maltosa	+ (+)	+	ND	+	+
Rafinosa	-	+	+ (+)	−	ND
Sucrosa	+ (+)	+	ND	+	+
Trehalosa	−	+	ND	−	ND

+: 90 % o más de las cepas positivas en 1 a 2 días.
(+): 90 % o más de las cepas positivas en un plazo de 3 a 14 días (positivas tardías).
−: menos del 10 % de las cepas positivas en 14 días.
D: 11-89% de las cepas positivas.
ND: No hay datos disponibles.
Fuente: Elaborado en base a la información reportada por Watt *et al*., 2018 y Turni *et al*., 2020.

2.1.3.1. Historia y reclasificación

El agente causante de la enfermedad de Glässer fue descubierto en 1910 por K. Glässer, quien observó pequeños bacilos gram negativos en exudados de cerdos con poliserositis fibrinosa; pero no fue hasta 1922 dónde fue aislada por primera vez por Schemer y Ehrlich (Little, 1970) e identificada por Lewis y Shope en 1931. Estos últimos sugirieron que el nuevo aislado presentaba dependencia de los factores de la coagulación, tanto del factor V o nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) y del factor X o hemina para su crecimiento; como es característico en la mayoría de miembros del género *Haemophilus,* así lo llamaron *Haemophilus influenzae* variedad *suis* debido a su similitud al *Haemophilus influenzae* aislado de humanos (Lewis y Shope, 1931).

Posteriormente en 1969, Biberstein y White determinaron que a diferencia del *Haemophilus influenzae*, el nuevo aislado porcino no dependía del factor X de la coagulación para su crecimiento *in vitro*, pero si del factor V; por lo tanto, proponen un cambio de nombre y la bacteria pasa a llamarse *Haemophilus parasuis*, siguiendo la nomenclatura estándar de las especies del género *Haemophilus*, que utiliza el prefijo "para" en los microorganismos que son independientes del factor X (Biberstein y White, 1969). Sin embargo, hasta ese momento no se habían realizado otras pruebas que permitieran una correcta tipificación fenotípica y una evaluación de la correlación filogenética para respaldar esta clasificación (Inzana *et al.*, 2016).

En 2020, Dickerman y colaboradores, proponen el cambio de nombre del agente causal de la enfermedad de Glässer; basándose en el análisis de las características proteómicas, genómicas y

fenotípicas (ver cuadro 3) de 40 aislados de *Haemophilus parasuis* y comparándolos con otros aislados de la misma familia. Este análisis confirmó que *H. parasuis* es una *Pasteurellaceae*, pero es un clado totalmente distinto de otros géneros de esta familia, por ello proponen su reclasificación con el nombre de *Glaesserella parasuis* (Dickerman *et al.*, 2020). Esto ya ha sido notificado en el volumen 70, parte 1 del *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (IJSEM) que es la revista oficial para las publicaciones del Comité Internacional de Sistemática de Procariotas y de la Unión Internacional de Sociedades Microbiológicas (División de Bacteriología y Microbiología Aplicada) (Oren y Garrity, 2020).

Cuadro 3. Pruebas bioquímicas diferenciales del género *Haemophilus* y *Glaesserella*

Género	Requerimiento del factor X	Producción de ácido a partir de		
		Sacarosa	(-)-D- fructosa	(-)-D- manosa
Haemophilus	Sí	-	-	-
Glaesserella	No	+	+	+

Fuente: Elaborado en base a la información reportada por Dickerman *et al.*, 2020.

2.1.3.2. Serovares de *Glaesserella parasuis*

Se han identificado 15 serovares de GPS, esta clasificación se ha relacionado con las diferencias antigénicas en el polisacárido capsular, cuando este se expresa (Morozumi y Nicolet, 1986). La identificación de serovares se ha realizado mediante la prueba de inmunoprecipitación en gel de agar (Kielstein y Rapp-Gabrielson, 1992) o hemaglutinación indirecta (Tadjine *et al*., 2004), pero muchas veces se reportan diferencias en los resultados entre ambas pruebas; debido a que pueden ocurrir reacciones cruzadas con estas metodologías, además la interpretación es visual por ende se introduce el error humano en la prueba, y también los extractos de antígeno pueden variar entre los laboratorios (Turni y Blackall, 2005). Posteriormente se han desarrollado pruebas de PCR que detectan los genes que codifican los polisacáridos capsulares de GPS para serotipar los aislados, lo que ha mejorado la tipificación serológica (Howell *et al.*, 2013, 2015; Cui *et al.*, 2021).

El desarrollo de estas PCR de serotipado múltiple (Howell *et al.*, 2015; Lacouture *et al.*, 2017) se dio mediante la secuenciación del genoma completo de GPS, que permitió una evaluación detallada de los loci de su cápsula (Howell *et al.*, 2013). Las variaciones específicas en los loci de la cápsula permiten distinguir 14 de los 15 serovares descritos; los serovares 5 y 12 son indistinguibles, por ello se reportan como 5/12 (Howell *et al.*, 2015; Cui *et al.*, 2021) . Actualmente se ha descrito una PCR capaz de diferenciar los serovares 5 y 12, pero los primers del serovar 12

requieren de mayores investigaciones ya que se basan en la identificación de un gen hipotético (Jia *et al*., 2017)

Existen aislados de GPS cuyos serovares son no tipificables (NT), es decir no corresponden a ninguno de los 15 serovares descritos; aproximadamente entre el 10-40% de los aislados son de este tipo, por el método de inmunodifusión en gel (Kielstein y Rapp-Gabrielson, 1992). Actualmente no se conoce exactamente por qué ocurre ello, pero podría tratarse de aislados con serotipos aún no determinados, también porque estos aislados no producen el antígeno específico para clasificar su serovar o se trata de errores en las pruebas de tipificación disponibles (Dickerman *et al.*, 2020). Y esto es posible ya que el antígeno diana del serovar específico, indicado líneas arriba, no se ha identificado claramente (Kielstein y Rapp-Gabrielson, 1992), es decir, la cápsula por sí sola no ha sido designada como antígeno específico de serovar (Dickerman *et al.*, 2020).

2.1.3.3. Tipificación molecular de *Glaesserella parasuis*

Uno de los pilares para el control de la enfermedad de Glässer es la correcta tipificación del aislado de campo causante del cuadro; y si bien la serotipificación ha permitido clasificar a GPS en serovares, esta tiene baja capacidad de tipificación y bajo poder discriminatorio (Mugabi *et al.*, 2023). La genotipificación ha confirmado la heterogeneidad de los aislados de GPS, por ejemplo, sabemos ahora que varias cepas de GPS pueden estar en una misma granja y, es más, en un mismo animal; además estableció que las cepas que se aíslan de lesiones sistémicas en pleura, pericardio, meninges, hígado, bazo, etc. Representan un grupo distinto a las cepas aisladas de pulmón (Aragon *et al.*, 2019).

Los diferentes métodos que se han venido utilizando para la genotipificación de GPS han informado que no existe una asociación entre el serovar y el genotipo de los aislados (Turni y Blackall, 2010). Entre las metodologías utilizadas para genotipificar GPS tenemos: la tipificación de secuencia multilocus (MLST), electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE), el número variable multilocus de análisis de repetición en tándem (MLVA), PCR de consenso intergénico repetitivo de Enterobacterias (ERIC-PCR) entre otras (Olvera *et al.* 2007b; Boerlin *et al.* 2013; Turni *et al.*, 2018). Estas técnicas tienen buen poder discriminatorio, pero pueden llegar a ser ambiguas y no proporcionan información sobre el potencial de virulencia de un aislado en particular (Mugabi *et al.*, 2023).

Secuenciación del genoma completo

La tipificación mediante secuenciación del genoma completo (WGS, por sus siglas en inglés) ofrece una mayor discriminación entre los aislados mediante la filogenia, el tipo de secuencia (secuenciotipo), los factores de virulencia y los genes de resistencia a los

antimicrobianos; de esta manera WSG es una herramienta prometedora que permite conocer la epidemiologia molecular, así como una mejora en los programas de prevención y control de enfermedad de Glässer en las granjas (Mugabi *et al.*, 2023).

A. Linajes de GPS

En 2023, Mugabi y colaboradores evaluaron 218 aislados clínicos de GPS de Norteamérica, mediante WGS, así el árbol filogenético basado en los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés) mostró una alta diversidad genética, agrupando a los aislados en tres linajes (ver figura 1): LI, LII y LIII de acuerdo a la estructura que tomaron las ramas del árbol y el número de genes asociados a virulencia (específicamente los genes *vtaA* del grupo 1), así los aislados LI, LII y LIII portaban 6.8 (mínimo 2, máximo 9), 6.2 (mínimo 4, máximo 9) y 5.02 (mínimo 1, máximo 9) genes *vtaA* del grupo 1 en promedio respectivamente. Los aislados del sublinaje LIIIA (separado por sus características únicas) no presentaron ninguno de los genes *vtaA*. Ver cuadro 4.

Entre estos linajes norteamericanos de GPS, el linaje más grande fue el LIII (49.5% de los aislados), seguido de LII (36.2% de los aislados) y LI (13.8% de los aislados). Cada linaje tiene un serovar predominante: el serovar 5/12 se asoció con LI, el serovar 7 se asoció con LII (cinco aislados peruanos de GPS serovar 7 también pertenecen a este linaje, ver cuadro 7) y los serovares 2, 4 y 13 se asociaron con LIII (ver cuadro 4). Los linajes LI y LII se asociaron significativamente con aislados respiratorios y sistémicos respectivamente (Mugabi *et al.*, 2023).

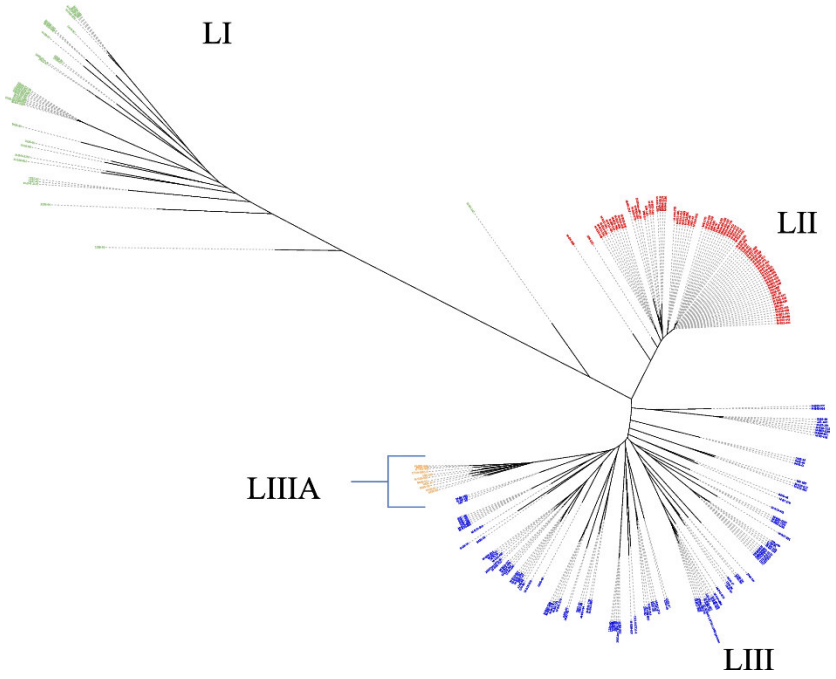


Figura 1. Linajes de cepas norteamericanas de *Glaesserella parasuis*. Árbol filogenético que muestra los 3 linajes (LI, LII y LIII) y el sublinaje LIIIA encontrados a partir de la secuenciación del genoma completo de 218 aislados de *Glaesserella parasuis*. Fuente: Mugabi *et al*, 2023.

Cuadro 4. Características de los tres linajes de aislados norteamericanos de *Glaesserella parasuis*

Características	Linaje			sublinaje
	LI	**LII**	**LIII**	**LIIIA**
Tamaño	13.8% (n= 30)	36.2% (n= 79)	49.5% (n= 108)	2.76% (n= 6)
Promedio de genes asociados a virulencia (*vtaA* grupo 1)	6.8	6.2	5.02	0
Serovares asociados al linaje (p <0.05)	5/12	7	2, 4 y 13	8
Serovares (%)	5/12 (50%) 13 (13,3%) NT (13,3%) 14(10%) 4 (10%) 2 (3,3%)	7 (75,9%) 2 (8,7%) 4 (6,3%) 6 (6,3%) 5/12 (1,3%) 13 (1,3%)	13 (27,8%) 2 (22,2%) 4 (21,3%) 7 (10,2%) NT (9,3%) 1 (3,7%) 8 (2,7%) 15 (1,9 %) 3 (0,9%)	8 (50.0%) 15 (33.3%) NT (16.6%)
Asociación con el lugar de aislamiento (p <0.05)	Respiratorios	Sistémicos	Variable	Nasal
Secuenciotipos asociados al linaje (p <0.05)	ST6	ST454 y ST478	Variable	Variable
Secuenciotipos (ST)	6, 414, 427, 442, 446, 454, 455, 469, 472, 474, 551, 629	157, 403, 416, 422, 447, 452, 454, 458, 459, 462, 478, 526, 624	116, 239, 299, 401, 402, 404, 406, 408–413, 415, 417–421, 423, 424–426, 430, 432–434, 437, 438, 440, 442,443,445, 448, , 452, 471, 473, 476, 498, 548, 549, 552, 553, 617, 618, 632	299,406, 408, 552

NT: No Tipificables, ST: Secuenciotipo.
Fuente: Elaborado en base a la información reportada por Mugabi *et al*, 2023.

B. Secuenciotipos

Otra utilidad de WSG es la de poder discriminar los aislados de GPS en secuenciotipos (ST), así Mugabi y colaboradores identificaron 72 ST dentro de 218 aislados de GPS norteamericanos, 66 ST (91.7%) fueron nuevos (ver cuadro 6); siendo el secuenciotipo ST454 el más frecuente (19.3%, 42/218) seguido del ST478 (5.5%, 12/128) y ST6 (5%, 11/128) (ver figura 2). La mayoría de aislados con ST iguales se fueron agrupando en un mismo linaje (ver cuadro 4), pero se observó que existe una alta diversidad de ST dentro de un mismo serovar (ver figura 2), por ejemplo, se identificó 19 tipos diferentes de ST en el serovar 7; lo contrario ocurre con menos frecuencia, es decir aislados del mismo ST son del mismo serovar en la mayoría de casos (ver cuadro 5) (Mugabi *et al.*, 2023). Otro estudio en China describió 49 ST entre 55 aislados de GPS, 39 de estos ST fueron nuevos (ver cuadro 6) (Wan *et al*., 2020). Los ST descritos por Wan y colaboradores (como ST160, ST161, ST 176, ST181, entre otros) fueron todos diferentes a los descritos en el estudio de los aislados norteamericanos, corroborando con ello la alta variación genética de GPS (Olvera *et al.*, 2012; Turni *et al.*, 2018; Mugabi *et al.*, 2023).

La clasificación por ST discrimina mucho mejor a los aislados de GPS. En 2023 se observaron que casi la mitad de los aislamientos tenían ST únicos, es decir que no se repitieron con otros aislados del mismo estudio, lo que sugiere una alta heterogeneidad de las poblaciones de GPS en base a su ST (ver cuadro 6) (Wang *et al.*, 2016; Mugabi *et al.*, 2023). El ST454 se detectó en 24 granjas distintas en el estudio de Mugabi y colaboradores; y estuvo asociado a brotes de poliserositis con alta mortalidad; este mismo ST fue detectado en 5 aislados peruanos en el mismo estudio (ver cuadro 7). Además múltiples granjas tuvieron al menos 2 ST, lo que respalda lo anteriormente descrito, que dentro de una misma granja se pueden detectar múltiples cepas de GPS (ver cuadro 5) que podrían estar produciendo la enfermedad (Cerdà-Cuéllar *et al.*, 2010; Mugabi *et al.*, 2023).

Por lo anteriormente expuesto, los ST de GPS juegan un papel importante en la epidemiología de la enfermedad de Glässer, por lo tanto, su tipificación debe ser tomada en cuenta para la toma de decisiones en granja; como por ejemplo incluir estos ST en la producción de bacterinas autógenas con cepas aisladas de la granja problema o para tomar medidas de control, como la despoblación de piaras portadoras de ST asociados a enfermedad y alta mortalidad (Mugabi *et al.*, 2023).

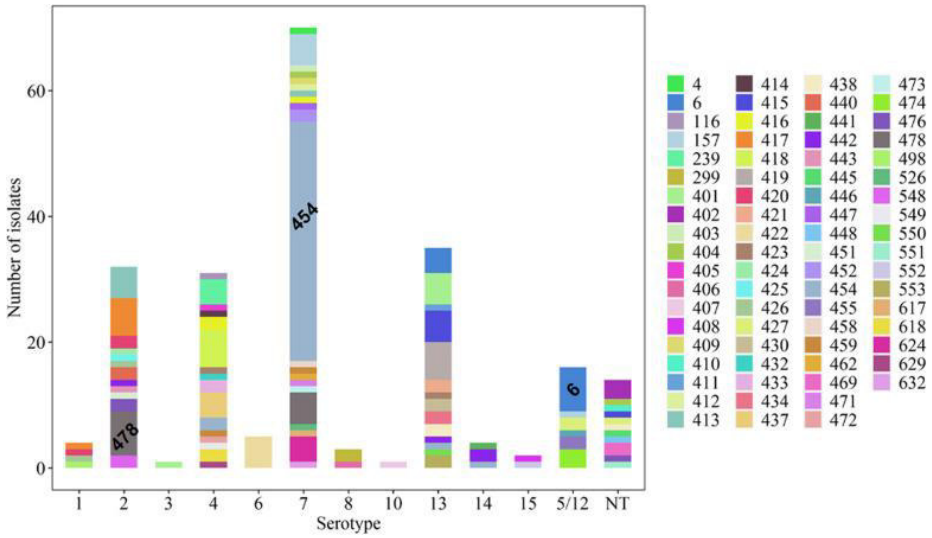


Figura 2. Distribución de secuenciotipos y serovares de *Glaesserella parasuis*. Los colores representan la diversidad de secuenciotipos (ST) que existe en cada serovar Fuente: Mugabi *et al,* 2023.

Cuadro 5. Distribución de secuenciotipos (ST) y serovares de *Glaesserella parasuis* en siete granjas porcinas.

Granja	N° aislados de GPS	ST	Serovares
Granja 1	1	ST408	7
	1	ST452	7
	5	ST454	7
Granja 2	1	ST418	4
	1	ST454	7
Granja 3	2	ST454	7
Granja 4	1	ST478	7
Granja 5	1	ST478	7
Granja 6	1	ST6	5/12
Granja 7	6	ST6	5/12 (3), 13 (3)

Se detalla los aislados de siete granjas porcinas; estos presentan entre 1 a 3 secuenciotipos por granja. Además, cada ST se relaciona a un único serovar en la mayoría de casos; como el ST454 y ST478 que están asociados al serovar 7 y el ST6 asociado a los serovares 5/12 y 13. GPS: *Glaesserella parasuis,* ST: Secuenciotipo.
Fuente: Elaborado en base a la información reportada por Mugabi *et al*, 2023.

Cuadro 6. Perfiles de secuenciotipos de aislados de *Glaesserella parasuis* (2012-2023)

Referencia	Método	N° aislados de GPS	N° de ST	N° ST Únicos (%)	N° ST Nuevos (%)	ST representativos
Mugabi *et al.*, 2023	WSG	218	72	95/218 (43.3%)	66/72 (91.7%)	ST454 ST478 ST6
Wan *et al.*, 2020	WSG	55	49	ND	39/49 (79.59%)	ST160 ST161 ST181
Turni *et al.*, 2018	MLST	75	54	37/75 (49.34%)	41/54 (75.92%)	ST193 ST123 ST128
Olvera *et al.*, 2012	MLST	150	122	ND	ND	ND

N° de ST: total de ST diferentes encontrados en el estudio.
N° de ST únicos: % de ST que no se repiten entre todos los aislados.
N° de ST nuevos: % de ST recién descritos en dicho estudio
GPS: *Glaesserella parasuis*, ST: Secuenciotipo, WSG: secuenciación de genoma completo, MLST: Tipificación de Secuencia Multilocus, ND: No hay datos
Fuente: Elaborado en base a la información reportada por los autores citados en el cuadro

Cuadro 7. Perfil genotípico de seis aislados peruanos de *Glaesserella parasuis.*

Aislado	Año de aislamiento	Linaje	Serovar	ST	Status de ST
1	2020	LII	7	454	Nuevo
2	2020	LII	7	454	Nuevo
3	2020	LII	7	454	Nuevo
4	2020	LII	7	454	Nuevo
5	2020	LII	7	454	Nuevo
6	2020	LIII	1	498	Nuevo

LII: Linaje 2, LII: Linaje 3, ST: Secuenciotipo, Status Nuevo: No registrado anteriormente.
Fuente: Elaborado en base a la información reportada por Mugabi *et al*, 2023.

2.2. EPIDEMIOLOGÍA

2.2.1. Hospedadores

El agente causal de la enfermedad de Glässer muestra especificidad de hospedador (Bojesen *et al.*, 2022). Hasta el momento, los cerdos domésticos y los jabalíes son los únicos hospedadores que se conocen de GPS. Esta bacteria es parte de la microbiota respiratoria normal de los cerdos en todo el mundo (Aragon *et al.*, 2019). Hay solo un reporte de enfermedad de Glässer en jabalíes, pero sí se ha aislado la bacteria y detectado seroconversión en estos animales (Cuesta *et al.*, 2013). Sin embargo faltan más estudios para determinar qué función podría tener esta especie silvestre en la epidemiología de la enfermedad de Glässer (Bojesen *et al.*, 2022).

2.2.2. Transmisión

La transmisión de GPS se da de forma horizontal a través del contacto directo entre cerdos infectados o enfermos con cerdos susceptibles; esta se exacerba cuando existe hacinamiento o mezcla de animales de diferentes edades u orígenes. La transmisión ambiental es poco probable, ya que GPS es muy lábil en el medio ambiente (Aragon *et al.*, 2019). Las cerdas son la principal fuente de transmisión directa a sus lechones (Bojesen *et al.*, 2022), mientras que la transmisión vaginal, durante el parto, parece no ser relevante ya que no se ha logrado aislar la bacteria en este punto (Blanco *et al*., 2004; Aragon *et al.*, 2019).

2.2.3. Colonización

La colonización por GPS de las mucosas del tracto respiratorio superior de los lechones ocurre poco después del parto por contacto directo de estos con la marrana, pero la cantidad de bacterias en fosas nasales es baja a esta edad, lo que dificulta su detección; y no es hasta las 6-8 semanas de edad (60 días de edad en promedio) donde se observa el pico de colonización, evaluado mediante hisopados nasales (Cerdà-Cuéllar *et al.*, 2010). Toda esta etapa de colonización nasal ocurre generalmente cuando los lechones aún presentan anticuerpos IgM e IgG maternos (que los protegerán contra las cepas que haya estado expuesta la madre) recibidos por calostro (Aragon *et al.*, 2019). Ver figura 3.

Los aislados de GPS obtenidos en los hisopados nasales de lechones han demostrado que un solo animal puede ser portador de múltiples cepas (Lin *et al.*, 2018), además que en una misma granja se pueden aislar de cuatro a cinco cepas, incluso, se han detectado hasta 16 cepas diferentes durante un ciclo productivo (Olvera *et al*., 2007a; Cerdà-Cuéllar *et al.,* 2010). Aunque pueda existir esta cantidad variable de cepas en una misma granja, la cepa más prevalente y virulenta es la que se asocia con los cuadros clínicos en caso se desarrolle la enfermedad (Rafiee *et al.*, 2000).

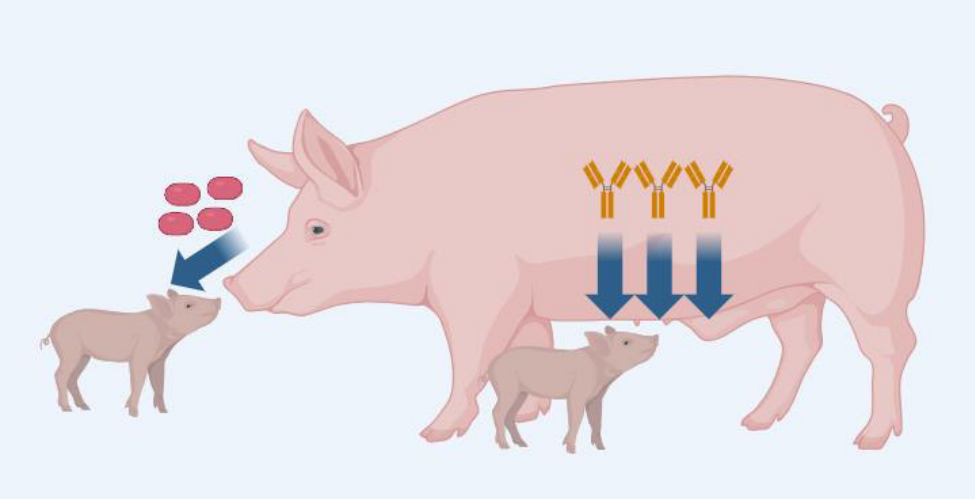


Figura 3. Colonización temprana de lechones por *Glaesserella parasuis*. La colonización se produce por contacto directo con la marrana por vía oronasal mientras los lechones amamantan, y a la vez, reciben anticuerpos maternales. Así se genera un estado de equilibrio entre colonización e inmunidad. Fuente propia.

2.2.4. Frecuencia de serovares aislados de GPS

La prevalencia de GPS en granjas porcinas es prácticamente del 100%, pero la prevalencia de la enfermedad de Glässer es mucho menor, aunque no se ha podido determinar (Aragon, 2008). Las frecuencias de los aislados se ha revisado en algunos países, como en América del Norte donde los serovares de GPS más frecuentes eran el 4, 5, 13, 14 y los no tipificables (Oliveira y Pijoan, 2004). Se ha informado que los serovares no tipificables pueden representar entre un 15-41% de los aislados de GPS en casos clínicos (Rafiee y Blackall, 2000), sin embargo, ahora conocemos que esto puede ser variable de acuerdo a la zona geográfica en particular (Macedo *et al.*, 2021; Mugabi *et al.*, 2023).

En un estudio donde se evaluaron 950 aislados de GPS de distintos estados de los EE.UU. (223 aislados entre 2014-2018), Canadá (68 aislados entre 2017-2019), Europa (436 aislados entre los años 2000-2006 y 2015-2016), China (167 aislados entre 1999-2007), Vietnam (56 aislados de 2017); se identificaron todos los serovares mediante la técnica de PCR (Howell *et al.*, 2015; Lacouture *et al.*, 2017). Los de mayor frecuencia fueron: el serovar 4 (17.4%), serovar 5/12 (16.8%), serovar 7 (11.4%), serovar 1 (10.7%) y serovar 13 (9.1%). Los aislados no tipificables representaron el 9.7% (Macedo *et al.*, 2021). En los cuadros 8 y 9, y figura 4 se observan los diferentes porcentajes de frecuencias de los serovares de GPS en distintas partes del mundo, en los últimos años, la diferencia observada entre cada región se debe a la alta heterogeneidad de esta bacteria (Cerdà-Cuéllar *et al.*, 2010; Bojesen *et al.*, 2022).

En los EE.UU. los cinco serovares de GPS con mayor frecuencia entre los años 2014-2018 fueron: el serovar 4 (53/223, 23.8%), serovar 7 (41/223, 18.4%), serovar 1 (32/223, 14.3%), serovar 5/12 y serovar 2 (ambos con 28/223, 12.6%), mientras que los serovares no tipificables fueron de 1.3% (3/223). En Canadá los cinco serovares de GPS con mayor frecuencia entre los años 2017-2019 fueron: el serovar 5/12 (21/68, 30.9%), serovar 7 (11/68, 16.2%), serovar 4 (8/68, 11.8%), serovares no tipificables (7/68, 10.3%) y serovar 13 (6/68, 8.8%) (Macedo *et al.*, 2021). Ver cuadro 9.

En Europa, los cinco serovares de GPS con mayor frecuencia entre los años 2000-2006 y 2015-2016 fueron: el serovar 4 (75/436, 17.2%), serovar 5/12 (60/436, 13.8%), serovar 1 (53/436, 12.2%), serovar 7 y serovar 13 (cada uno con 51/436, 11.7%) y los serovares no tipificables representaron 5.5 % (24/436). En China, los cinco serovares de GPS con mayor frecuencia entre los años 1999-2007 fueron: el serovar 5/12 (36/167, 21.6%), serovar no tipificables (29/167, 17.4%), serovar 4 (19/167, 11.4%), serovar 8 (13/167, 7.8%) y serovar 1 con el serovar 6 (cada uno con 12/167, 7.2%). Cabe mencionar que se desconocía la fecha de algunos aislados europeos y chinos en este estudio (Macedo *et al.*, 2021).

En Paraguay se obtuvieron 12 aislados de GPS de pulmones e hisopados nasales porcinos durante los años 2022-2023, y se observaron las siguientes frecuencias de serovares detectados mediante la técnica de PCR: los serovares no tipificables (6/12, 50%), serovar 3 (3/12, 25%) y los serovares 2, 7 y 8 (cada uno con 1/12, 8.3%) (Zaracho *et al.*, 2023). Los protocolos de PCR multiplex para serotipificar en este estudio fueron los mismos que se usaron en el estudio del 2021 por Macedo (Howell *et al.*, 2015; Lacouture *et al.*, 2017).

En Perú, se reportó el aislamiento de GPS a partir de 3 casos clínicos de cerdos sospechosos de padecer enfermedad de Glässer, las muestras evaluadas fueron pulmones. Los aislados se identificaron mediante pruebas bioquímicas microbiológicas (Pinto *et al.*, 2012). Posteriormente, en 2022, 68 aislados de GPS obtenidos de casos clínicos en granjas porcinas del Perú, identificados por PCR, fueron serotipificados. El serovar 7 de GPS fue el que obtuvo la mayor frecuencia (55/68, 80.88%) y los aislamientos no tipificables tuvieron un porcentaje de 8.82% (6/68) (Castillo *et al.*, 2022).

En 2023, a partir de 218 aislados de GPS provenientes de América (214 aislados de EE.UU., Canadá, México, Chile y Perú) y Dinamarca (4 aislados), la frecuencia de los serovares más comunes detectados mediante el serotipado *in silico* del genoma completo fueron: serovar 7 (71/218, 32.6%), serovar 13 (35/218, 6.1%), serovar 2 (32/218, 14.7%), serovar 4 (31/218, 14.2 %) y serovar 5/12 (16/218, 7.3%). Además, en este estudio el 6.4 % (14/218) de los aislados fueron no tipificables y serovares 9, 10 y 11 no fueron detectados (Mugabi *et al.*, 2023).

Cuadro 8. Frecuencia de serovares de *Glaesserella parasuis* en diferentes países (1992-2018).

Continente	País	Referencia	Método	Serovares %			
				Primero	Segundo	Tercero	NT
Europa	Alemania	Kielstein y Gabrielson, 1992	GID	5 23.8%	4 17.2%	2 5.5%	26.2%
	España	Rúbies *et al.*, 1999	GID	5 18.4%	4 16%	2 9.2%	29.3%
	Dinamarca	Angen *et al.,* 2004	IHA	5 36%	4 13%	13 22%	15%
	Holanda	Dijkman *et al.*, 2012	IHA	4 23.1%	2 14.5%	1 11.1%	13.7%
	Italia	Luppi *et al.*, 2013	GID	4 24.5%	13 19.8%	5 11.3%	27.3%
	Reino Unido	Howell *et al*., 2015	mPCR	4 29.8%	5/12 22.6%	7 o 13 8.3%	0%
Asia	China	Cai *et al.*, 2005	GID	4 19.2%	5 13.5%	13 10.3%	36.7%
	China	Ma *et al.* 2016	mPCR	5/12 40%	4 33%	7 60%	7%
	Taiwán	Lin *et al.* 2018	mPCR	5/12 37.6%	4 27.8%	13 15%	13.5%
Oceanía	Australia	Blackall *et al.*, 1996	GID	5 22.6%	13 19.4%	4 12.9%	16.1%
América	EE.UU. Canadá	Kielstein y Gabrielson, 1992	GID	5 24.3%	4 16.1%	2 8.2%	15.2%
	América del Norte	Oliveira *et al.* 2003a	GID	4 39%	3 8%	1 7%	27%
	Canadá	Tadjine *et al.* 2004	GID	4 27%	5 15%	13 14%	>30%
	EE.UU.	Tadjine *et al.* 2004	GID	4 25%	12 23%	5 15%	>30%
	Brasil	Castilla *et al.*, 2012	GID	4 26.1%	5 17.4%	14 8.7%	39%

NT: No tipificables, **GID:** Inmunoprecipitación en gel de agar, **IHA:** Hemaglutinación indirecta, **mPCR:** PCR multiplex.
Fuente: Elaborado en base a la información reportada por los autores citados en el cuadro.

Cuadro 9. Frecuencia de serovares de *Glaesserella parasuis* en diferentes países (2019-2023)

Continente	País	Referencia	Método	Serovares %			
				Primero	Segundo	Tercero	NT
Europa	España y Alemania	Macedo *et al.*, 2021	mPCR	4 23.2%	5/12 15 %	1 y 13 13.7%	4.7%
Asia	China	Macedo *et al.*, 2021	mPCR	5/12 20.4%	4 11.5%	8 7.6%	18.5%
	Taiwán	Wu *et al.,* 2023	mPCR	4 33.3%	5 21.4%	13 9.4%	15.9%
América	América del Norte	Mugabi *et al* 2023	WGS	7 32.6%	13 16.1%	2 14.7%	6.4%
	Canadá	Macedo *et al.*, 2021	mPCR	5/12 33.3%	7 17.8%	13 8.9%	13.3%
	EE.UU.	Macedo *et al.*, 2021	mPCR	4 24.23%	7 16.2%	1 14.8%	1.4%
	Brasil	Silva *et al.*, 2022	mPCR	4 27.6%	5 14.8%	13 18.1%	0%
	Perú	Castillo *et al.*, 2022	mPCR	7 80.88%	NT	4 2.94%	8.82%
	Paraguay	Zaracho *et al.*, 2023	mPCR	NT	3 25%	2,7 y 8 8.3%	50%

NT: No tipificables, **mPCR:** PCR multiplex, **WGS:** Secuenciación de genoma completo.
Fuente: Elaborado en base a la información reportada por los autores citados en el cuadro.



Figura 4. Distribución de los serovares aislados más frecuentes de diferentes países en los últimos años. (Macedo *et al.*, 2021; Castillo *et al.*, 2022; Silva *et al.*, 2022; Mugabi *et al.*, 2023; Wu *et al*., 2023; Zaracho *et al.*, 2023). Fuente propia (Figura).

2.2.5. Factores de riesgo

A pesar que GPS es una bacteria ubicua en gran parte de las granjas porcinas, para que ocurra la enfermedad de Glässer se requiere de factores de riesgo, que pueden ser específicos como la inmunidad contra GPS y la virulencia de la cepa predominante (Costa-Hurtado *et al*., 2020) u otros que pueden ser menos específicos y más bien comunes a otras enfermedades porcinas; entre estos factores tenemos: la importancia de la microbiota nasal (Correa-Fiz *et al.*, 2016), las condiciones ambientales de la granja (como temperatura y ventilación inadecuada), malas prácticas de manejo de los animales (como alta densidad de animales por corral) (Costa-Hurtado *et al.*, 2020) y la presencia de otros patógenos en granja; en base a estos, GPS puede comportarse como un patógeno primario o secundario (Palzer *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2017; Aragon *et al.*, 2019). Ver figura 5.

2.2.5.1. Factores de la granja

El aparato mucociliar está diseñado para atrapar, neutralizar y eliminar partículas y agentes infecciosos del árbol respiratorio, pero puede verse comprometido por factores propios de la granja como cambios en la temperatura (muy frías o muy calientes), el exceso de polvo y de gases contaminantes (Yaeger y Van, 2019).

El frío excesivo aumenta la viscosidad de la mucosidad de las vías respiratorias, lo que compromete a los cilios; estos se vuelven lentos y por lo tanto se reduce el movimiento de la mucosidad en estas vías. Por otro lado, animales deshidratados por altas temperaturas junto a una baja humedad en los corrales, puede provocar deshidratación de la mucosa respiratoria que se traduce en una disminución de la eliminación normal de partículas extrañas (Yaeger y Van, 2019).

De la misma manera, el polvo disminuye el aclaramiento mucociliar lo que permite que los patógenos potenciales pueden quedarse y avanzar a las vías respiratorias inferiores (McClendon *et al.*, 2015). Los gases que pueden acumularse en los corrales debido a una mala ventilación, incluyen al amoniaco, este a concentraciones de 50-100 ppm pueden deprimir la función normal mucociliar y por tanto comprometer a estas vías a una infección por microrganismos potencialmente patógenos (Pointon *et al.*, 1985)

2.2.5.2. Virulencia de la cepa

La virulencia de los aislados de GPS es variable y los lechones son colonizados por cepas de diferentes grados de virulencia; así cepas de baja virulencia se restringen a las vías respiratorias superiores como microbiota y en circunstancias normales no llegan a invadir al hospedador, debido a sus defensas; pero cuando son colonizados por cepas virulentas el riesgo de que esos lechones

desarrollen enfermedad de Glässer es alto, ya que estas cepas presentan factores de virulencia que le permiten escapar del sistema inmune y propagarse en el cerdo (Bojesen *et al.*, 2022).

Cuando los lechones son colonizados en primera instancia por cepas de GPS no virulentas podrían estar protegidos contra cepas virulentas y evitar la infección. Por otro lado, si un lechón es colonizado por una cepa virulenta y no muestra signos clínicos a un inicio (por la inmunidad materna) se convierte en una fuente de infección para lechones susceptibles; y este contagio principalmente se evidencia en animales jóvenes después del destete, cuando los anticuerpos maternales caen a niveles muy bajos (Brockmeier *et al.*, 2013).

2.2.5.3. Coinfecciones

Las infecciones virales que inmunosuprimen al animal y de las que ya se han reportado una asociación epidemiológica con Glässer (Li *et al.*, 2009), comprenden, al Virus del Síndrome Respiratorio y Reproductor Porcino (PRRSv, por sus siglas en inglés) (Palzer *et al.*, 2015a), el Circovirus porcino tipo II (PCV2, por sus siglas en inglés) (Kim *et al.*, 2002) y el virus de la Influenza porcina (Unterweger *et al.*, 2016); estos permiten que cepas de GPS que normalmente están restringidas al tracto respiratorio puedan invadir zonas sistémicas, es decir tejidos diferentes a los del aparato respiratorio; como el pericardio, peritoneo, bazo, hígado, articulaciones, sistema nervioso central y nódulos linfáticos (Olvera *et al.*, 2009).

2.2.5.4. Factores del individuo

Estado inmunitario

Los lechones reciben anticuerpos protectivos a través del calostro de la marrana, pero estos anticuerpos descienden tras el destete entre las 3 a 4 semanas de edad (Cerdà-Cuéllar *et al.*, 2010) por ello en esta fase los lechones son más susceptibles a desarrollar la enfermedad de Glässer (Costa-Hurtado *et al*., 2020)

Importancia de la microbiota nasal del lechón

Otro aspecto importante es la diversidad de la microbiota nasal de los lechones; cuando hay poca diversidad en esta microbiota, existe mayor riesgo de que los animales desarrollen la enfermedad de Glässer durante la etapa de lactancia y si a esto sumamos el mal uso de los antimicrobianos como preventivos, puede tener un efecto perjudicial (Correa-Fiz *et al.*, 2016).

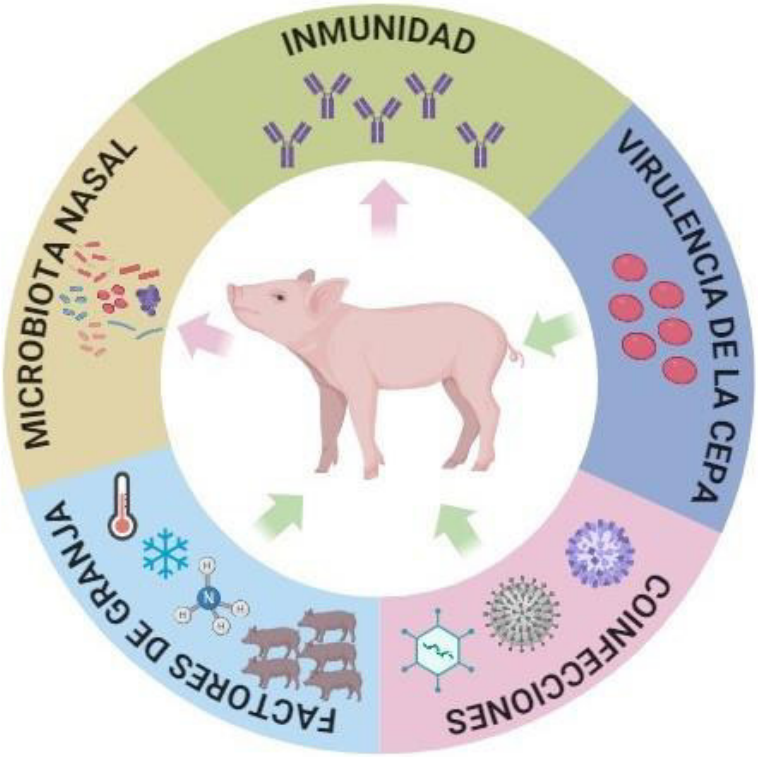


Figura 5. Factores de riesgo asociados a la presentación de la enfermedad de Glässer. Fuente propia.

2.3. VIRULENCIA DE LOS AISLADOS DE *Glaesserella parasuis*

2.3.1. Factores de virulencia

Las cepas de GPS tienen diferentes grados de virulencia, y se ha intentado identificar cuáles son los factores de virulencia que puedan explicar ello. En esta búsqueda se ha informado que la mayoría de estos factores están presentes en todas las cepas, independientemente si han sido aisladas de animales sanos o enfermos (Bojesen *et al.*, 2022). Ver cuadro 10. Algunos de estos factores sí se han asociado con cepas aisladas de lesiones en animales con enfermedad de Glässer; entre ellos podemos mencionar los genes *vtaA*, CDT, BmaA6 (serina proteasa) y TonB (Howell *et al.*, 2014).

Cuadro 10. Factores de virulencia descritos en *Glaesserella parasuis*.

Factor de virulencia	Función
Lipooligosacárido (LOS)	Adhesión a las células, invasión celular y resistencia al sistema bacteriolítico del suero.
Cápsula	Colonización de mucosa y evasión del sistema inmune del huésped. Componente utilizado para la clasificación de los 15 serovares.
Toxina de distención citoletal (CDT)	Toxicidad celular, distención celular y muerte celular. Compuesta por 3 subunidades: CdtA, CdtB y CdtC. CdtB: DNAasa involucrada en apoptosis celular. CdtA y CdtC: potenciadoras de CdtB. CdtC: Dominio que reconoce al colesterol para unión a membrana celular.
Proteínas autotransportadoras	Péptido de N- terminal Sec-dependiente para la exportación a través de la membrana citoplasmática. Dominio pasajero que contiene los dominios funcionales. Dominio C-terminal translocador del dominio pasajero a través de membrana externa.
Autotransportador monomérico	BmaA: Adhesina AidA. BmaA6: Produce serina proteasa extracelular, Probable actividad contra IgA.
Autotransportador trimérico	VtaA8 y VtaA9: resistencia a la fagocitosis. VtaA2: adhesión a matriz extracelular. Especialmente colágeno. Poco expresadas *in vitro*. Mayor expresión durante infección.
Porinas	Proteínas de membrana para difusión de moléculas hidrofílicas. OmpP2: Relacionada a resistencia al sistema de complemento. OmpP5 (OmpA): Función no determinada, pero su ausencia demuestra una expresión proteica alterada.
Factores asociados a la adquisición de hierro	Captación de hierro de la transferrina, grupo hemo y sideróforos del huésped. Comprendido por TonB: TonB y exbBD; y TbpBA: TbpA y TbpB
Lipopoteína VacJ	Proteína de membrana externa. Proporciona estabilidad de la misma. Asociada también a resistencia al suero.
Proteasa HtrA	Control de calidad de las proteínas. Regulación en la formación de biofilm Asociada también a resistencia al suero

Fuente: Elaborado en base a la información reportada por Bojesen *et al.*, 2022.

2.3.1.1. Importancia de los genes *vtaA*

El grupo de genes denominados como autotransportadores triméricos asociados a la virulencia o *vtaA* (Virulence-associated trimeric autotransporters, por sus siglas en inglés) se han asociado con los aislados virulentos de GPS (Pina *et al*., 2009; Olvera *et al.*, 2012), estos pertenecen al sistema de secreción tipo Vc y pueden contribuir a la capacidad adhesiva e invasiva de GPS (Olvera *et al.*, 2010). Los *vtaA* se dividen en tres grupos en base al análisis de sus dominios translocadores de YadA (Pinna *et al.*, 2009); los del grupo 1 son indicadores potenciales de aislados virulentos, junto con los del grupo 2; mientras que el grupo 3, no son determinantes, ya que son genes conservados que se pueden encontrar entre aislados virulentos y no virulentos de GPS (ver cuadro 11) (Olvera *et al.*, 2012; Macedo *et al.*, 2021).

Cuadro 11. Clasificación de genes *vtaA*.

Grupo	Genes *vtaA*	Comentarios
Grupo 1	*vtaA1, vtaA2, vtaA3, vtaA4, vtaA5, vtaA6, vtaA7, vtaA8* y *vtaA*9	Genes que solo se han detectado en cepas virulentas de GPS (Pinna *et al.*, 2009); son buenos predictores de virulencia de aislados de GPS, se ha demostrado experimentalmente que algunos de ellos desempeñan un papel en la enfermedad (Costa-Hurtado *et al.*, 2012, 2019; Mugabi *et al*., 2023)
Grupo 2	*VtaA10* y *vtaA11*	Genes detectados solo en cepas virulentas (Pinna *et al.*, 2009).
Grupo 3	*vtaA12* y *vtaA13*	Genes altamente conservados entre cepas de GPS virulentas y no virulentas (Pinna *et al.*, 2009).

Fuente: Elaborado en base a la información reportada por los autores citados en el cuadro.

Los genes *vta*A del grupo 1 (*vtaA1 –vtaA9*) son los que cuentan con más evidencia como predictores de virulencia en GPS (ver cuadro 12) (Costa-Hurtado *et al.*, 2012, 2019; Dijkman *et al.*, 2012; Lin *et al*., 2019; Olvera *et al.*, 2012b). De 218 aislados de GPS, 212 (97.2%) poseían al menos uno de los genes *vta*A del grupo 1, con frecuencias de: *vtaA*5 (88.1%), *vtaA*6 (84.7%), *vtaA*3 (67.4%), *vtaA*8 (66.5%), *vtaA*2 (65.1%), *vtaA*1 (58.7%), *vtaA*9 (53.2%), *vtaA*4 (43.1%) y *vtaA*7 (30.7%). También se evaluaron los *vtaA* del grupo 2, *vtaA*10 y *vtaA*11con 34.4% y 23.4% respectivamente y los *vtaA* del grupo 3, *vtaA*12 y *vtaA*13 con 56.4% y 61.5% respectivamente (Mugabi *et al.*, 2023).

No se conoce exactamente si existe una correlación entre la cantidad de genes *vtaA* del grupo 1 y una mayor virulencia, o si existe un perfil de genes *vtaA* del grupo 1 que sea predictor de mayor virulencia; pero se ha observado que serovares asociados a enfermedad de Glässer como el 5/12 y el 7, presentan asociación significativa con algunos genes *vtaA* en particular, como los *vtaA1*, *vtaA5* y *vtaA6* principalmente para el serovar 5/12; y los genes *vtaA1, vtaA5*, *vtaA6* y *vtaA8*, principalmente para el serovar 7 (Mugabi *et al.*, 2023).

Respecto a la asociación entre los ST y los genes *vtaA* del grupo 1, se ha reportado que existe variabilidad en el número de estos genes, incluso dentro de aislados de GPS del mismo ST, es decir aislados que muestran una gran similitud genética. Para el ST459 asociado al serovar 7, se observó un número de 4 a 9 genes *vtaA* del grupo 1, donde los *vtaA5*, *vtaA6* y *vtaA8* se detectaron en el 100% de aislados del ST459, lo que puede sugerir una asociación (Mugabi *et al.,* 2023).

Otros genes como los asociados a los autotransportadores monoméricos (*bmaA4, bmaA5*, *bmaA6*), a las proteínas porinas (*ompP2*, *ompP5*) y al metabolismo del ácido siálico (*siaB*) están involucrados en la patogenia de GPS (Zhang *et al.*, 2012; Costa-Hurtado y Aragon, 2013). Estos genes de virulencia se detectan en aislados que incluso no presentaron ningún tipo de gen *vtaA*, sugiriendo que estos otros genes se conservan en aislados virulentos y no virulentos de GPS; por lo tanto no serían buenos predictores de virulencia (Mugabi *et al.*, 2023).

Cuadro 12. Importancia de los genes *vtaA* del grupo 1 en cepas virulentas de *Glaesserella parasuis*

Referencia	Alcance del estudio
Olvera *et al.*, 2012b	- Todas las cepas aisladas de casos de enfermedad de Glässer fueron positivas (100%) a la PCR de genes *vtaA* del grupo 1. - Las cepas aisladas de conductos nasales de animales sanos fueron negativas (96%) para la PCR de genes *vtaA* del grupo 1. - Hubo una asociación entre la ausencia de genes *vtaA* del grupo 1 y la sensibilidad a la fagocitosis y al suero.
Costa-Hurtado *et al.*, 2012	- Reportaron que las proteínas de superficie VtaA8 y VtaA9 (codificadas por los genes *vtaA* del grupo 1) desempeñan un papel en la resistencia a la fagocitosis de GPS.
Dijkman *et al.*, 2012	- En Países Bajos, el 87.17 % de 117 aislados de GPS obtenidos a partir del cultivo de lesiones de cerdos con signos clínicos de enfermedad de Glässer, fueron positivos a la PCR de genes *vtaA* del grupo 1.
Lin *et al.*, 2019	- En Taiwán, El 98.62 % de 145 aislados de GPS obtenidos a partir del cultivo de lesiones de cerdos enfermos, fueron positivos a la PCR de genes *vtaA* del grupo 1.

Cuadro 12. Importancia de los genes *vtaA* del grupo 1 en cepas virulentas de *Glaesserella parasuis*. Continuación

Referencia	Alcance del estudio
Costa-Hurtado *et al*., 2019	- VtaA2 (codificada por el *gen vtaA2*, que pertenece al grupo 1 de los genes *vtaA*) se regula positivamente durante la infección y solo se encuentra en cepas virulentas de GPS. Se propone que VtaA2 media la adherencia al hospedador uniéndose a la mucina (presente en el moco del tracto respiratorio superior) y a las proteínas de la matriz extracelular, presentes en el tejido conectivo de sitios sistémicos, como las serosas.

Fuente: Elaborado en base a la información reportada por los autores citados en el cuadro.

2.3.2. Virulencia y serovares

Inicialmente la virulencia de los serovares de GPS fue determinada mediante la inoculación intraperitoneal de lechones de aproximadamente 6 kg de peso vivo, libres de patógenos específicos o SPF (por sus siglas en inglés, specific-pathogen-free). Se consideraron serovares altamente virulentos a los serovares que causaron alta morbilidad y mortalidad en los lechones, 4 días post inoculación. Los serovares que causaron lesiones de poliserositis, pero sin mortalidad durante los 4 días post inoculación fueron considerados medianamente virulentos y los que no causaron ningún signo clínico durante este mismo tiempo, se consideraron no virulentos. (Kielstein y Rapp-Gabrielson, 1992). Ver cuadro 13.

La virulencia de las cepas de GPS es muy variable, desde cepas muy patógenas (como la cepa Nagasaki, serotipo 5, ST24) hasta cepas que no han mostrado un potencial patogénico como los aislados de los serotipos 3, 6, 9 y 11 (Pina *et al*., 2009). Sin embargo, actualmente sabemos que no existe una concordancia definida entre la virulencia y el serovar, es decir varios aislados de GPS que pertenecen al mismo serovar, pueden exhibir diferentes niveles de virulencia (Olvera *et al.*, 2007b; Aragon *et al*., 2010; Brockmeier *et al.*, 2014; Dazzi *et al.*, 2020). Ver cuadro 13.

Cuadro 13. Diferencia entre grados de virulencia de serovares de *Glaesserella parasuis.*

Vía de inoculación	Virulencia de serovares		
	Alta	**Media**	**No virulentas**
Intraperitoneal (Kielstein y Rapp-Gabrielson, 1992)	1, 5, 10, 12, 13, 14	2, 4, 8, 15	3, 6, 7, 9, 11
Intranasal (Aragon *et al.*, 2010)	4	10	4, 10
Intranasal (Brockmeier *et al.*, 2014)	1, 2, 5, 13	3, 15	7, 9, 11
Intratraqueal (Dazzi *et al.*, 2020)	7	7	

Alta: Alta morbilidad y mortalidad en los lechones, 4 días post inoculación, Media: Lesiones de poliserositis, pero sin mortalidad durante los 4 días post inoculación, No virulentas: no causaron ningún signo clínico. Fuente: Elaborado en base a la información reportada por los autores citados en el cuadro.

Existe evidencia cada vez más creciente de la participación del serovar 7 como un serovar patogénico, inicialmente considerado como no virulento (Kielstein y Rapp-Gabrielson, 1992; Zhang *et al.*, 2019a), ahora se le asocia a casos de enfermedad de Glässer. El potencial patogénico del serovar 7 de GPS fue demostrado experimentalmente por inoculación intratraqueal a lechones de 42 días sin encalostrar, que llegaron a desarrollar enfermedad de Glässer (Dazzi *et al.*, 2020). Países como EE.UU., Canadá, China, Vietnam y otros en Europa, han venido reportando este hallazgo. (Schuwerk *et al.*, 2020; Macedo *et al.*, 2021; Mugabi *et al*., 2023).

2.3.2.1. Aislamiento de serovares: nasales e internos

Los serovares de GPS de mayor importancia clínica son los que se aíslan de tejidos internos (tejido pulmonar y tejidos sistémicos como pericardio, bazo, peritoneo, meninges, articulaciones, etc.) ya que para diseminarse a estos puntos, deben haber sobrepasado las defensas del hospedador para posteriormente desarrollar la enfermedad de Glässer (Costa-Hurtado *et al.*, 2013b). Entre estos aislados es común encontrar a los serovares 4, 5/12, 1, 7 y 13, reportados por varios autores (Kielstein y Rapp-Gabrielson, 1992; Oliveira *et al.*, 2003a; Angen *et al.*, 2004; Ma *et al.*, 2016; Van *et al.*, 2019; Dazzi *et al.*, 2020; Schuwerk *et al.*, 2020; Macedo *et al.*, 2021). Los serovares 3, 11 y 15 se detectaron en menos del 1% de los aislados de tejidos internos, por lo tanto, los consideran como serovares de menor importancia clínica en zonas de Norteamérica, Europa y Asia (Macedo *et al.*, 2021).

Los cerdos sanos pueden albergar cepas de GPS en el tracto respiratorio superior (aislados nasales), que podrían ser no virulentas, pero también se puede llegar a detectar aislados

potencialmente patógenos de estos puntos (Cerdà-Cuéllar *et al.*, 2010; P. Zhang *et al.*, 2019b). En 2021, Macedo y colaboradores detectaron los serovares 6, 8, 9, 10 y 15 como las más frecuentes (43.6%) en aislados de GPS del tracto respiratorio superior y estos solo representaron el 7% del total de aislados internos. Sin embargo, se han reportado aislados de origen chino con una mayor frecuencia de serovares 6 y 8 de tejidos internos, lo que puede indicar un cambio en la virulencia de estos serovares.

2.4. PATOGENIA DE LA ENFERMEDAD DE GLÄSSER

Para que la enfermedad se produzca, la GPS colonizadora debe haber invadido al hospedador, evadido al sistema inmune y mantenido una multiplicación bacteriana exitosa con la consecuente lesión a los tejidos. La entrada al hospedador por la vía intranasal es la más común, en esta etapa la producción de adhesinas y formación de biopelículas son importantes en la colonización inicial. Sin embargo, dependiendo de la cepa, su estado planctónico podría permitirles su diseminación dentro del animal (Bello-Ortí *et al.*, 2014a).

Otros eventos importantes en la infección por GPS incluyen la adhesión e invasión de células epiteliales, la inducción de apoptosis y liberación de citoquinas (Bouchet *et al.*, 2009). Hay estudios que indican que la toxina de distención citoletal o CDT (cytolethal distending toxin, por sus siglas en inglés) y los residuos de azúcar del lipooligosacárido capsular o LOS (lipooligosaccharide, por sus siglas en inglés) interactúan con las células epiteliales traqueales en esta fase (Zhang *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2016).

Posteriormente, GPS desciende hasta el pulmón; mientras que las cepas no virulentas son eliminadas de forma eficaz por los macrófagos alveolares porcinos o PAMs (porcine alveolar macrophages, por sus siglas en inglés) las cepas virulentas escapan de ser fagocitadas por estos (Bello-Ortí *et al.*, 2014b) mediante la expresión de genes, como los autotransportadores triméricos asociados a la virulencia llamados *vtaA* (Costa-Hurtado *et al*., 2012) y por la expresión de la cápsula bacteriana (Olvera *et al*., 2009).

En el pulmón infectado por cepas virulentas de GPS, se ha informado expresión *in vivo* de factores de virulencia asociado con los genes *vta*A, *sia*B y también proteasas (Bello-Ortí *et al.*, 2015). Las proteínas expresadas por *sia*B y la neuraminidasa de GPS actúan en la captación y utilización del ácido siálico modificando la superficie bacteriana para evadir al sistema inmune (Martínez-Moliner *et al.*, 2012; Perry *et al.*, 2013). La expresión de genes para la captación de hierro es necesario también para la supervivencia de GPS en el pulmón (Bello-Ortí *et al.*, 2015).

Por lo anteriormente indicado, las cepas virulentas pueden también establecer una infección pulmonar (Costa-Hurtado *et al.*, 2013) y luego pasar brevemente por la sangre hasta llegar a sitios

sistémicos (Vahle *et al.*, 1995). Para poder llegar hacia la sangre, la GPS virulenta se adhiere al endotelio vascular; algunos estudios indican que los LOS intervienen en este paso, además de inducir inflamación (Zhang *et al.*, 2013, 2014). Cuando las células endoteliales son invadidas; se induce la producción de citocinas proinflamatorias como las Interleucinas (IL): IL-6 e IL-8, así como la apoptosis de estas células (Frandoloso *et al.*, 2013). Este mismo mecanismo puede ser utilizado por GPS para pasar a través de la barrera hematoencefálica (Aragon *et al.*, 2019).

Ya en la sangre, GPS virulenta sobrevive a la acción del complemento (Cerdà-Cuéllar y Aragon, 2008) debido a varios factores como la proteína de membrana externa P2 (Zhang *et al.*, 2012) y la proteína de biosíntesis de polisacáridos CapD que le brindan esta resistencia en el suero sanguíneo (Wang *et al*., 2013). A partir de aquí la diseminación sistémica induce un severo aumento de la concentración de IL-8 y marcador CD163 soluble que conlleva al cuadro inflamatorio en las serosas de los órganos infectados que se traducen en las lesiones observadas en la enfermedad de Glässer (Costa-Hurtado *et al.*, 2013).

Recientemente se ha informado que, en la patogenia de cepas virulentas de GPS, durante la interacción de la CDT y LOS con el endotelio; es necesario que los LOS estén sialidados para la invasión epitelial, esto le permitirá utilizar Siglec1 (sialic acid-binding Ig-like lectin 1, por sus siglas en inglés) en los PAMs e inducirá la producción de TGFβ1; Siendo un componente importante en la invasión, al reducir la expresión de la molécula de adhesión extracelular fibronectina y las uniones estrechas (Wang *et al.*, 2021).

2.5. SIGNOS CLÍNICOS

La edad de aparición de los signos clínicos asociados a GPS en una granja, puede ser variable por los factores expuestos anteriormente; pero es entre las cuatro a ocho semanas de vida donde se reportan principalmente los casos. Aun así; la enfermedad de Glässer puede observarse en otras edades, incluso en animales adultos (Aragon *et al*., 2019). El periodo de incubación también puede variar de acuerdo a la virulencia de la cepa infectante, este periodo va desde menos de 24 horas hasta cuatro a cinco días posinfección, estos tiempos fueron obtenidos en 2010 por Aragón y colaboradores en infecciones experimentales con lechones libres de GPS.

Los signos causados por GPS no son patognomónicos, son inespecíficos; por ello el diagnóstico de la enfermedad siempre debe confirmarse con pruebas de laboratorio que permitan el aislamiento o detección del agente infeccioso (Bojesen *et al.*, 2022). En 1994, Hoefling describió hasta cuatro formas de presentación en cerdos infectados por GPS: la poliserositis fibrinosa, septicemia (sin poliserositis), miositis aguda y enfermedad respiratoria. Sin embargo, actualmente

los signos se describen de acuerdo al curso de la enfermedad, como cuadro hiperagudo, agudo o crónico (Aragon *et al*., 2019).

Cuadro hiperagudo y agudo

La presentación hiperaguda (curso menor a 48 horas) ocurre con muerte súbita sin signos clínicos previos (Peet *et al.*, 1983). La presentación aguda, conocida como la enfermedad de Glässer; evidencia una serie de signos de acuerdo a los órganos que se vean afectados, por ejemplo: respiración abdominal, tos, cojeras con articulaciones inflamadas, postración decúbito lateral, temblores, fiebre y septicemia con muerte aguda (Vahle *et al.*, 1995). No necesariamente se observan estos signos a la vez en un mismo animal. Esta presentación clínica puede causar una mortalidad entre 5-10% (Aragon *et al.*, 2019).

Cuadro crónico

Cuando la signología observada en un cuadro de enfermedad de Glässer es leve, los animales pueden sobrevivir a esta fase y desarrollar una presentación crónica donde los signos principales observados son cojeras, crecimiento reducido y pelo hirsuto (Aragon *et al.*, 2019). Por último, GPS también se ha asociado con cuadros neumónicos (con consolidados en los lóbulos pulmonares craneoventrales) expresados con tos y disnea clínicamente (Little, 1970).

2.6. LESIONES

2.6.1. Macroscópicas

Las lesiones macroscópicas observadas en la infección por GPS no son patognomónicas (Bojesen *et al.*, 2022). En los cuadros hiperagudos las lesiones observadas son inexistentes, aunque se ha reportado petequias en algunos órganos (Peet *et al.*, 1983) como las observadas en epicardio, pulmones y timo en un lechón de 42 días que murió súbitamente a las 24 horas post inoculación experimental de un inóculo de GPS (Dazzi *et al.*, 2020). También se ha informado de un aumento de líquido serosanguinolento en cavidades corporales, pero sin la presencia de fibrina (Aragon *et al.*, 2019).

En los cuadros agudos (enfermedad de Glässer) se observa una poliserositis (en meninges, pleura, pericardio, peritoneo y sinovia) fibrinosa o fibrinopurulenta, meningitis y poliartritis (Oliveira *et al.*, 2003b). Se ha observado también que los cerdos con cuadros nerviosos por enfermedad de Glässer comúnmente no muestran lesiones macroscópicas. En los cuadros crónicos se evidencia una fibrosis severa de las serosas (pleura, pericardio y/o peritoneo) y artritis crónica (Aragon *et al.*, 2019).

Como se ha mencionado anteriormente, se vienen reportando brotes recientes de enfermedad de Glässer asociada al serovar 7 de GPS (Turni y Blackall, 2010; Wang *et al.*, 2017), en ese sentido Dazzi y colaboradores, en 2020, definieron nuevas lesiones macroscópicas al infectar lechones de 42 días, vía intratraqueal, con un inóculo bacteriano de GPS. Las lesiones descritas fueron de opacidad corneal, congestión escleral y congestión del nervio óptico, observadas en cuatro animales (4/20) que no habían sido reportadas anteriormente para enfermedad de Glässer. Además, se describieron las lesiones clásicas de esta enfermedad como pleuritis (16/20), poliartritis (17/20), pericarditis (18/20), peritonitis (14/20) y meningitis (13/20) (Dazzi *et al.*, 2020). Ver figura 6.

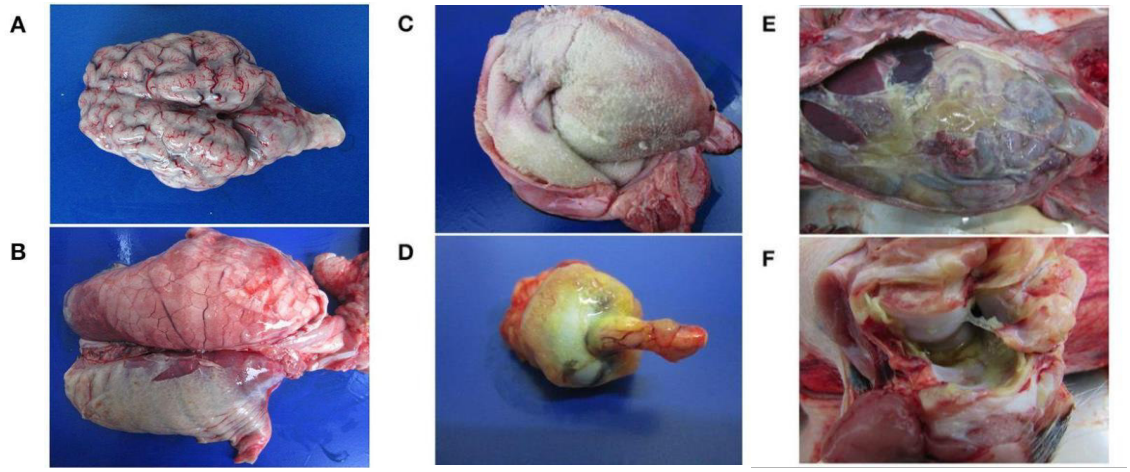


Figura 6. Lesiones macroscópicas de la enfermedad de Glässer. **A:** Meningitis, **B:** Severa pleuritis, **C:** Pericarditis fibrinosupurativa, **D:** opacidad corneal asociada con congestión del nervio óptico, **E:** Peritonitis con denso agregado de fibrina que cubre la cavidad abdominal, **F:** Artritis. Fuente: Dazzi *et al.*, 2020

2.6.2. Microscópicas

La histopatología en los cuadros hiperagudos revela microhemorragias y una coagulación intravascular diseminada. En los cuadros agudos, la histopatología no brinda una información relevante adicional en la mayoría de casos, ya que se observa la serositis fibrinosa o fibrinopurulenta observada macroscópicamente; sin embargo, es de utilidad en los casos neurológicos de enfermedad de Glässer donde macroscópicamente no existe evidencia de lesión (Aragon *et al.*, 2019). Además, la pielonefritis se ha observado como una lesión común en los cerdos infectados experimentalmente con el serovar 5 de GPS (Palzer *et al.*, 2015b).

Microscópicamente la serositis o poliserositis se observa como una acumulación de redes de fibrina asociada con abundantes neutrófilos y macrófagos con gránulos basófilos citoplasmáticos. La meningitis fibrinosupurativa es la principal lesión microscópica presente en los casos nerviosos de enfermedad de Glässer, pero entre estos, nuevas lesiones fueron descritas en 2020 en 4 lechones infectados experimentalmente, donde se observaron perineuritis fibrinosupurativa del nervio óptico, degeneración corneal, congestión de los vasos retinianos, endoftalmitis asociado con material fibrinoide y abundantes neutrófilos en la conjuntiva, el iris y el cuerpo ciliar que se adhieren al epitelio corneal (Dazzi *et al.*, 2020)

2.7. DIAGNÓSTICO

2.7.1. Diagnóstico lesional diferencial

La poliserositis fibrinosa observada en la enfermedad de Glässer no es una lesión patognomónica, por ello se debe incluir otros diagnósticos diferenciales como la poliserositis causada por *Streptococcus suis* (Reams *et al.*, 1994) o *Mycoplasma hyorhinis* (Palzer *et al.*, 2015a) que afectan cerdos en edades similares. Asimismo, *Actinobacillus suis* produce una bronconeumonía con poliserositis similar a GPS (MacInnes *et al.*, 2008). Se evaluó la distribución de las lesiones en casos diagnosticados con los cuatro agentes patógenos mencionados durante un periodo de seis años (Silva *et al.*, 2023) y se observó que la serositis es la principal lesión compartida por todos estos, seguida de la bronconeumonía que es una lesión frecuente en GPS, *Streptococcus suis* y *Actinobacillus suis* (ver figura 7).

Por otro lado, la cojera y poliartritis observadas en Glässer también pueden ser ocasionadas por *Erysipelothrix rhusiopathiae* y *Mycoplasma hyosynoviae*, pero de forma crónica no purulenta en animales de engorde principalmente (Hariharan *et al.*, 1992). Por último, un cuadro nervioso similar al de Glässer puede ser causado también por *Escherichia coli* productora de la toxina tipo Shiga 2e (stx2e) en cerdos destetados, pero no se observa la meningitis fibrinopurulenta clásica de GPS (Moxley, 2000).

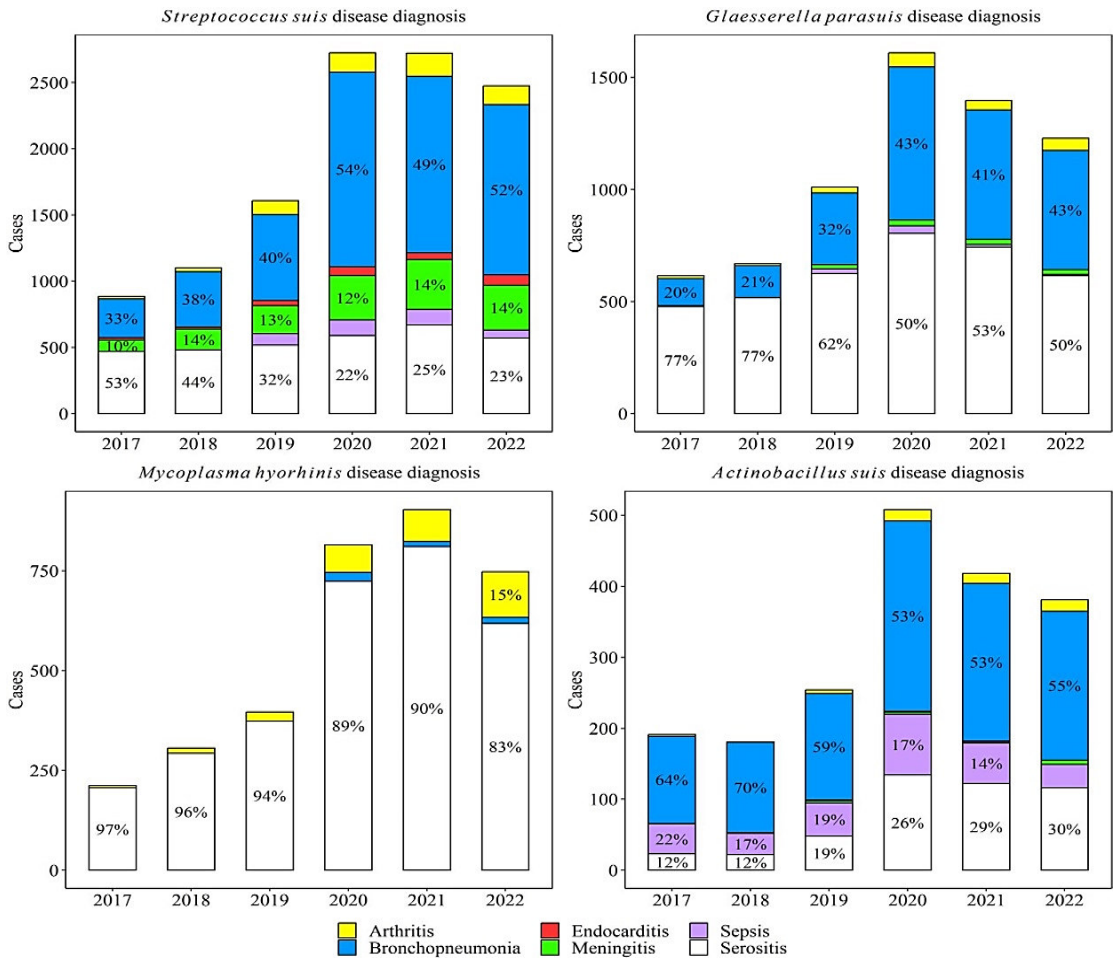


Figura 7. Diagnóstico lesional diferencial. Se muestra la distribución de las lesiones de animales infectados por *Streptococcus suis*, *Glaesserella parasuis*, *Mycoplasma hyorhinis* y *Actinobacillus suis* durante un periodo de 6 años. Fuente: Silva *et al.*, 2023.

2.7.2. Diagnóstico microbiológico

El aislamiento microbiológico de GPS puede llegar a ser complicado (del Río *et al.*, 2003), pero es importante para pruebas posteriores como sensibilidad a los antimicrobianos y tipificación de la cepa. Esta bacteria requiere del factor V para su crecimiento, por lo tanto, el aislamiento continúa realizándose en agar Chocolate o en agar Sangre con una estría nodriza de *Staphylococcus aureus* que brindará la fuente de factor V. Luego de 1 -3 días de incubación, las pequeñas colonias de GPS (alrededor de 1 -2 mm) crecerán de color gris oscuro o traslúcidas no hemolíticas, aplanadas y de contorno definido en agar Chocolate o agar Sangre respectivamente (ver figura 8) (Aragon *et al.*, 2019; Bojesen *et al.*, 2022).



Figura 8. Crecimiento satelital de colonias de *Glaesserella parasuis* en la estría de *Staphylococcus aureus* en agar sangre. Fuente propia

2.7.3. Diagnóstico serológico

Para la detección de anticuerpos contra GPS se han venido utilizando tres diferentes ensayos: el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA), hemaglutinación indirecta (IHA) y la fijación del complemento (Miniats *et al.*, 1991a; Chen *et al.*, 2015b; Macedo *et al*., 2016). Las pruebas de IHA y de ELISA utilizan sobrenadantes de bacterias hervidas o extractos de bacterias con fenol caliente dializados en agua (lipooligosacáridos) como antígenos; sin embargo, los resultados observados con este tipo de antígenos son variables y en su mayoría negativos (Miniats *et al.*, 1991b).

Últimamente se ha venido desarrollando pruebas de IHA y ELISA en base al oligopéptido permeasa A (OppA); con este nuevo antígeno se ha superado la desventaja del anterior, es decir la detección de anticuerpos contra OppA puede diferenciar sueros de cerdos convalecientes (seropositivos) de cerdos sanos SPF (seronegativos) (Galina *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2015; Macedo *et al.*, 2016). La desventaja de estos ensayos, es que podría haber reacción cruzada con otros

patógenos porcinos que también presentan la proteína OppA, como los Enterobacterales (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Yersinia*) y otros *Pasteurellaceae* como Actinobacillus pleuropneumoniae (Goodell y Higgins, 1987; Tanabe *et al.*, 2006; Macedo *et al.*, 2016).

La prueba de ELISA es el método más usado para la detección de anticuerpos contra GPS, pero la elección del antígeno es determinante en el desarrollo de un ELISA, ya que su sensibilidad y especificidad pueden verse afectadas por factores como la localización y la inmunogenicidad del antígeno, así como su semejanza con antígenos de otros microorganismos relacionados (Grøndahl-Hansen *et al.*, 2003; Yang *et al*., 2011). En 2019, se desarrolló un ELISA para la detección de anticuerpos contra GPS basado en un dominio de autotransportador monomérico (Apd), que es un componente antigénico específico de GPS, universal entre todos sus serovares, incluyendo los no tipificables; este ELISA demostró ser capaz de detectar los anticuerpos en animales infectados y vacunados experimentalmente (Yunbao Liu *et al.*, 2019).

2.7.4. Diagnóstico molecular

Como se ha indicado, el aislamiento de GPS es difícil, ya que esta bacteria es muy sensible a cambios de pH y de temperatura (Morozumi e Hiramune, 1982), crece lentamente *in vitro,* por lo que puede ser superada fácilmente por otras bacterias de crecimiento rápido; además de ser nutricionalmente exigente (Oliveira y Pijoan, 2004). Por ello, los métodos basados en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), sobre todo la PCR en tiempo real, son una buena alternativa diagnóstica, incluso puede llegar a detectar el material genético de GPS, aun cuando la bacteria no está viable (Angen *et al*., 2007; Turni *et al.*, 2010).

En 2001, Oliveira y colaboradores desarrollaron una PCR convencional para detección de GPS, pero con problemas de especificidad, ya que se observaban también resultados positivos para *Actinobacillus indolicus, Actinobacillus porcinus* y *Actinobacillus minor* (Oliveira *et al*., 2001); y cuando se comparó esta técnica con el cultivo microbiológico de muestras de cerdos infectados experimentalmente con GPS, la PCR convencional tuvo menos sensibilidad que el cultivo microbiológico (Turni y Blackall, 2007). Otra PCR fue desarrollada en 2007, pero se demostró que era ligeramente menos sensible que la PCR descrita en 2001, para muestras clínicas y cultivos puros (Angen *et al.*, 2007).

Ambas PCR, desarrolladas en 2001 y 2007, detectan regiones del gen del *ARNr 16S* que normalmente se utiliza como marcador taxonómico y filogenético en bacterias (Wilson *et al*., 1990); sin embargo un grupo de investigación, no encontró ninguna región dentro del gen *ARNr 16S* donde las secuencias de los primers de GPS fueran suficientemente diferentes de las de otras especies estrechamente relacionadas, utilizando una PCR en tiempo real. Por ello en 2010, se

desarrolló una PCR en tiempo real que amplifica una región del gen *inf* B, con alta sensibilidad y especificidad para la detección de GPS y mayor sensibilidad que el cultivo microbiológico (Turni *et al.*, 2010). El gen *inf* B ya había sido reportado como un buen marcador genético para estudios filogenéticos de especies (Hedegaard *et al*., 2000)

Actualmente ya contamos con PCR multiplex para una rápida serotipificación molecular de los serovares de GPS, esta prueba está basada en la variación que existe en los loci de la cápsula de las 15 serovares de referencia (Howell *et al.*, 2013), pero siendo capaz de distinguir solo 14 de los 15 serovares; ya que no pueden diferenciar entre los serovares 5 y 12 (ambos son reconocidos por el mismo par de primers). En esta prueba se reconocen las regiones de los siguientes genes: *funB* (serovar 1), *wzx* (serovar 2), *glyC* (serovar 3), *wciP* (serovar 4), *wcwK* (serovar 5 o 12), *gltI* (serovar 6), *funQ* (serovar 7), *scdA* (serovar 8), *funV* (serovar 9), *funX* (serovar 10), *amtA* (serovar 11), *gltP* (serovar 13), *funAB* (serovar 14) y *funI* (serovar 15), cuya detección se realiza en un solo paso (Howell *et al.*, 2015). Sin embargo, en 2017 se modificó el protocolo a tres pasos para una mejor interpretación de las bandas (Lacouture *et al*., 2017).

La PCR multiplex descrita para la serotipificación molecular; es un ensayo más rápido, más sensible y más específico que la IHA; por ello es una mejora significativa actual que reduce los aislados no tipificables y la ambigüedad de los resultados que antes se observaban con las otras pruebas (Howell *et al.*, 2015). Con el objetivo de reducir aún más el tiempo de la prueba y facilitar la interpretación de los resultados; se ha desarrollado una PCR tiempo real basado en el valor umbral de ciclo (Ct) para identificación y serotipificación de GPS. Esta prueba tiene un 98.8% de concordancia con la PCR multiplex descrita líneas arriba y al igual que esta, no puede diferenciar el serovar 5 del 12 (Cui *et al.*, 2021). Se ha descrito la LS-PCR basada en la secuencia líder de los genes *vtaA*, con el fin de predecir el potencial de virulencia de las cepas de GPS (Galofré-Milà *et al.*, 2017).

2.8. TRATAMIENTO

2.8.1. Tratamiento antibiótico

Los antibióticos han venido siendo usados en el tratamiento, pero también como preventivos de la enfermedad de Glässer; sin embargo, en el afán de reducir el uso profiláctico de antibióticos se debe poner énfasis en otras estrategias preventivas, como la vacunación (Aragon *et al.*, 2019). Por otro lado, los antibióticos como agentes terapéuticos en un brote sistémico de GPS deben ser utilizados tan pronto como se observen los signos clínicos y confirmar la sospecha con pruebas de laboratorio; junto con antiinflamatorios no esteroideos, sobre todo de forma parenteral

ya que los animales afectados normalmente reducen su ingesta de agua y alimentos por lo que la vía oral no sería eficiente (Viehmann *et al.*, 2013).

La monitorización de la sensibilidad de GPS a los antibióticos por medio de la prueba de concentración mínima inhibitoria (MIC) es una medida para evaluar los distintos principios activos empleados en el tratamiento de esta infección, así como para el ajuste de la dosis terapéutica según sea necesario. Se ha evaluado la actividad de la tildipirosina contra aislados de GPS y se demostró que el 90% de ellos muestran sensibilidad a concentraciones de 4 μg/mL, la cual es cubierta por la dosis promedio del antibiótico utilizado en porcinos (Peres *et al.*, 2020).

2.8.2. Tratamiento alternativo

En busca de una producción sostenible para evitar los residuos de antibióticos y el creciente problema de la resistencia antimicrobiana, las plantas medicinales asumen un papel importante en el tratamiento de enfermedades en producción animal. La escutelaria china (*Scutellaria baicalensis*) tiene efectos terapéuticos sobre enfermedades en animales causadas por bacterias, virus y otros microrganismos patógenos por sus propiedades antipiréticas, analgésicas, antiinflamatorias e inmunomoduladoras (Yin *et al.*, 2021)

Los principales compuestos bioactivos de la escutelaria china son la baicalina y la baicaleína. Se evaluó el efecto de la baicalina en el tratamiento de la infección por GPS y se demostró que regula la inflamación, mantiene la distribución de las uniones estrechas y evita anomalías en estas; ya que la inflamación provocada por GPS tiene la capacidad de dañar las uniones estrechas de la barrera vascular para permitir su distribución sistémica. En este sentido, se determinó que la baicalina tiene un efecto protector como tratamiento natural para el control de la infección por GPS (Liu *et al.*, 2021)

2.9. RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS (RAM)

La terapia profiláctica se realiza como una estrategia de control de la enfermedad de Glässer, pero dicha práctica está conduciendo a un aumento de la selección de cepas bacterianas resistentes (Moleres *et al.*, 2015; Brogden *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2019a). La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es una de las situaciones más preocupantes dentro de la perspectiva de UNA SOLA SALUD en todo el mundo. En ese sentido la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) ha proporcionado recomendaciones para el adecuado uso de los antimicrobianos en animales de producción, de la misma forma la Organización Mundial de la Salud (OMS) también ha dado a conocer la lista de agentes antimicrobianos de importancia crítica para la medicina humana (Costa-Hurtado *et al.*, 2020).

Respecto a la susceptibilidad de GPS a los antibióticos, existe variación de acuerdo a la región de estudio; Por ejemplo, en Reino Unido y Australia se informan aislados muy sensibles, mientras que en China se reporta altas tasas de resistencia a los antibióticos (Dayao *et al*., 2014; El Garch *et al.*, 2016). La resistencia observada contra tetraciclinas y β-lactámicos se asocia a genes en plásmidos (Moleres *et al*., 2015). Se ha sugerido que existe una asociación entre la baja variabilidad de microbiota nasal y el uso de antibióticos en el destete, esto podría predisponer a que GPS desarrolle la enfermedad de Glässer (Correa-Fiz *et al.*, 2016). En 2023, Mugabi y colaboradores evaluaron 218 aislados de GPS, donde detectaron 14 genes de resistencia a los antimicrobianos de nueve clases de antibióticos diferentes: betalactámicos, liconsamidas, macrólidos, estreptograminas B, polipéptidos, aminoglucósidos, quinolonas, sulfonamidas y tetraciclinas. Ver cuadro 14 y 15.

Cuadro 14. Porcentaje de resistencias a los antimicrobianos evaluados por concentración mínima inhibitoria en diferentes países (2007-2014).

Grupo de antibióticos	Antibiótico	Porcentajes (%)			
		España (de la Fuente *et al.*, 2007)	Reino Unido (de la Fuente *et al.*, 2007)	China (Zhou *et al.*, 2010)	Australia (Dayao *et al.*, 2014)
Aminociclitoles	Espectinomicina	23.3	10	10	-
Aminoglucósidos	Gentamicina	26.7	10	6.4	-
	Neomicina	33.3	20	-	-
β-lactámicos	Ampicilina	56.7	6.7	9.1	1
	Ceftiofur	6.70	0	0	0
	Penicilina	60	0	6.4	2
Fenicoles	Florfenicol	0	0	0	0
Macrólidos	Azitromicina	-	-	0	-
	Eritromicina	40	0	1.8	7
	Tilmicosina	40	0	0	22
	Tulatromicina	-	-	-	9
Pleuromutilinas	Tiamulina	40	3.3	0.9	-
Quinolonas	Ciprofloxacino	-	-	17.3	-
	Enrofloxacino	20	0	70.9	-
	Levofloxacino	-	-	6.4	-
Sulfonamidas	Sulfametoxazol / trimetoprim	53.3	10	44.5	40
Tetraciclinas	Tetraciclina	-	-	3.6	31
	Oxitetraciclina	40	6.7	-	-

Fuente: Elaborado en base a la información reportada por los autores citados en el cuadro.

Cuadro 15. Porcentaje de resistencias a los antimicrobianos evaluados por concentración mínima inhibitoria en diferentes países (2018-2022).

Grupo de antibióticos	Antibiótico	Porcentajes (%)			
		China (Zhao *et al.*, 2018)	Brasil (Silva *et al.*, 2022)	Taiwán (Wu *et al.*, 2023)	Alemania (Wiencek *et al.*, 2022)
Aminociclitoles	Espectinomicina	-	1.9	-	2.5
Aminoglucósidos	Gentamicina	-	0	-	7.4
	Neomicina	-	3.8	-	-
β-lactámicos	Amoxicilina	-	-	73.2	-
	Ampicilina	-	10.5	-	-
	Ceftiofur	-	2.9	2.2	1.8
	Cefalotina	-	-	-	5
	Penicilina	-	14.3	26.1	13.6
Fenicoles	Florfenicol	-	1.9	6	0.2
Lincosamidas	Clindamicina	-	50.5	-	-
Macrólidos	Claritromicina	-	-	62.5	-
	Eritromicina	-	-	-	43.3
	Tilmicosina	-	17.1	-	4.1
	Tilosina	-	97.1	-	-
	Tulatromicina	-	6.7	-	0.6
Pleuromutilinas	Tiamulina	-	1	9.4	2.7
Quinolonas	Ac. Nalidíxico	82.52	-	-	-
	Ciprofloxacina	23.8	-	-	-
	Danofloxacina	-	80	-	-
	Enrofloxacina	55.9	54.3	69.7	1.1
	Levofloxacina	20.3	-	-	-
	Norfloxacina	22.4	-	-	-

Cuadro 15. Porcentaje de resistencias a los antimicrobianos evaluados por concentración mínima inhibitoria en diferentes países (2018-2022). Continuación.

Grupo de antibióticos	Antibiótico	Porcentajes (%)			
		China (Zhao *et al.*, 2018)	Brasil (Silva *et al.*, 2022)	Taiwán (Wu *et al.*, 2023)	Alemania (Wiencek *et al.*, 2022)
Sulfonamidas	Sulfametoxazol / trimetoprim	-	62.9	82	-
	Sulfadimetoxina	-	89.5	-	-
Tetraciclinas	Tetraciclina	-	-	-	16.8
	Clortetraciclina	-	26.7	-	-

Fuente: Elaborado en base a la información reportada por los autores citados en el cuadro.

2.10. PREVENCIÓN Y CONTROL

Para obtener buenos resultados en el control de la enfermedad de Glässer se requiere tomar medidas desde un enfoque multifactorial, basándose en el correcto manejo de los animales en granja, adecuado uso de antibióticos y la vacunación (Costa-Hurtado *et al.*, 2020) Ver figura 9. Otras medidas adicionales son la bioseguridad, que disminuirá las coinfecciones con otros patógenos virales o bacterianos, y la correcta tipificación de los aislados asociados a cuadros clínicos en la granja problema, que proporcionarán información epidemiológica de la enfermedad. (Mugabi *et al.*, 2023).

2.10.1. Manejo de animales en granja

Una medida de control básica en granja es evitar la mezcla de cerdos de diferentes orígenes y edades. Esto debido a que, si bien se ha reportado que los lechones colonizados a edades tempranas en presencia de anticuerpos maternales tienen menor probabilidad de desarrollar signos clínicos y mortalidad por enfermedad de Glässer; esta colonización natural durante la lactancia no es lo suficientemente robusta como para generar protección contra la gran variedad de cepas de GPS, variedad que se ve aumentada con la mencionada mezcla de animales (Oliveira y Pijoan, 2004).

Eventos estresantes como el destete temprano, transporte por largas horas, inadecuado control de la temperatura y mal manejo de la ventilación provocan inmunosupresión y permiten la presentación de la enfermedad si existe la presencia de GPS virulentas. Por ello se debe enfocar los

esfuerzos para reducir al mínimo estos eventos, especialmente en la etapa de destete (Pereira *et al*., 2017)

2.10.2. Adecuado uso de antibióticos

El uso responsable de los antibióticos es una práctica fundamental para una buena gestión de la salud en medicina humana y veterinaria. El tratamiento debe aplicarse cuando se observan los primeros signos clínicos, ya que los cerdos tratados en etapas tempranas de la infección tienen más probabilidad de recuperarse (Costa-Hurtado *et al*., 2020). Ver figura 9. Aun así, esta práctica puede seleccionar cepas de GPS resistentes. En un estudio se reportaron aislamientos nasales resistentes a los antibióticos a partir de cerdos sanos (Zhang *et al.*, 2019a).

La aplicación de antibióticos en el periodo de colonización del tracto respiratorio superior puede interferir en la microbiota, disminuyendo la diversidad bacteriana. Se observó que la suspensión de antibióticos en el periodo perinatal da como resultado una mayor diversidad bacteriana de la microbiota nasal en los lechones y esto se ha relacionado a un mejor estado de salud. (Correa-Fiz *et al.*, 2019). También se ha reportado que su uso en esta etapa impide el desarrollo de una respuesta inmune eficiente ante futuras infecciones por cepas virulentas de GPS (Macedo *et al*., 2017).

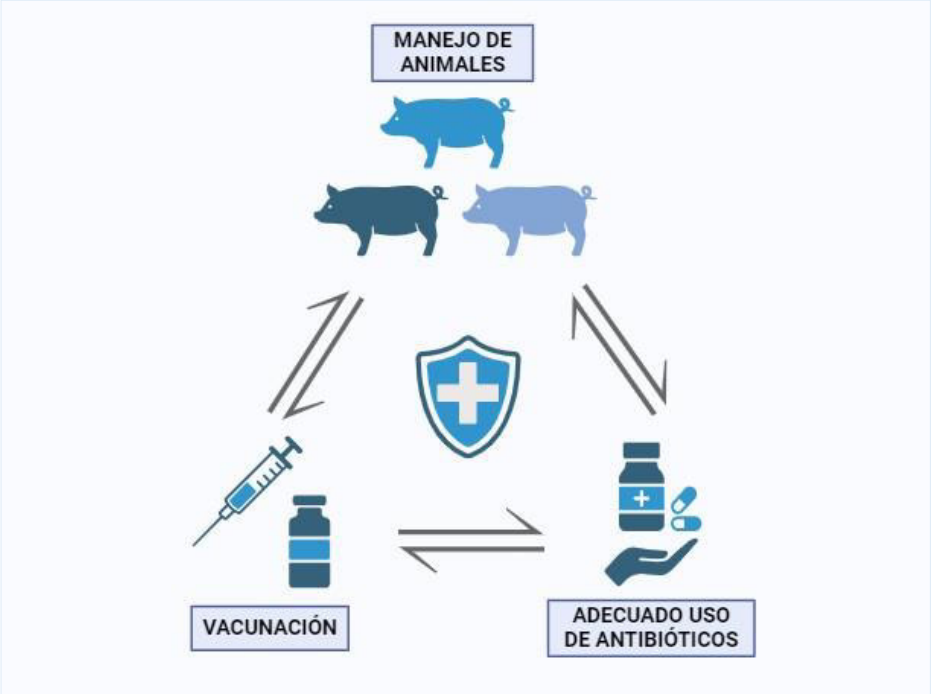


Figura 9. Medidas para la prevención y control de la enfermedad de Glässer desde un enfoque multifactorial. Fuente propia

2.11. VACUNACIÓN

La vacunación es una estrategia eficaz para prevenir la mortalidad por la enfermedad de Glässer. Siendo GPS un patógeno extracelular, la respuesta inmune humoral, es decir la producción anticuerpos, tiene un papel importante en la protección contra la enfermedad (Nedbalcova *et al*., 2011; Costa-Hurtado *et al.*, 2020).

2.11.1. Vacunas inactivadas

La producción de este tipo de vacunas inicia con la proliferación de una cepa virulenta de GPS en medios específicos, seguida de su inactivación con formaldehido. Posteriormente se procede con la centrifugación para obtener un sedimento (conformado por células bacterinas) que se resuspende en una solución tamponada y, finalmente, se formula con un adyuvante apropiado (Liu *et al*., 2016). El adyuvante seleccionado tiene una correlación directa con la eficacia de la vacuna, especialmente cuando la vacuna contiene varias cepas. En la evaluación de una vacuna trivalente se comprobó que el gel de poliacrilato de sodio proporciona una protección similar a la del aceite mineral y tiene un margen de seguridad comparable al del hidróxido de aluminio (Xue *et al*., 2015).

La concentración de la cepa y la dosis son otros factores a considerar para la eficacia de las vacunas inactivadas. Por ejemplo, se determinó que la concentración óptima de las bacterinas elaboradas con los serovares 4, 5 y 12 fue de 2 x 10^9, 1 x 10^9 y 1 x 10^9 UFC/mL respectivamente. En cuanto a la dosis, la administración consiste en dos dosis de 2 mL cada una, aplicadas con un intervalo de 21 días para lograr una respuesta inmune con una protección de hasta 6 meses contra la exposición a estos serovares (Zhao *et al*., 2016). Ver cuadro 16.

Altas concentraciones de anticuerpos maternales pueden ser transmitidos a los lechones por marranas inmunizadas con vacunas inactivadas (Baumann y Bilkei, 2002; Zhao *et al*., 2016). Se evaluó la vacunación de marranas entre las 8 a 9 semanas de preñez y se observó que los títulos de anticuerpos maternales transmitidos a sus lechones durante la lactancia pueden mantenerse hasta por 6 semanas, alcanzando un pico máximo a los 20 días de edad. Además estos anticuerpos no interfieren significativamente con la vacunación de los lechones por lo que se aconseja realizar la primera vacunación entre las 3 a 4 semanas de edad (Zhao *et al*., 2016).

Cuadro 16. Esquema de vacunación con vacunas inactivadas.

	Primera dosis	Segunda dosis	Revacunación
Marrana	8-9 semanas de gestación	21 días después de la primera	Siguiente preñez
Lechones	3 a 4 semanas de edad	21 días después de la primera	6 meses después

Fuente: Elaborado en base a la información reportada por Zhao *et al*., 2016

En un estudio para comparar la eficacia entre vacunas inactivadas autógenas y comerciales, se evidenció que ambas pueden proporcionar una protección del 100% contra la exposición a los serovares específicos que contienen. Sin embargo, la protección cruzada que ofrecen ambas frente a otros serovares es variable y limitada (Zhao *et al*., 2017). No obstante, debido a la variedad antigénica dentro de un mismo serovar (Ramos *et al*., 2022), las vacunas autógenas podrían tener ventaja sobre las vacunas comerciales.

Cuando las vacunas comerciales no brindan resultados satisfactorios, las vacunas autógenas son la alternativa más adecuada a corto plazo, siempre y cuando sean elaboradas con cepas aisladas de lesiones sistémicas en meninges, pericardio y articulaciones (Oliveira y Pijoan, 2004; Mcorist *et al.*, 2009). Además, ante la posibilidad de encontrar diferentes serovares en una misma granja y no se cuente con vacunas comerciales que los abarquen, las vacunas autógenas resultan una buena opción. (Aragon *et al.*, 2019).

Evaluar la virulencia de los serovares de las cepas involucradas y determinar su relevancia son medidas adicionales para asegurar el éxito de las vacunas autógenas (Scherrer *et al.*, 2022). Además, contar con una base de datos con la tipificación adecuada de las cepas de GPS presentes en una granja a lo largo del tiempo resulta de mucha utilidad. Esto permite verificar que las cepas empleadas en la elaboración de la vacuna autógena coincidan con las cepas circulantes de la granja, y también, detectar si hay nuevos brotes provocados por una cepa distinta e incluirla en la formulación (Pires *et al*., 2019).

2.11.2. Vacunas de subunidades

Las vacunas de subunidades se componen de moléculas antigénicas específicas para inducir una respuesta inmune hacia epítopos compartidos en cepas virulentas de GPS. La ventaja de este tipo de vacunas es que no afectarían a las cepas no virulentas presentes en la microbiota nasal que podrían tener efectos protectores contra la enfermedad (Brockmeier *et al.*, 2013).

Mediante la inmunoproteómica en conjunto con la secuenciación del genoma completo se viene identificando proteínas con potencial protector para el diseño de vacunas universales (Li *et al.*, 2015, Li *et al.*, 2017). En ese sentido, la proteína de unión a transferrina mutada (TbpB) ha mostrado resultados prometedores de protección, con una adecuada respuesta frente a GPS (Martínez-Martínez *et al.*, 2016). Por otra parte un fragmento común en los autotrasnportadores triméricos VtaA llamado F4 es común en las cepas virulentas de GPS por lo que lo convierte en un candidato vacunal llamativo (Correa-Fiz *et al.*, 2017).

Proteína de unión a la transferrina mutada (TbpB)

TbpB presenta 3 grupos (I, II y III) por la diferencia entre la composición de la secuencia de sus aminoácidos. Un estudio reveló la presencia de epítopos comunes entre los grupos I y III de TbpB en 27 (24 del grupo III y 3 del grupo I) aislados clínicos del serovar 7 clasificados como virulentos mediante LS-PCR. El estudio también evaluó la eficacia de una vacuna basada en un TbpB del grupo III y reveló que esta induce protección no solo contra las cepas del grupo III del serovar 7, si no que también, una protección cruzada en el desafío a una cepa del grupo I del mismo serovar. Por lo tanto, a pesar de la diversidad antigénica de TbpB, una vacuna con esta proteína puede generar inmunidad contra distintas cepas del serovar 7 (Ramos *et al*., 2022).

La inmunización de los lechones lactantes también fue conseguida con la aplicación de una vacuna subunitaria basada en TbpB. Esta vacuna estimuló la producción de anticuerpos maternales y se confirmó su paso a través de la glándula mamaria permaneciendo en los lechones hasta los 35 días que duró el ensayo. Adicionalmente, se observó que los lechones de una marrana vacunada con TbpB mostraron una carga significativamente menor de GPS en el tracto respiratorio superior en comparación con los lechones de una marrana inmunizada con una vacuna autógena (Dellagostin *et al.*, 2023).

Fragmento F4 del autotransportador trimérico vtaA

Se elaboró una vacuna a base del fragmento 4 de vtaA, y se inoculó a marranas a los 32 y 12 días antes del parto, demostrando un alto nivel de en la producción de anticuerpos específicos. Tras el parto, se permitió que las marranas amamantaran a sus lechones durante 3 semanas para finalmente desafiarlos con 2 cepas virulentas (serovares 5 y 13) de GPS. Se observó que los lechones tuvieron signos clínicos más leves y lograron ganar más peso que los del grupo control (López-Serrano *et al.*, 2021).

III. OBJETIVOS

El objetivo de la presente investigación es hacer una revisión de la bibliografía que se ha ido generando y actualizando durante los últimos años sobre *Glaesserella parasuis*, agente causal de la enfermedad de Glässer.

IV. METODOLOGÍA

Se realizó la revisión bibliográfica sobre *Glaesserella parasuis* y enfermedad de Glässer entre los meses de febrero a mayo del 2024, utilizando diferentes artículos científicos, así como libros de microbiología veterinaria y enfermedades infecciosas en porcinos.

V. CONCLUSIONES

- La especie bacteriana *Haemophilus parasuis* es diferente por características proteómicas, genómicas y fenotípicas al género *Haemophilus*, lo cual justifica su reclasificación como *Glaesserella parasuis*.

- Se ha definido una nueva especie: *Glaesserella australis*, aislada de pulmones porcinos que ha mostrado homología con *Glaesserella parasuis.*

- Los serovares de *Glaesserella parasuis* más frecuentes son el 4, 5/12, 7, 1 y 13, mientras que los serovares no tipificables representan diferentes frecuencias que van desde 1.4% hasta 30%.

- El serovar de un aislado de *Glaesserella parasuis* no puede considerarse un indicador directo de virulencia, ya que esta bacteria es altamente heterogénea.

- Estudios recientes indican que el serovar 7 de *Glaesserella parasuis* es un serovar asociado a enfermedad de Glässer a pesar de haber sido considerado clásicamente como no virulento.

- Los genes *VtaA* del grupo 1 están asociados a la virulencia de los aislados de *Glaesserella parasuis.*

- La clasificación por secuenciotipos contribuye a la monitorización de los aislados de *Glaesserella parasuis*, sobre todo aquellos que se asocian a cuadros graves de enfermedad y alta mortalidad.

- Las pruebas de PCR multiplex son la opción más rápida, sensible y específica para la serotipificación de *Glaesserella parasuis*, aunque no permiten diferenciar los serovares 5 y 12.

- La resistencia a los antimicrobianos en *Glaesserella parasuis* a los diferentes grupos de antibióticos, se ha visto incrementada en los últimos años.

- Las vacunas inactivadas ofrecen una alta protección y son efectivas para prevenir la enfermedad de Glässer, siempre y cuando contengan los serovares circulantes en una granja en región.

- Las vacunas de subunidades en base a la proteína de unión a la transferrina mutada (TbpB) y el fragmento F4 del autotransportador trimérico vtaA, se perfilan como candidatas prometedoras para la prevención de la enfermedad de Glässer.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- ***Angen Ø, Oliveira S, Ahrens P, Svensmark B, Leser TD. 2007.*** Development of an improved species specific PCR test for detection of Haemophilus parasuis. Veterinary Microbiology 119(2–4): 266–276. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2006.10.008
- ***Angen Ø, Svensmark B, Mittal KR. 2004.*** Serological characterization of Danish Haemophilus parasuis isolates. Veterinary Microbiology 103(3–4): 255–258. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2004.07.013
- ***Aragon V. 2008.*** Enfermedad de Glässer: Epidemiología y tipado - Artículos - 3tres3 LATAM, la página del Cerdo. [Internet], [20 abril 2024]. Disponible en: https://www.3tres3.com/latam/articulos/enfermedad-de-glasser-epidemiologia-y-tipado_10681/
- ***Aragon V, Cerdà-Cuéllar M, Fraile L, Mombarg M, Nofrarías M, Olvera A, Sibila M, Solanes D, Segalés J. 2010.*** Correlation between clinico-pathological outcome and typing of Haemophilus parasuis field strains. Veterinary Microbiology 142(3–4): 387–393. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2009.10.025
- ***Aragon V, Segalés J, Dan Tucker AW. 2019.*** Glässer's Disease. En: Diseases of Swine: John Wiley & Sons. p 844–853. Ltd. https://doi.org/10.1002/9781119350927.CH54
- ***Baumann G, Bilkei G. 2002.*** Effect of vaccinating sows and their piglets on the development of Glässer's disease induced by a virulent strain of Haemophilus parasuis serovar 5. Vet Rec Jul 151(1): 18-21. doi: 10.1136/vr.151.1.18. PMID: 12137419.
- ***Bello-Ortí B, Deslandes V, Tremblay YDN, Labrie J, Howell KJ, Tucker AW, Maskell DJ, Aragon V, Jacques M. 2014a.*** Biofilm formation by virulent and non-virulent strains of Haemophilus parasuis. Veterinary Research 45(1): 1–14. https://doi.org/10.1186/S13567-014-0104-9
- ***Bello-Ortí B, Costa-Hurtado M, Martinez-Moliner V, Segalés J, Aragon V. 2014b.*** Time course Haemophilus parasuis infection reveals pathological differences between virulent and non-virulent strains in the respiratory tract. Veterinary Microbiology *170*(3–4): 430–437. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2014.01.011
- ***Bello-Ortí B, Howell KJ, Tucker AW, Maskell DJ, Aragon V. 2015.*** Metatranscriptomics reveals metabolic adaptation and induction of virulence factors by Haemophilus parasuis during lung infection. Veterinary Research 46(1): 1–13. https://doi.org/10.1186/S13567-015-0225-9/FIGURES/3
- ***Biberstein EL, White DC. 1969.*** A proposal for the establishment of two new Haemophilus species. Journal of Medical Microbiology 2(1): 75–78. https://doi.org/10.1099/00222615-2-1-75/CITE/REFWORKS

- ***Blackall PJ, Rapp-Gabrielson VJ, Hampson DJ. 1996.*** Serological characterisation of Haemophilus parasuis isolates from Australian pigs. Australian Veterinary Journal 73(3): 93–95. https://doi.org/10.1111/J.1751-0813.1996.TB09984.X
- ***Blanco I, Galina-Pantoja L, Oliveira S, Pijoan C, Sánchez C, Canals A. 2004.*** Comparison between Haemophilus parasuis infection in colostrums-deprived and sow-reared piglets. Veterinary Microbiology 103(1–2): 21–27. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2004.06.011
- ***Boerlin P, Poljak Z, Gallant J, Chalmers G, Nicholson V, Soltes GA, MacInnes JI. 2013.*** Genetic diversity of Haemophilus parasuis from sick and healthy pigs. Veterinary Microbiology 167(3–4): 459–467. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2013.07.028
- ***Bojesen AM, Aragon V, Blackall PJ. 2022***. Other Pasteurellaceae: Avibacterium, Bibersteinia , Gallibacterium. En: Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. 5ª ed. John Wiley & Sons. p290–317. Ltd. https://doi.org/10.1002/9781119754862.CH13
- ***Bouchet B, Vanier G, Jacques M, Auger E, Gottschalk M. 2009.*** Studies on the interactions of Haemophilus parasuis with porcine epithelial tracheal cells: Limited role of LOS in apoptosis and pro-inflammatory cytokine release. Microbial Pathogenesis 46(2): 108–113. https://doi.org/10.1016/J.MICPATH.2008.10.008
- ***Brockmeier SL, Loving CL, Mullins MA, Register KB, Nicholson TL, Wiseman BS, Baker RB, Kehrli ME. 2013.*** Virulence, Transmission, and Heterologous Protection of Four Isolates of Haemophilus parasuis. Clinical and Vaccine Immunology : CVI 20(9): 1466. https://doi.org/10.1128/CVI.00168-13
- ***Brockmeier SL, Register KB, Kuehn JS, Nicholson TL, Loving CL, Bayles DO, Shore SM, Phillips GJ. 2014.*** Virulence and Draft Genome Sequence Overview of Multiple Strains of the Swine Pathogen Haemophilus parasuis. PLOS ONE 9(8): e103787. https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0103787
- ***Brogden S, Pavlović A, Tegeler R, Kaspar H, De Vaan N, Kehrenberg C. 2018.*** Antimicrobial susceptibility of Haemophilus parasuis isolates from Germany by use of a proposed standard method for harmonized testing. Veterinary Microbiology 217: 32–35. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2018.02.017
- ***Cai X, Chen H, Blackall PJ, Yin Z, Wang L, Liu Z, Jin M. 2005.*** Serological characterization of Haemophilus parasuis isolates from China. Veterinary Microbiology 111(3–4): 231–236. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2005.07.007
- ***Castilla KS, de Gobbi DDS, Moreno LZ, Paixão R, Coutinho TA, dos Santos JL, Moreno AM. 2012.*** Characterization of Haemophilus parasuis isolated from Brazilian swine through serotyping, AFLP and PFGE. Research in Veterinary Science 92(3): 366–371. https://doi.org/10.1016/J.RVSC.2011.04.006

- ***Castillo AF, Alejos I, Sedano A, García A, Tomás J, De la Cruz K, Diaz G. 2022.*** Molecular characterization by serotyping PCR and LS-PCR of Glaesserella parasuis strains isolated from clinical cases. Engormix [Internet], [23 abril 2024]. Disponible en: https://en.engormix.com/pig-industry/swine-health/molecular-characterization-serotyping-pcr_v65835/
- ***Cerdà-Cuéllar M, Naranjo JF, Verge A, Nofrarías M, Cortey M, Olvera A, Segalés J, Aragon V. 2010.*** Sow vaccination modulates the colonization of piglets by Haemophilus parasuis. Veterinary Microbiology 145(3–4): 315–320. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2010.04.002
- ***Cerdà-Cuéllar M, Aragon V. 2008.*** Serum-resistance in Haemophilus parasuis is associated with systemic disease in swine. Veterinary Journal (London, England : 1997) 175(3): 384–389. https://doi.org/10.1016/J.TVJL.2007.01.016
- ***Chen S, Chu Y, Zhao P, He Y, Jian Y, Liu Y, Lu Z. 2015.*** Development of a recombinant OppA-based indirect hemagglutination test for the detection of antibodies against Haemophilus parasuis. Acta Tropica 148: 8–12. https://doi.org/10.1016/J.ACTATROPICA.2015.04.009
- ***Christensen H, Kuhnert P, Norskov-Lauritsen N, Planet PJ, Bisgaard M. 2014.*** The family pasteurellaceae. The Prokaryotes: Gammaproteobacteria, 9783642389221: 535–564. https://doi.org/10.1007/978-3-642-38922-1_224/COVER
- ***Correa-Fiz F, Fraile L, Aragon V. 2016.*** Piglet nasal microbiota at weaning may influence the development of Glässer's disease during the rearing period. BMC Genomics 17(1): 1–14. https://doi.org/10.1186/S12864-016-2700-8/TABLES/4
- ***Correa-Fiz F, Galofre-Mila N, Costa-Hurtado M, Aragon V. 2017.*** Identification of a surface epitope specific of virulent strains of Haemophilus parasuis. Vet Microbiol 198: 116-120. doi: 10.1016/j.vetmic.2016.12.015. Epub 2016 Dec 16. PMID: 28062001.
- ***Correa-Fiz F, Gonçalves Dos Santos JM, Illas F, Aragon V. 2019.*** Antimicrobial removal on piglets promotes health and higher bacterial diversity in the nasal microbiota. Sci Rep 9(1): 6545. doi: 10.1038/s41598-019-43022-y. PMID: 31024076; PMCID: PMC6484018.
- ***Costa-Hurtado M, Aragon V. 2013.*** Advances in the quest for virulence factors of Haemophilus parasuis. Veterinary Journal (London, England : 1997) 198(3): 571–576. https://doi.org/10.1016/J.TVJL.2013.08.027
- ***Costa-Hurtado M, Ballester M, Galofré-Mil N, Darji A, Aragon V. 2012.*** VtaA8 and VtaA9 from Haemophilus parasuis delay phagocytosis by alveolar macrophages. Veterinary Research 43(1): 1–10. https://doi.org/10.1186/1297-9716-43-57/FIGURES/7

- ***Costa-Hurtado M, Garcia-Rodriguez L, Lopez-Serrano S, Aragon,V. 2019.*** *Haemophilus parasuis* VtaA2 is involved in adhesion to extracellular proteins. Veterinary Research 50(1). https://doi.org/10.1186/S13567-019-0687-2
- ***Costa-Hurtado M, Barba-Vidal E, Maldonado J, Aragon V. 2020.*** Update on Glässer's disease: How to control the disease under restrictive use of antimicrobials. Veterinary Microbiology 242. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2020.108595
- ***Costa-Hurtado M, Olvera A, Martinez-Moliner V, Galofré-Milà N, Martínez P, Dominguez J, Aragon V. 2013b.*** Changes in Macrophage Phenotype after Infection of Pigs with Haemophilus parasuis Strains with Different Levels of Virulence. Infection and Immunity 81(7): 2327. https://doi.org/10.1128/IAI.00056-13
- ***Cuesta JM, Risco Pérez D, Gonçalves Blanco P, García Jiménez WL, Gil Molino M, Fernandez-Llario P, Hermoso de Mendoza Salcedo J, Gómez Gordo LJ. 2013.*** Fatal infection due to Haemophilus parasuis in a young wild boar (Sus scrofa). Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 25(2): 297–300. https://doi.org/10.1177/1040638713479348/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_1040638713479348-FIG4.JPEG
- ***Cui Y, Guo F, Cai X, Cao X, Guo J, Wang H, Yang B, Zhou H, Su X, Blackall PJ, Xu F. 2021.*** Ct value-based real time PCR serotyping of Glaesserella parasuis. Veterinary Microbiology 254. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2021.109011
- ***Dayao DAE, Kienzle M, Gibson JS, Blackall PJ, Turni C. 2014.*** Use of a proposed antimicrobial susceptibility testing method for Haemophilus parasuis. Veterinary Microbiology 172(3–4): 586–589. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2014.06.010
- ***Dazzi CC, Guizzo JA, Prigol SR, Kreutz, LC, Driemeier D, Chaudhuri S, Schryvers AB, Frandoloso R. 2020.*** New Pathological Lesions Developed in Pigs by a "Non-virulent" Strain of Glaesserella parasuis. Frontiers in Veterinary Science 7: 525016. https://doi.org/10.3389/FVETS.2020.00098/BIBTEX
- ***Dellagostin D, Klein RL, Giacobbo I, Guizzo JA, Dazzi CC, Prigol SR, Martín CBG, Kreutz LC, Schryvers AB, Frandoloso R. 2023*** TbpBY167A-based vaccine is safe in pregnant sows and induces high titers of maternal derived antibodies that reduce Glaesserella parasuis colonization in piglets. Vet Microbiol. 276: 109630. doi: 10.1016/j.vetmic.2022.109630. Epub 2022 Dec 9. PMID: 36525718.
- ***de la Fuente AJM, Tucker AW, Navas J, Blanco M, Morris SJ, Gutiérrez-Martín CB. 2007.*** Antimicrobial susceptibility patterns of Haemophilus parasuis from pigs in the United Kingdom and Spain. *Veterinary Microbiology 120*(1–2): 184–191. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2006.10.014
- ***del Río ML, Gutiérrez B, Gutiérrez CB, Monter JL, Rodríguez Ferri EF. 2003.***

Evaluation of survival of Actinobacillus pleuropneumoniae and Haemophilus parasuis in four liquid media and two swab specimen transport systems. American Journal of Veterinary Research 64(9): 1176–1180. https://doi.org/10.2460/AJVR.2003.64.1176

- ***Dickerman A, Bandara AB, Inzana TJ. 2020.*** Phylogenomic analysis of haemophilus parasuis and proposed reclassification to glaesserella parasuis, gen. Nov., comb. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 70(1): 180–186. https://doi.org/10.1099/IJSEM.0.003730/CITE/REFWORKS
- ***Dijkman R, Wellenberg GJ, Van der Heijden HMJF, Peerboom R, Olvera A, Rothkamp A, Peperkamp K, Van Esch EJB. 2012.*** Analyses of Dutch Haemophilus parasuis isolates by serotyping, genotyping by ERIC-PCR and Hsp60 sequences and the presence of the virulence associated trimeric autotransporters marker. Research in Veterinary Science 93(2): 589–595. https://doi.org/10.1016/J.RVSC.2011.10.013
- ***El Garch F, de Jong A, Simjee S, Moyaert H, Klein U, Ludwig C, Marion H, Haag-Diergarten S, Richard-Mazet A, Thomas V, Siegwart E. 2016.*** Monitoring of antimicrobial susceptibility of respiratory tract pathogens isolated from diseased cattle and pigs across Europe, 2009–2012: VetPath results. Veterinary Microbiology 194: 11–22. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2016.04.009
- ***Frandoloso R, Pivato M, Martínez-Martínez S, Rodríguez-Ferri EF, Kreutz LC, Martín CBG. 2013.*** Differences in Haemophilus parasuis adherence to and invasion of AOC-45 porcine aorta endothelial cells. BMC Veterinary Research 9(1): 1–8. https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-207/FIGURES/4
- ***Galina Pantoja L, Stammen B, Minton B, Amodie D. 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. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation : Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc 26(1): 125–130. https://doi.org/10.1177/1040638713510163
- ***Galofré-Milà N, Correa-Fiz F, Lacouture S, Gottschalk M, Strutzberg-Minder K, Bensaid A, Pina-Pedrero S, Aragon V. 2017.*** A robust PCR for the differentiation of potential virulent strains of Haemophilus parasuis. BMC Veterinary Research, 13(1). https://doi.org/10.1186/S12917-017-1041-4
- ***Goodell EW, Higgins CF. 1987.*** Uptake of cell wall peptides by Salmonella typhimurium and Escherichia coli. Journal of Bacteriology 169(8): 3861. https://doi.org/10.1128/JB.169.8.3861-3865.1987
- ***Grøndahl-Hansen J, Barfod K, Klausen J, Andresen L O, Heegaard PMH, Sørensen V. 2003.*** Development and evaluation of a mixed long-chain lipopolysaccharide based ELISA

for serological surveillance of infection with Actinobacillus pleuropneumoniae serotypes 2, 6 and 12 in pig herds. Veterinary Microbiology 96(1): 41–51. https://doi.org/10.1016/S0378-1135(03)00208-6

- ***Hariharan H, MacDonald J, Carnat B, Bryenton J, Heaney S. 1992.*** An investigation of bacterial causes of arthritis in slaughter hogs. J Vet Diagn Invest: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc, 4(1): 28–30. https://doi.org/10.1177/104063879200400107
- ***Hedegaard J, Hauge M, Fage-Larsen J, Mortensen KK, Kilian M, Sperling-Petersen HU, Poulsen K. 2000.*** Investigation of the translation-initiation factor IF2 gene, infB, as a tool to study the population structure of Streptococcus agalactiae. Microbiology (Reading, England) 146 (Pt 7)(7): 1661–1670. https://doi.org/10.1099/00221287-146-7-1661
- ***Hoefling DC. 1994.*** The various forms of Haemophilus parasuis. *Journal of Swine Health and Production 2*(1): 1.
- ***Howell KJ, Peters SE, Wang J, Hernandez-Garcia J, Weinert LA, Luan SL, Chaudhuri RR, Angen Ø, Aragon V, Williamson SM, Parkhill J, Langford PR, Rycroft AN, Wren BW, Maskell DJ, Tucker AW. 2015.*** Development of a Multiplex PCR Assay for Rapid Molecular Serotyping of Haemophilus parasuis. Journal of Clinical Microbiology 53(12): 3812. https://doi.org/10.1128/JCM.01991-15
- ***Howell KJ, Weinert LA, Chaudhuri RR, Luan SL, Peters SE, Corander J, Harris D, Angen Ø, Aragon V, Bensaid A, Williamson SM, Parkhill J, Langford PR, Rycroft AN, Wren BW, Holden MTG, Tucker AW, Maskell DJ, Tucker AWD, Terra VS. 2014.*** The use of genome wide association methods to investigate pathogenicity, population structure and serovar in Haemophilus parasuis. *BMC Genomics 15*(1): 1–18. https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-1179/TABLES/1
- ***Howell KJ, Weinert LA, Luan SL, Peters SE, Chaudhuri RR, Harris D, Angen Ø, Aragon V, Parkhill J, Langford PR, Rycroft AN, Wren BW, Tucker AW, Maskell DJ. 2013.*** Gene Content and Diversity of the Loci Encoding Biosynthesis of Capsular Polysaccharides of the 15 Serovar Reference Strains of Haemophilus parasuis. Journal of Bacteriology 195(18): 4264. https://doi.org/10.1128/JB.00471-13
- ***Inzana T, Dickerman A, Aloka B. 2016.*** Oral Presentation — ASN Events. Taxonomic Reclassification of "Haemophilus Parasuis" to Glaesserella Parasuis Gen. Nov., Comb. Nov. https://vetpath-2016.p.asnevents.com.au/days/2016-10-12/abstract/38912
- ***Jia A, Zhou R, Fan H, Yang K, Zhang J, Xu Y, Wang G, Liao M. 2017.*** Development of Serotype-Specific PCR Assays for Typing of Haemophilus parasuis Isolates Circulating in Southern China. Journal of Clinical Microbiology 55(11): 3249–3257. https://doi.org/10.1128/JCM.00688-17

- ***Kielstein P, Rapp-Gabrielson VJ. 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. https://doi.org/10.1128/JCM.30.4.862-865.1992
- ***Kim J, Chung HK, Jung T, Cho WS, Choi C, Chae C. 2002.*** Postweaning multisystemic wasting syndrome of pigs in Korea: prevalence, microscopic lesions and coexisting microorganisms. The Journal of Veterinary Medical Science 64(1): 57–62. https://doi.org/10.1292/JVMS.64.57
- ***Lacouture S, Rodriguez E, Strutzberg-Mindér K, Gottschalk M. 2017.*** Canada: Serotyping of Haemophilus parasuis field isolates from diseased pigs in Quebec by indirect hemagglutination assay and multiplex polymerase chain reaction (PCR). The Canadian Veterinary Journal 58(8): 802. /pmc/articles/PMC5508945/
- ***Lewis PA, Shope RE. 1931.*** SWINE INFLUENZA : II. A HEMOPHILIC BACILLUS FROM THE RESPIRATORY TRACT OF INFECTED SWINE. The Journal of Experimental Medicine 54(3): 361. https://doi.org/10.1084/JEM.54.3.361
- ***Li J, Wang S, Li C, Wang C, Liu Y, Wang G, He X, Hu L, Liu Y, Cu M, Bi C, Shao Z, Wang X, Xiong T, Cai X, Huang L, Weng C. 2017.*** Secondary Haemophilus parasuis infection enhances highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus (HP-PRRSV) infection-mediated inflammatory responses. *Veterinary Microbiology*, *204*, 35–42. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2017.03.035
- ***Li J xing, Jiang P, Wang Y, Li Y feng, Chen W, Wang X wei, Li P. 2009.*** Genotyping of Haemophilus parasuis from diseased pigs in China and prevalence of two coexisting virus pathogens. Preventive Veterinary Medicine 91(2–4): 274–279. https://doi.org/10.1016/J.PREVETMED.2009.06.004
- ***Li M, Song S, Yang D, Li C, Li G. 2015.*** Identification of secreted proteins as novel antigenic vaccine candidates of Haemophilus parasuis serovar 5. Vaccine 33(14): 1695–1701. https://doi.org/10.1016/J.VACCINE.2015.02.023
- ***Li G, Xie F, Li J, Liu J, Li D, Zhang Y, Langford PR, Li Y, Liu S, Wang C. 2017.*** Identification of novel Haemophilus parasuis serovar 5 vaccine candidates using an immunoproteomic approach. J Proteomics 163: 111-117. doi: 10.1016/j.jprot.2017.05.014. Epub 2017 May 17. PMID: 28528009.
- ***Lin WH, Shih HC, Lin CF, Yang CY, Chang YF, Lin CN, Chiou MT. 2018.*** Molecular serotyping of Haemophilus parasuis isolated from diseased pigs and the relationship between serovars and pathological patterns in Taiwan. PeerJ 2018(11). https://doi.org/10.7717/PEERJ.6017/SUPP-19
- ***Lin WH, Shih HC, Lin CF, Yang CY, Lin CN, Chiou MT. 2019.*** Genotypic analyses and virulence characterization of Glaesserella parasuis isolates from Taiwan. PeerJ 7.

https://doi.org/10.7717/PEERJ.6960/SUPP-1

- ***Little TW. 1970.*** Haemophilus infection in pigs. The Veterinary Record 87(14): 399–402. https://doi.org/10.1136/VR.87.14.399
- ***Liu H, Xue Q, Zeng Q, Zhao Z. 2016.*** Haemophilus parasuis vaccines. Vet Immunol Immunopathol 180: 53-58. doi: 10.1016/j.vetimm.2016.09.002. Epub 2016 Sep 9. PMID: 27692096.
- ***Liu Y, Li X, Zhang Z, Zhang J, Xu J, Qiu Y, Ye C, Fu S, Wu Z, Hu CAA. 2021.*** Baicalin Protects Vascular Tight Junctions in Piglets During Glaesserella parasuis Infection. Frontiers in Veterinary Science 8. https://doi.org/10.3389/FVETS.2021.671936
- ***Liu Y, Du Y, Song Y, Tian Y, Qi Y, Zhang Q, He Q, Wang X, Chen H, Cai X, Xu X. 2019.*** Development and application of an antibody detection ELISA for Haemophilus parasuis based on a monomeric autotransporter passenger domain. *BMC Veterinary Research*, *15*(1). https://doi.org/10.1186/S12917-019-2128-X
- ***López-Serrano S, Neila-Ibáñez C, Costa-Hurtado M, Mahmmod Y, Martínez-Martínez J, Galindo-Cardiel IJ, Darji A, Rodríguez F, Sibila M, Aragon V. 2021.*** Sow Vaccination with a Protein Fragment against Virulent Glaesserella (Haemophilus) parasuis Modulates Immunity Traits in Their Offspring. Vaccines (Basel) 9(5): 534. doi: 10.3390/vaccines9050534. PMID: 34065547; PMCID: PMC8160652.
- ***Luppi A, Bonilauri P, Dottori M, Iodice G, Gherpelli Y, Merialdi G, Maioli G, Martelli P. 2013.*** Haemophilus parasuis Serovars Isolated from Pathological Samples in Northern Italy. Transboundary and Emerging Diseases 60(2): 140–142. https://doi.org/10.1111/J.1865-1682.2012.01326.X
- ***Ma L, Wang L, Chu Y, Li X, Cui Y, Chen S, Zhou J, Li C, Lu Z, Liu J, Liu Y. 2016.*** Characterization of Chinese Haemophilus parasuis Isolates by Traditional Serotyping and Molecular Serotyping Methods. PLOS ONE 11(12): e0168903. https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0168903
- ***Macedo N, Gottschalk M, Strutzberg-Minder K, Van CN, Zhang L, Zou G, Zhou R, Marostica T, Clavijo MJ, Tucker A, Aragon V. 2021.*** Molecular characterization of Glaesserella parasuis strains isolated from North America, Europe and Asia by serotyping PCR and LS-PCR. Veterinary Research 52(1). https://doi.org/10.1186/S13567-021-00935-9
- ***Macedo N, Cheeran MC, Rovira A, Holtcamp A, Torremorell M. 2017.*** Effect of enrofloxacin on Haemophilus parasuis infection, disease and immune response. Vet Microbiol 199: 91-99. doi: 10.1016/j.vetmic.2016.12.032. Epub 2016 Dec 28. PMID: 28110792.
- ***Macedo N, Oliveira S, Torremorell M, Rovira A. 2016.*** Immune response to oligopeptide

permease A (OppA) protein in pigs naturally and experimentally infected with Haemophilus parasuis. Research in Veterinary Science 107: 62–67. https://doi.org/10.1016/J.RVSC.2016.05.006

- ***MacInnes JI, Gottschalk M, Lone AG, Metcalf DS, Ojha S, Rosendal T, Watson SB, Friendship RM. 2008.*** Prevalence of Actinobacillus pleuropneumoniae, Actinobacillus suis, Haemophilus parasuis, Pasteurella multocida, and Streptococcus suis in representative Ontario swine herds. Can J Vet Res 72(3): 242-8. PMID: 18505187; PMCID: PMC2327245.
- ***Markey B, Leonard F, Archambault M, Cullinane A, Maguire D. 2013.*** Clinical Veterinary Microbiology. 2da ed. Elsevier Ltd. 915p. https://doi.org/10.1007/978-94-009-0359-3_24
- ***Martínez-Martínez S, Frandoloso R, Rodríguez-Ferri EF, García-Iglesias MJ, Pérez-Martínez C, Álvarez-Estrada Á, Gutiérrez-Martí CB. 2016.*** A vaccine based on a mutant transferrin binding protein B of Haemophilus parasuis induces a strong T-helper 2 response and bacterial clearance after experimental infection. Veterinary Immunology and Immunopathology 179: 18–25. https://doi.org/10.1016/J.VETIMM.2016.07.011
- ***Martínez-Moliner V, Soler-Llorens P, Moleres J, Garmendia J, Aragon V. 2012.*** Distribution of genes involved in sialic acid utilization in strains of Haemophilus parasuis. Microbiology (Reading, England) 158(Pt 8): 2117–2124. https://doi.org/10.1099/MIC.0.056994-0
- ***McClendon CJ, Gerald CL, Waterman JT. 2015.*** Farm Animal Models of Organic Dust Exposure and Toxicity: Insights and Implications for Respiratory Health. Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology 15(2): 137. https://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000143
- ***Mcorist S, Bowles R, Blackall P. 2009.*** Autogenous sow vaccination for Glasser's disease in weaner pigs in two large swine farm systems. Journal of Swine Health and Production. http://www.aasv.org/shap.html.
- ***Nedbalcova K, Kucerova Z, Krejci J, Tesarik R, Gopfert E, Kummer V, Leva L, Kudlackova H, Ondriasova R, Faldyna M. 2011.*** Passive immunisation of post-weaned piglets using hyperimmune serum against experimental Haemophilus parasuis infection. Res Vet Sci 91(2): 225-9. doi: 10.1016/j.rvsc.2010.12.008. Epub 2011 Feb 4. PMID: 21295806.
- ***Miniats OP, Smart NL, Rosendal S. 1991a.*** Cross protection among Haemophilus parasuis strains in immunized gnotobiotic pigs. Canadian Journal of Veterinary Research 55(1): 37. /pmc/articles/PMC1263411/?report=abstract
- ***Miniats OP, Smart NL, Ewert E. 1991b.*** Vaccination of gnotobiotic primary specific

pathogen-free pigs against Haemophilus parasuis. Canadian Journal of Veterinary Research 55(1): 33. /pmc/articles/PMC1263410/?report=abstract

- ***Moleres J, Santos-López A, Lázaro I, Labairu J, Prat C, Ardanuy C, González-Zorn B, Aragon V, Garmendia J. 2015.*** Novel blaROB-1-bearing plasmid conferring resistance to β-lactams in Haemophilus parasuis isolates from healthy weaning pigs. Applied and Environmental Microbiology 81(9): 3255–3267. https://doi.org/10.1128/AEM.03865-14/FORMAT/EPUB
- ***Morozumi T, Hiramune T. 1982.*** Effect of temperature on the survival of Haemophilus parasuis in physiological saline - PubMed. Natl Inst Anim Health Q 22(2): 90. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6752729/
- ***Morozumi T, Nicolet J, 1986.*** Some antigenic properties of Haemophilus parasuis and a proposal for serological classification. Journal of Clinical Microbiology 23(6): 1022. https://doi.org/10.1128/JCM.23.6.1022-1025.1986
- ***Moxley RA. 2000.*** Edema Disease. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice 16(1): 175–185. https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30142-0
- ***Mugabi R, Silva APSP, Hu X, Gottschalk M, Aragon V, Macedo NR, Sahin O, Harms P, Main R, Tucker AW, Li G, Clavijo MJ. 2023.*** Molecular characterization of Glaesserella parasuis strains circulating in North American swine production systems. BMC Veterinary Research 19(1). https://doi.org/10.1186/S12917-023-03698-X
- ***Münch S, Grund S, Krüger M. 1992.*** Fimbriae and membranes on Haemophilus parasuis. Zentralblatt Fur Veterinarmedizin. Reihe B. Journal of Veterinary Medicine. Series B 39(1): 59–64. https://doi.org/10.1111/J.1439-0450.1992.TB01138.X
- ***Oliveira S, Blackall PJ, Pijoan C. 2003a.*** Characterization of the diversity of Haemophilus parasuis field isolates by use of serotyping and genotyping. American Journal of Veterinary Research 64(4): 435–442. https://doi.org/10.2460/AJVR.2003.64.435
- ***Oliveira S, Galina L, Blanco I, Canals A, Pijoan C. 2003b.*** Naturally-farrowed, artificially-reared pigs as an alternative model for experimental infection by Haemophilus parasuis. Canadian Journal of Veterinary Research 67(2): 146. /pmc/articles/PMC227044/
- ***Oliveira S, Galina L, Pijoan C. 2001.*** Development of a PCR test to diagnose Haemophilus parasuis infections. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation : Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc 13(6): 495–501. https://doi.org/10.1177/104063870101300607
- ***Oliveira S, Pijoan C. 2004.*** Haemophilus parasuis: new trends on diagnosis, epidemiology and control. Veterinary Microbiology 99(1): 1–12. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2003.12.001

- ***Olvera A, Cerdà-Cuéllar M, Nofrarías M, Revilla E, Segalés J, Aragon V. 2007a.*** Dynamics of Haemophilus parasuis genotypes in a farm recovered from an outbreak of Glässer's disease. Veterinary Microbiology 123(1–3): 230–237. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2007.03.004
- ***Olvera A, Pina S, Macedo N, Oliveira S, Aragon V, Bensaid A. 2012.*** Identification of potentially virulent strains of Haemophilus parasuis using a multiplex PCR for virulence-associated autotransporters (vtaA). The Veterinary Journal 191(2): 213–218. https://doi.org/10.1016/J.TVJL.2010.12.014
- ***Olvera A, Pina S, Pérez-Simó M, Oliveira S, Bensaid A. 2010.*** Virulence-associated trimeric autotransporters of Haemophilus parasuis are antigenic proteins expressed in vivo. Veterinary Research 41(3). https://doi.org/10.1051/VETRES/2009074
- ***Olvera A, Segalés J, Aragón V. 2007b.*** Update on the diagnosis of Haemophilus parasuis infection in pigs and novel genotyping methods. Veterinary Journal (London, England : 1997) 174(3): 522–529. https://doi.org/10.1016/J.TVJL.2006.10.017
- ***Olvera A, Ballester M, Nofrarias M, Sibila M, Aragon V. 2009.*** Differences in phagocytosis susceptibility in Haemophilus parasuis strains. Veterinary Research 40(3). https://doi.org/10.1051/VETRES/2009007
- ***Oren A, Garrity GM. 2020.*** Notification that new names of prokaryotes, new combinations, and new taxonomic opinions have appeared in volume 70, part 1 of the IJSEM. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 70(4): 2167–2173. https://doi.org/10.1099/IJSEM.0.004092/CITE/REFWORKS
- ***Palzer A, Haedke K, Heinritzi K, Zoels S, Ladinig A, Ritzmann M. 2015a.*** Associations among Haemophilus parasuis, Mycoplasma hyorhinis, and porcine reproductive and respiratory syndrome virus infections in pigs with polyserositis. The Canadian Veterinary Journal, 56(3): 285. /pmc/articles/PMC4327143/
- ***Palzer A, Austin-Busse RL, Ladinig A, Balka G, Zoels S, Ritzmann M. 2015b.*** Histopathologic lesions in conventional pigs experimentally infected with Haemophilus parasuis serovar 5. Tierarztliche Praxis Ausgabe G: Grosstiere - Nutztiere 43(2): 91–96. https://doi.org/10.15653/TPG-140905/ID/BR0905-22/BIB
- ***Palzer A, Ritzmann M, Wolf G, Heinritzi K. 2008.*** Associations between pathogens in healthy pigs and pigs with pneumonia. Veterinary Record 162(9): 267–271. https://doi.org/10.1136/VR.162.9.267
- ***Peet RL, Fry J, Lloyd J, HENDERSON J, CURRAN J, MOIR D. 1983.*** Haemophilus parasuis septicaemia in pigs. Australian Veterinary Journal 60(6): 187–187. https://doi.org/10.1111/J.1751-0813.1983.TB05960.X

- ***Pereira D, Dalla-Costa F, Ferroni L, Moraes C, Schocken-Iturrino R, Oliveira L. 2017.*** The challenges with Glässer's disease in technified pig production. Austral journal of veterinary sciences 49(2): 63-69. https://dx.doi.org/10.4067/S0719-81322017000200063
- ***Peres P, Prigol S, Martín C, Feronatod C, Suriñach M, Kreut L, Frandoloso R.*** 2020. Tildipirosin: An effective antibiotic against Glaesserella parasuis from an in vitro analysis. Veterinary and animal science 10: 100136. https://doi.org/10.1016/j.vas.2020.100136
- ***Perry MB, MacLean LL, Gottschalk M, Aragon V, Vinogradov E. 2013.*** Structure of the capsular polysaccharides and lipopolysaccharides from Haemophilus parasuis strains ER-6P (serovar 15) and Nagasaki (serovar 5). Carbohydrate Research 378: 91–97. https://doi.org/10.1016/J.CARRES.2013.04.023
- ***Pina S, Olvera A, Barceló A, Bensaid A. 2009.*** Trimeric Autotransporters of Haemophilus parasuis: Generation of an Extensive Passenger Domain Repertoire Specific for Pathogenic Strains. Journal of Bacteriology 191(2): 576. https://doi.org/10.1128/JB.00703-08
- ***Pinto JC, Calle ES, Morales S. 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 http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S160991172012000400021&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- ***Pires Espíndola J, Balbinott N, Trevisan Gressler L, Machado G, Silene Klein C, Rebelatto R, Gutiérrez Martín CB, Kreutz LC, Schryvers AB, Frandoloso R. 2019.*** Molecular serotyping of clinical strains of Haemophilus (Glaesserella) parasuis brings new insights regarding Glässer's disease outbreaks in Brazil. PeerJ 7: e6817. doi: 10.7717/peerj.6817. PMID: 31198621; PMCID: PMC6535215.
- ***Prieto C, Martínez F, Segalés J, Carvajal AM. 2017.*** Enfermedad de Glasser. En: C. Prieto, F. Martínez, J. Segalés, & A. M. Carvajal, eds. Enfermedades infecciosas del ganado porcino. 1ª ed SERVET. p58–63.
- ***Pointon AM, Heap P, McCloud P. 1985.*** Enzootic pneumonia of pigs in South Australia — factors relating to incidence of disease. Australian Veterinary Journal 62(3): 98–101. https://doi.org/10.1111/J.1751-0813.1985.TB14149.X
- ***Rafiee M, Bara M, Stephens CP, Blackall PJ. 2000.*** Application of ERIC PCR for the comparison of isolates of Haemophilus parasuis. Australian Veterinary Journal 78(12): 846–849. https://doi.org/10.1111/J.1751-0813.2000.TB10507.X
- ***Rafiee M, Blackall PJ. 2000.*** Establishment, validation and use of the Kielstein-Rapp-Gabrielson serotyping scheme for Haemophilus parasuis. Australian Veterinary Journal 78(3): 172–174. https://doi.org/10.1111/J.1751-0813.2000.TB10586.X

- ***Ramos Prigol S, Klein R, Chaudhuri S, Paraboni Frandoloso G, Guizzo JA, Gutiérrez Martín CB, Schryvers AB, Kreutz LC, Frandoloso R. 2022*** TbpBY167A-Based Vaccine Can Protect Pigs against Glässer's Disease Triggered by Glaesserella parasuis SV7 Expressing TbpB Cluster I. Pathogens 11(7): 766. doi: 10.3390/pathogens11070766. PMID: 35890011; PMCID: PMC9323293.
- ***Reams RY, Harrington DD, Thacker HL, Glickman LT, Bowersock TL. 1994.*** Streptococcus suis infection in swine: a retrospective study of 256 cases. Part II. Clinical signs, gross and microscopic lesions, and coexisting microorganisms. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation : Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc 6(3): 326–334. https://doi.org/10.1177/104063879400600308
- ***Rúbies X, Kielstein P, Costa L, Riera P, Artigas C, Espuña E. 1999.*** Prevalence of Haemophilus parasuis serovars isolated in Spain from 1993 to 1997. Veterinary Microbiology 66(3): 245–248. https://doi.org/10.1016/S0378-1135(99)00007-3
- ***Scherrer S, Rademacher F, Stephan R, Peterhans S. 2022.*** Identification of Glaesserella parasuis and Differentiation of Its 15 Serovars Using High-Resolution Melting Assays. Pathogens 11(7): 752. doi: 10.3390/pathogens11070752. PMID: 35889997; PMCID: PMC9323117.
- ***Schoch CL, Ciufo S, Domrachev M, Hotton CL, Kannan S, Khovanskaya R, Leipe D, McVeigh R, O'Neill K, Robbertse B, Sharma S, Soussov V, Sullivan JP, Sun L, Turner S, Karsch-Mizrachi I. 2020.*** NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools. Database, 2020. https://doi.org/10.1093/DATABASE/BAAA062
- ***Schuwerk L, Hoeltig D, Waldmann KH, Strutzberg-Minder K, Valentin-Weigand P, Rohde J. 2020.*** Serotyping and pathotyping of Glaesserella parasuis isolated 2012–2019 in Germany comparing different PCR-based methods. Veterinary Research 51(1). https://doi.org/10.1186/S13567-020-00862-1
- ***Silva APSP, Almeida M, Michael A, Rahe MC, Siepker C, Magstadt DR, Piñeyro P, Arruda BL, Macedo NR, Sahin O, Gauger PC, Krueger KM, Mugabi R, Streauslin JS, Trevisan G, Linhares DCL, Silva GS, Fano E, Main RG, Clavijo MJ. (2023).*** Detection and disease diagnosis trends (2017–2022) for Streptococcus suis, Glaesserella parasuis, Mycoplasma hyorhinis, Actinobacillus suis and Mycoplasma hyosynoviae at Iowa State University Veterinary Diagnostic Laboratory. BMC Veterinary Research 19(1): 1–20. https://doi.org/10.1186/S12917-023-03807-W/TABLES/4
- ***Silva GFR, Moreno LZ, Matajira CEC, Silva APS, Araújo KM, Gomes VTM, Barbosa MRF, Sato MIZ, Moreno AM. 2022.*** Serotyping and Antimicrobial Susceptibility Profiling of Glaesserella parasuis Isolated from Diseased Swine in Brazil. Pathogens

11(12). https://doi.org/10.3390/PATHOGENS11121443/S1

- ***Stackebrandt E, Goebel BM. 1994.*** Taxonomic note: A place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. International Journal of Systematic Bacteriology 44(4): 846–849. https://doi.org/10.1099/00207713-44-4-846/CITE/REFWORKS
- ***Tadjine M, Mittal KR, Bourdon S, Gottschalk M. 2004.*** Development of a New Serological Test for Serotyping Haemophilus parasuis Isolates and Determination of Their Prevalence in North America. Journal of Clinical Microbiology 42(2): 839. https://doi.org/10.1128/JCM.42.2.839-840.2004
- ***Tanabe M, Atkins HS, Harland DN, Elvin SJ, Stagg AJ, Mirza O, Titball RW, Byrne B, Brown KA. 2006.*** The ABC Transporter Protein OppA Provides Protection against Experimental Yersinia pestis Infection. Infection and Immunity 74(6): 3687. https://doi.org/10.1128/IAI.01837-05
- ***Turni C, Blackall PJ. 2005.*** Comparison of the indirect haemagglutination and gel diffusion test for serotyping Haemophilus parasuis. *Veterinary Microbiology*, *106*(1–2), 145–151. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2004.12.019
- ***Turni C, Blackall PJ. 2007.*** Comparison of sampling sites and detection methods for Haemophilus parasuis. Australian Veterinary Journal 85(5): 177–184. https://doi.org/10.1111/J.1751-0813.2007.00136.X
- ***Turni C, Blackall PJ. 2010.*** Serovar profiling of Haemophilus parasuis on Australian farms by sampling live pigs. Australian Veterinary Journal 88(7): 255–259. https://doi.org/10.1111/J.1751-0813.2010.00592.X
- ***Turni C, Pyke M, Blackall PJ. 2010.*** Validation of a real-time PCR for Haemophilus parasuis. Journal of Applied Microbiology 108(4): 1323–1331. https://doi.org/10.1111/J.1365-2672.2009.04526.X
- ***Turni C, Wu Y, Omaleki L, Giang N, Blackall PJ, Christensen H. 2020.*** Glaesserella australis sp. nov., isolated from the lungs of pigs. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 70(6): 3686–3692. https://doi.org/10.1099/IJSEM.0.004221
- ***Unterweger C, Wöchtl B, Spergser J, Brunthaler R, Untersperger M, Lillie-Jaschniski K, Dürrwald R, Hennig-Pauka I. 2016.*** [Influenza outbreak in weaners with involvement of Mycoplasma hyorhinis and Haemophilus parasuis. A case report]. Tierarztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere 44(4): 259–265. https://doi.org/10.15653/TPG-160100
- ***Vahle JL, Haynes JS, Andrews JJ. 1995.*** Experimental Reproduction of Haemophilus Parasuis Infection in Swine: Clinical, Bacteriologic, and Morphologic Findings 7(4): 476–480. https://doi.org/10.1177/104063879500700409

- ***Van CN, Thanh TVT, Zou G, Jia M, Wang Q, Zhang L, Ding W, Huang Q, Zhou R. 2019.*** Characterization of serotypes and virulence genes of Haemophilus parasuis isolates from Central Vietnam. Veterinary Microbiology 230: 117–122. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2019.02.008
- ***Viehmann M, Postiasi S, Balka G, Spergser J, Palzer A, Hennig-Pauka I, Ritzmann M, Ladinig A. 2013.*** Evaluation of the efficacy of a combination therapy of an antibiotic and a NSAID following an experimental Haemophilus parasuis infection in nursery piglets. Tierarztliche Praxis Ausgabe G: Grosstiere - Nutztiere 41(4): 225–232. https://doi.org/10.1055/S-0038-1623181/ID/JR1623181-36/BIB
- ***Wang X, Xu X, Wu Y, Li L, Cao R, Cai X, Chen H. 2013.*** Polysaccharide biosynthesis protein CapD is a novel pathogenicity-associated determinant of Haemophilus parasuis involved in serum-resistance ability. Veterinary Microbiology 164(1–2): 184–189. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2013.01.037
- ***Wang L, Ma L, Liu Y, Gao P, Li Y, Li X, Liu Y. 2016.*** Multilocus sequence typing and virulence analysis of Haemophilus parasuis strains isolated in five provinces of China. Infection, Genetics and Evolution 44: 228–233. https://doi.org/10.1016/J.MEEGID.2016.07.015
- ***Wang Z, Zhao Q, Wei H, Wen X, Cao S, Huang X, Wu R, Yan Q, Huang Y, Wen Y. 2017.*** Prevalence and seroepidemiology of Haemophilus parasuis in Sichuan province, China. PeerJ 2017(5). https://doi.org/10.7717/PEERJ.3379/SUPP-1
- ***Wang H, Wei W, Cao Q, Xu M, Chen Q, Lv Y, Tan C, Dai M, Xu X, Chen H, Wang X. 2021.*** Sialylated Lipooligosaccharide Contributes to Glaesserella parasuis Penetration of Porcine Respiratory Epithelial Barrier. ACS Infectious Diseases 7(3): 661–671. https://doi.org/10.1021/ACSINFECDIS.0C00850
- ***Watt AE, Browning GF, Legione AR, Bushell RN, Stent A, Cutler RS, Young ND, Marenda MS. 2018.*** A novel Glaesserella sp. isolated from pigs with severe respiratory infections has a mosaic genome with virulence factors putatively acquired by horizontal transfer. Applied and Environmental Microbiology 84(11): 92–110. https://doi.org/10.1128/AEM.00092-18/SUPPL_FILE/ZAM011188526S1.PDF
- ***Wayne LG, Brenner DJ, Colwell RR, Grimont PAD, Kandler O, Krichevsky MI, Moore, LH, Moore WEC, Murray RGE, Stackebrandt E, Starr MP, Truper HG. 1987.*** Report of the Ad Hoc Committee on Reconciliation of Approaches to Bacterial Systematics. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 37(4): 463–464. https://doi.org/10.1099/00207713-37-4-463
- ***Wiencek I, Hartmann M, Merkel J, Trittmacher S, Kreienbrock L, Hennig-Pauka I. 2022.*** Temporal Patterns of Phenotypic Antimicrobial Resistance and Coinfecting

Pathogens in Glaesserella parasuis Strains Isolated from Diseased Swine in Germany from 2006 to 2021. Pathogens 11(7). https://doi.org/10.3390/PATHOGENS11070721

- ***Wilson KH, Blitchington RB, Greene RC. 1990.*** Amplification of bacterial 16S ribosomal DNA with polymerase chain reaction. Journal of Clinical Microbiology 28(9): 1942. https://doi.org/10.1128/JCM.28.9.1942-1946.1990
- ***Wu CF, Hsu CY, Chou CC, Wang CM, Huang SW, Kuo HC. 2023.*** Serotypes, virulence factors and multilocus sequence typing of Glaesserella parasuis from diseased pigs in Taiwan. PeerJ 11. https://doi.org/10.7717/PEERJ.15823/SUPP-4
- ***Xue Q, Zhao Z, Liu H, Chen K, Xue Y, Wang L. 2015.*** First comparison of adjuvant for trivalent inactivated Haemophilus parasuis serovars 4, 5 and 12 vaccines against Glässer's disease. Vet Immunol Immunopathol 168(3-4):153-8. doi: 10.1016/j.vetimm.2015.11.001. Epub 2015 Nov 4. PMID: 26672914.
- ***Yaeger MJ, Van Alstine, WG. 2019.*** Respiratory System. En Diseases of Swine pp. 393–407. John Wiley & Sons, Ltd. https://doi.org/10.1002/9781119350927.CH21
- ***Yang M, Johnson A, Murphy TF. 2011.*** Characterization and Evaluation of the Moraxella catarrhalis Oligopeptide Permease A as a Mucosal Vaccine Antigen. Infection and Immunity 79(2): 846. https://doi.org/10.1128/IAI.00314-10
- ***Yin B, Li W, Qin H, Yun J, Sun X. 2021*** The Use of Chinese Skullcap (Scutellaria baicalensis) and Its Extracts for Sustainable Animal Production. Animals (Basel) 11(4): 1039. doi: 10.3390/ani11041039. PMID: 33917159; PMCID: PMC8067852.
- ***Zaracho Paniagua ND, Maluff Ladan Y, Talavera Stefani LN, Sapper Lacy YD, Prendeski Stolaruk CE, Nishii Encina EA. 2023.*** Glaesserella parasuis: serotipos y virulencia de cepas aisladas de cerdos en Itapúa-Paraguay entre febrero del 2022 a marzo del 2023. Revista Investigaciones y Estudios - UNA 14(1): 84–89. https://doi.org/10.57201/IEUNA2313373
- ***Zhang B, He Y, Xu C, Xu L, Feng S, Liao M, Ren T. 2012.*** Cytolethal distending toxin (CDT) of the Haemophilus parasuis SC096 strain contributes to serum resistance and adherence to and invasion of PK-15 and PUVEC cells. Veterinary Microbiology 157(1–2): 237–242. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2011.12.002
- ***Zhang B, Xu C, Zhang L, Zhou S, Feng S, He Y, Liao M. 2013.*** Enhanced adherence to and invasion of PUVEC and PK-15 cells due to the overexpression of RfaD, ThyA and Mip in the ΔompP2 mutant of Haemophilus parasuis SC096 strain. Veterinary Microbiology 162(2–4): 713–723. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2012.09.021
- ***Zhang B, Yu Y, Zeng Z, Ren Y, Yue H. 2014.*** Deletion of the rfaE gene in Haemophilus parasuis SC096 strain attenuates serum resistance, adhesion and invasion. Microbial Pathogenesis, 74(1): 33–37. https://doi.org/10.1016/J.MICPATH.2014.07.006

- ***Zhang P, Zhang C, Aragon V, Zhou X, Zou M, Wu C, Shen Z. 2019a.*** Investigation of Haemophilus parasuis from healthy pigs in China. Veterinary Microbiology 231: 40–44. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2019.02.034
- ***Zhang B, Ku X, Yu X, Sun Q, Wu H, Chen F, Zhang X, Guo L, Tang X, He Q. 2019b.*** Prevalence and antimicrobial susceptibilities of bacterial pathogens in Chinese pig farms from 2013 to 2017. Scientific Reports 2019 9:1 9(1): 1–11. https://doi.org/10.1038/s41598-019-45482-8
- ***Zhao Y, Guo L, Li J, Huang X, Fang B. 2018.*** Characterization of antimicrobial resistance genes in Haemophilus parasuis isolated from pigs in China. PeerJ 6(4). https://doi.org/10.7717/PEERJ.4613
- ***Zhao Z, Liu H, Zhang K, Xue Q, Chen K, Xue Y. 2016.*** Minimum dose, antigen content, and immunization duration of a trivalent vaccine of inactivated Haemophilus parasuis serovars 4, 5, and 12 against Glässer's disease in pigs. Can J Vet Res 80(4):287-293. PMID: 27733783; PMCID: PMC5052880.
- ***Zhao Z, Liu H, Xue Y, Chen K, Liu Z, Xue Q, Wang C. 2017.*** Analysis of efficacy obtained with a trivalent inactivated Haemophilus parasuis serovars 4, 5, and 12 vaccine and commercial vaccines against Glässer's disease in piglets. Can J Vet Res 81(1): 22-27. PMID: 28154458; PMCID: PMC5220590.
- ***Zhou Q, Feng S, Zhang J, Jia A, Yang K, Xing K, Liao M, Fan H. 2016.*** Two glycosyltransferase genes of Haemophilus parasuis SC096 implicated in lipooligosaccharide biosynthesis, serum resistance, adherence, and invasion. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology 6(SEP): 214870. https://doi.org/10.3389/FCIMB.2016.00100/BIBTEX
- ***Zhou X, Xu X, Zhao Y, Chen P, Zhang X, Chen H, Cai X. 2010.*** Distribution of antimicrobial resistance among different serovars of Haemophilus parasuis isolates. Veterinary Microbiology, 141(1–2): 168–173. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2009.05.012