

Aktualny stan badań choroby Glässera świń

MARIAN TRUSZCZYŃSKI, ZYGMUNT PEJSAK

Zakład Chorób Świń, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Otrzymano 23.05.2014

Zaakceptowano 20.10.2014

Truszczyński M., Pejsak Z.

Present state of research on Glässer's disease of swine

Summary

The introduction of this review of literature contains basic data of Glässer's disease occurring in swine and boar. This is followed by the characterization of the properties of *Haemophilus (H.) parasuis* and the pathogenesis. Information about at least 15 classified serovars, using immunodiffusion testing or passive hemagglutination, is given. Potentially pathogenic strains belong to serovar: 1, 5, 10, 12, 13 and 14. However, this classification shows exceptions, indicating that not all strains of the mentioned serovars, even of serovar 5, are pathogenic. On the other side strains, not belonging to the so called pathogenic serovars, cause Glässer's disease. The recent developments of genomic information and genetic manipulation systems have improved the selection of virulent *H. parasuis* strains, contributing to better understanding of the pathogenesis of *H. parasuis* infection. Some data are presented how the pathogen overcomes host immune responses, with participation of virulence factors coded by defined genes. The cited results, concerning genes and pathogenicity factors of *H. parasuis* contribute also to improvement of the efficacy of the vaccine against Glässer's disease. Finally prevention and control of Glässer's disease is presented.

Keywords: Glässer's disease, basic data, *Haemophilus parasuis*, pathogenesis, virulence factors, prevention, control

Podstawowe dane o chorobie

Choroba Glässera, występująca wyłącznie u świń i dzików, wywołana jest przez *Haemophilus (H.) parasuis*. Znana jest od kilkudziesięciu lat. Jej czynnik etiologiczny – *H. parasuis* – został wykryty przez Glässera w 1910 r. (cyt. wg 3).

Wymieniona jednostka chorobowa charakteryzuje się włóknikowym zapaleniem błon surowiczych i zapaleniem stawów oraz opon mózgowych – fibrinous polyserositis, arthritis, meningitis (3, 14). *H. parasuis* może też wywoływać wyłącznie zapalenie płuc (16). Wyraźna postać kliniczna choroby występuje głównie u prosiąt i warchlaków, a rzadziej u starszych świń. Jej rozwojowi sprzyjają wcześniejsze infekcje wywołane przez wirusy, zwłaszcza PCV2 i PRRS obniżające odporność wrodzoną (3).

Choroba Glässera wykazywana jest na całym świecie, również w Polsce (17). Jej znaczenie rośnie, głównie w odchowcie prosiąt, ale też u starszych osobników. Dotyczy to zwłaszcza ferm o systemie zamkniętym, z grupami zwierząt o różnym wieku.

Haemophilus parasuis występuje powszechnie u zdrowych świń jako komensal, który może ujawniać chorobotwórczość w wyniku niekorzystnych warunków w czasie odchowu prosiąt. Nie zostały one

dokładnie określone. Przypuszcza się, że do ważnych przyczyn należy zbyt wczesne odsadzanie prosiąt oraz stosowanie wieloetapowych systemów produkcji. Uważa się, że sprzyjają one wczesnej kolonizacji układu oddechowego prosiąt przez potencjalnie chorobotwórcze szczepy *H. parasuis* (14).

Najczęściej zachorowują prosięta w wieku 3 tygodni do 4 miesięcy, zwłaszcza krótko po odsadzeniu (12).

Klinicznie, obok objawów ze strony układu oddechowego, występują kulawizny związane z zapaleniem stawów, głównie kolanowych, skokowych i nadgarstkowych (12). Rozróżnia się postacie o przebiegu ostrym lub przewlekłym, co łączy się z różną zjadliwością szczepów zakażających i statusem odporności wrodzonej, zależnym od osobnika i warunków środowiskowych, w jakich przebywają zwierzęta (14).

Właściwości czynnika chorobowego i patogeneza

Haemophilus parasuis jest nie wytwarzającą rzęsek, pleomorficzną, Gram-ujemną pałeczką o małych, w relacji do innych bakterii, rozmiarach. Zależny jest on od obecności w podłożu wzrostu i rozmnażania nikotynamidu dwunukleotydoadeniny (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD), zwanego też czynnikiem V (29). Zaliczany jest do rodzaju *Haemophilus*, rodziny

Pasteurellaceae (20). Jak wspomniano, często występuje jako komensal u zdrowych świń w błonie śluzowej nosa, krtani, tchawicy oraz górnych odcinków oskrzeli jako drobnoustroj oportunistyczny, czyli warunkowo chorobotwórczy (29).

Zgodnie z danymi szeregu autorów, cytowanych przez Sandala i wsp. (20), stosując odczyn precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym lub hemaglutynacji pośredniej, wśród szczepów *H. parasuis* rozróżniono na podstawie swoistych antygenów otoczki bakteryjnej 15 serowarów. Kielstein i Rapp-Gabrielson (11) w badaniach przy użyciu prosiat SPF, które zakażono szczepami tych serowarów, wykazali, że szczególnie zjadliwe okazały się szczepy serowarów 1, 5, 10, 12, 13 i 14, wywołując zachorowania lub zejścia śmiertelne po kilku dniach od zakażenia. Jednak wyniki te nie w pełni udało się potwierdzić, wykazując wśród szczepów serowarów, uznanych za chorobotwórcze, również szczepy niechorobotwórcze lub wskazując szczepy innych serowarów jako chorobotwórcze. Stwierdzono też (14) jako chorobotwórcze szczepy *H. parasuis*, nie zaliczone do żadnego serowaru z dotychczas zidentyfikowanych, czyli nie dające się tym systemem określić (szczepy NT, to jest nietypowalne).

Wysoki odsetek nietypowalnych, chorobotwórczych szczepów *H. parasuis* skłonił do zmiany techniki badania w żelu agarowym na test biernej hemaglutynacji. Mimo pewnej poprawy wciąż pozostawała duża liczba nie typujących się szczepów *H. parasuis* (3).

Serowary 4 i 5 wraz z niektórymi szczepami nie dającymi się serologicznie typować uznano za najczęściej izolowane z przypadków chorobowych w różnych krajach i przez różnych autorów (cyt. 3). Pewnym wyjątkiem jest Wielka Brytania, gdzie serowar 10 zawiera najwyższy odsetek szczepów chorobotwórczych. Reasumując, antygeny otoczkowe jako wskaźniki chorobotwórczości szczepów *H. parasuis* okazały się przydatne w stopniu ograniczonym.

W kolejności do klasyfikacji szczepów *H. parasuis* użyto szeregu metod genotypowania, jak: fingerprinting i sekwencjonowanie, trawienie genomowego DNA restrykcyjnymi endonukleazami i analizę uzyskanych fragmentów oraz polimerazową reakcję łańcuchową (ERIC-PCR) (cyt. wg 3).

Porównując metody serologiczne i genetyczne nie wykazano żadnego związku między genotypem i serowarem. Natomiast przy użyciu multilocus sequence typing (MLST) określono zespół szczepów wywołujących chorobę Glässera i zespół szczepów izolowanych z nosa od świń zdrowych (2).

Yue i wsp. (26) określili sekwencję całego genomu u szczepu *H. parasuis* SHO165, będącego zjadliwym serowarem 5, izolowanym od świni w Chinach. W efekcie identyfikacja genów zjadliwości u *H. parasuis* okazała się mieć znaczenie praktyczne dla odróżniania szczepów patogennych i dodatkowo przydatnych do produkcji szczepionek od szczepów nie wywołujących zachorowań.

W tym celu wykorzystano dwa podejścia: 1) analizę różnic genetycznych między zjadliwymi i niezjadliwymi szczepami i 2) analizę ekspresji genowej szczepów zjadliwych *in vivo* lub w warunkach zbliżonych do występujących w żywym organizmie (3).

Porównanie zjadliwego szczepu Nagasaki, serowaru 5 i niezjadliwego szczepu serowaru 11 umożliwiło wykrycie kilku specyficznych u serowaru 5 genów. Mimo że geny te nie były obecne u szczepów niezjadliwych, to nie zawsze występowały u szczepów zjadliwych, co wskazuje, że nie są one bezwzględnie związane z ekspresją zjadliwości. Podobnych przykładów było więcej (30), z wyjątkiem genu związanego z ekspresją fimbrii, istotnych w kolonizacji przez *H. parasuis* błony śluzowej dróg oddechowych. Większość genów, określonych co do ekspresji cech genotypowych, należała do wpływających na metabolizm lub była w sensie kształtowania właściwości *H. parasuis* niesprecyzowana (30).

Badając szczepy *H. parasuis* z przypadków chorobowych, wykryto grupę 13 genów kodujących białka komórki bakteryjnej, związane ze zjadliwością (18). Białka te okazały się równocześnie immunogenne, ich ekspresja miała miejsce *in vivo* (15).

Reasumując można stwierdzić, że dotychczasowe próby określania na podstawie genów zjadliwości danego szczepu *H. parasuis* nie w pełni się powiodła i badania w tym kierunku należy kontynuować, bowiem, jak wykazano wcześniej, również serotypowanie nie daje wystarczającej możliwości odróżniania szczepów zjadliwych od niezjadliwych. Mimo to w minionym 20-leciu udało się określić pewne istotne w patogenezie choroby Glässera czynniki zjadliwości (virulence factors) oraz geny *H. parasuis*, które je kodują (14, 18, 27). Takimi czynnikami zjadliwości okazały się proteazy degradujące i inaktywujące przeciwbakteryjne działanie *H. parasuis*, OMPs – czyli białka błony zewnętrznej (outer membrane proteins), LOS – czyli lipooligosacharyd podobny w swym działaniu do endotoksyny bakterii Gram-ujemnych, uczestniczący w mechanizmie szoku endotoksycznego, wzmaganiu objawów klinicznych i śmierci świń poprzedzonej posoczną, fimbrię, istotne w adhezji do receptorów błony śluzowej gospodarza, neuraminidaza, białko transferujące i wiążące oraz trimeryczne autotransportery (1, 14, 18, 19).

Zgodnie z danymi Zhang i wsp. (29), *H. parasuis* jako drobnoustroj NAD zależny musi otrzymywać dla podtrzymania przeżycia i kolonizacji górnych dróg oddechowych świń NAD z komórki gospodarza (23). W przypadku dysponowania proteazami inaktywującymi IgA patogen ten może „przełamać” reprezentowaną przez IgA odporność śluzową w górnych drogach oddechowych, co inicjuje proces chorobowy. Potwierdzone zostało, że pewne szczepy *H. parasuis* mają zdolność inaktywowania IgA świni, czyli dysponują tego rodzaju czynnikiem zjadliwości, stanowiącym ważny element w patogenezie choroby Glässera (13).

Uwzględniając rolę w patogenezie czynnika zjadliwości, związanego z genomem *H. parasuis*, należy dodać, że osłabienie niekorzystnymi warunkami środowiskowymi systemu immunologicznego gospodarza, a zwłaszcza odporności wrodzonej w płucach świni, stanowi również istotny element w wywoływaniu przez *H. parasuis* choroby Glässera.

Ważną pozycję we wrodzonej odporności przeciwzakaźnej zajmują makrofagi pęcherzyków płucnych, które uczestniczą w zabijaniu bakterii, jak też w inicjowaniu, utrzymywaniu i wydzielaniu cytokin i chemokin, co podtrzymuje proces zapalny (25). Bakterie ze swej strony, by temu przeciwdziałać, rozwijają akcję zmierzającą do przetrwania. W nawiązaniu do tego izolaty *H. parasuis* z uogólnionej postaci choroby Glässera dysponują wspomnianymi czynnikami zjadliwości, które biorą udział w ochronie *H. parasuis* przed fagocytozą (8, 15).

Proces uszkodzenia płuc ma miejsce w związku z wytwarzaniem i uwalnianiem prozapalnych cytokin w czasie infekcji bakteryjnej (10). Mimo że, jak podają Zhang i wsp. (29), nie ma prac badawczych na temat wytwarzania w płucach cytokin, to wiadomo, że *H. parasuis* może stymulować uwalnianie interleukiny 6 (IL-6) i IL-8 przez komórki tchawicy prosiąt noworodków (NPTs) i komórki endotelialne naczyń mózgu (4, 5). Podobnie jak w przypadku innych bakterii Gram-ujemnych lipooligosacharyd (LOS) *H. parasuis* pobudza wydzielanie IL-6 i IL-8 przez określone komórki dróg oddechowych (4, 5), jednak molekularne mechanizmy i szlaki odpowiedzi zapalnej nie są, jak dotychczas, wyjaśnione.

Po przetrwaniu bakteriobójczego działania immunologicznej odpowiedzi wrodzonej w górnych drogach oddechowych i w płucach dzięki czynnikom zjadliwości, uprzednio omówionym, zjadliwy szczep *H. parasuis* uzyskuje szanse wnikania do krwiobiegu i powodowania objawów ostrej posocznicy i wysokiej zachorowalności (29). System dopełniacza w surowicy jest kluczowym komponentem wrodzonego systemu odpornościowego, który chroni organizm gospodarza przed inwazją drobnoustrojów za pomocą swej aktywności opsonizowania, indukowania stanów zapalnych i aktywności litycznej (21).

Zdolność bakterii do wywoływania infekcji systemowej zależy zatem od kodowanych przez określone geny czynników zjadliwości. W tym zakresie istnieją różnice między występującymi w nosie szczepami *H. parasuis* a szczepami wywołującymi posocznicę (6), co potwierdza, że oporność szczepu *H. parasuis* na bakteriobójcze działanie surowicy świni jest istotnym czynnikiem w mechanizmie chorobotwórczości tego drobnoustroju i patogenezie choroby Glässera. Bakterie chorobotwórcze, w tym chorobotwórcze szczepy *H. parasuis*, dysponują złożonymi strategiami hamowania bakteriobójczego działania ze strony systemu dopełniacza i szerzej surowicy zakażonego gospodarza.

U bakterii chorobotwórczych, w tym *H. parasuis*, adherencja do odpowiednich receptorów komórek gospodarza jest istotnym krokiem w kierunku kolonizacji i inwazji, przyczyniającej się do przełamania bariery komórkowej, utrzymania się w organizmie gospodarza i penetracji do głębszych warstw tkanek, co ostatecznie prowadzi do choroby systemowej (24).

Szereg prac badawczych potwierdziło, że *H. parasuis* może łączyć się z receptorami różnych komórek gospodarza lub wnikać do tych komórek, w tym takich, jak epitelialne komórki, komórki endotelialne żył pępowiny (PUVEC) i makrofagi pęcherzyków płucnych (PAM) (5, 9, 28, 31).

Jednym z objawów klinicznych choroby Glässera jest wywołane przez *H. parasuis* zapalenie opon mózgowych. Bakteria ta może być izolowana z mózgu świni, co wskazuje, że patogen ten może przekraczać barierę krew–mózg (BBB, Brain Blood Barrier) i dojść do centralnego systemu nerwowego. Przekraczanie BBB uważane jest za istotny krok w patogenezie zapalenia opon mózgowych.

Zapobieganie i zwalczanie

Haemophilus parasuis wykazywano w wymazach z nosa świń do 6 miesięcy po urodzeniu przy najczęstszej kolonizacji błony śluzowej w 60. dniu życia (7). Wśród izolatów od świń z tego samego kojca lub stada stwierdzana jest z reguły duża różnorodność właściwości fenotypowych i genotypowych poszczególnych szczepów, natomiast czynnikiem etiologicznym przypadków chorobowych jest z reguły szczep o tych samych właściwościach, mimo że izolowany od różnych chorujących na chorobę Glässera świń danej grupy. Kolonizacja błony śluzowej dróg oddechowych prosiąt odbywa się przy osłonie odporności posiarowej. Kiedy nastąpi jej zanik, może wystąpić, dodatkowo przy innych czynnikach usposabiających, ujawnienie właściwości chorobotwórczych *H. parasuis*.

Biorąc powyższe pod uwagę, oprócz korekt w zarządzaniu produkcją w stadach świń, w tym poprawy warunków odchowu, znaczącą rolę odgrywa immunoprofilaktyka. Najwyższą skuteczność uzyskuje się, kiedy szczepionka zawiera antygeny uodporniające o takiej samej swoistości, jak szczepy *H. parasuis* wywołujące zachorowanie. Z tego względu rekomendowane są autoszczepionki. Tak zwana odporność krzyżowa, kiedy szczep szczepionkowy różni się od zakażającego, daje niższą ochronę przed wystąpieniem choroby (22).

W Polsce dostępna jest szczepionka Porcilis Glässer (MSD), zawierająca w swym składzie serowar 5 *H. parasuis*. Zaleca się dwukrotne szczepienie loch prośnych, przy drugiej dawce 2-3 tygodnie przed porodem.

Szczepionkę tę w zależności od terminu zachorowań prosiąt lub warchlaków stosuje się dwukrotnie, w okresie od czwartego tygodnia życia w odstępnie 3-4 tygodni. W przypadku przewidzianego transportu, prowokującego występowanie choroby Glässera, celowe

jest ich wcześniejsze uodpornianie. W nawiązaniu do tego dodaje się, że dawniej chorobę Glässera potocznie nazywano chorobą transportową.

Metafilaktycznie i leczniczo zalecane są antybiotyki, na które w danym przypadku szczepy *H. parasuis* wykazuje *in vitro* antybiotykowrażliwość.

Piśmiennictwo

1. Amano H., Shibata M., Takahashi K., Sasaki Y.: Effects on endotoxin pathogenicity in pigs with acute septicemia of *Haemophilus parasuis* infection. *J. Vet. Med. Sci.* 1997, 59, 451-455.
2. Aragon V., Cerdà-Cuellar M., Fraile L., Mombarg M., Nofrarias M., Olvera A., Sibila M., Solanes D., Segalés J.: Correlation between clinico-pathological outcome and typing of *Haemophilus parasuis* field strains. *Vet. Microbiol.* 2010, 142, 387-393.
3. Aragon V., Segars J., Oliveira S.: Glässer's Disease, [w:] Zimmerman J. J., Karriker L. A., Ramirez A., Shwartz K. J., Stevenson G. W. (Eds.): *Diseases of Swine*. 10th Edition. Wiley-Blackwell 2012, s. 760-769.
4. Bouchet B., Vanier G., Jacques M., Auger E., Gottschalk M.: Studies on the interactions of *Haemophilus parasuis* with porcine epithelial tracheal cells: limited role of LOS in apoptosis and pro-inflammatory cytokine release. *Microb. Pathog.* 2009, 46, 108-113.
5. Bouchet B., Vanier G., Jacques M., Gottschalk M.: Interactions of *Haemophilus parasuis* and its LOS with porcine brain microvascular endothelial cells. *Vet. Res.* 2008, 39, 42.
6. Cerda-Cuellar M., Aragon V.: Serum-resistance in *Haemophilus parasuis* is associated with systemic disease in swine. *Vet. J.* 2008, 175, 384-389.
7. Cerdà-Cuellar M., Naranjo J. F., Verge A., Nofrarias M., Cortey M., Olvera A., Segalés J.: Sow vaccination modulates the colonization of piglets by *Haemophilus parasuis*. *Vet. Microbiol.* 2010, 145, 315-320.
8. Costa-Hurtado M., Ballester M., Galofre-Mila N., Darji A., Aragon V.: VtaA8 and VtaA9 from *Haemophilus parasuis* delay phagocytosis by alveolar macrophages. *Vet. Res.* 2012, 43, 57.
9. Frandoloso R., Martinez-Martinez S., Gutierrez-Martin C. B., Rodriguez-Ferri E. F.: *Haemophilus parasuis* serovar 5 Nagasaki strain adheres and invades PK-15 cells. *Vet. Microbiol.* 2012, 154, 347-352.
10. Goodman R. B., Pugin J., Lee J. S., Matthay M. A.: Cytokine-mediated inflammation in acute lung injury. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003, 14, 523-535.
11. Kielstein P., Rapp-Gabrielson V. J.: Designation of 15 serovars of *Haemophilus parasuis* on the basis of immunodiffusion using heat-stable antigen extracts. *J. Clin. Microbiol.* 1992, 30, 862-865.
12. Kielstein P., Wohlfarth E.: *Schweinekrankheiten*. VEB Gustav Fischer Verlag Jena 1987, 3. Aufl., s. 406-408.
13. Mullins M. A., Register K. B., Bayles D. O., Butler J. E.: *Haemophilus parasuis* exhibits IgA protease activity but lacks homologs of the IgA protease genes of *Haemophilus influenzae*. *Vet. Microbiol.* 2011, 153, 407-412.
14. Oliveira S., Pijoan C.: *Haemophilus parasuis*: new trends on diagnosis, epidemiology and control. *Vet. Microbiol.* 2004, 99, 1-12.
15. Olvera A., Ballester M., Nofrarias M., Sibila M., Aragon V.: Differences in phagocytosis susceptibility in *Haemophilus parasuis* strains. *Vet. Res.* 2009, 40, 24.
16. Peet R. L., Fry J., Lloyd J., Henderson J., Curran J., Moir D.: *Haemophilus parasuis* septicaemia in pigs. *Aust. Vet. J.* 1983, 60, 187.
17. Pejsak Z., Zmudzki J., Walachowski M.: Ostry przypadek choroby Glässera w wielkotowarowej fermie świń. *Med. Weter.* 2002, 58, 192-196.
18. Pina S., Olvera A., Barcelo A., Bensaid A.: Trimeric autotransporters of *Haemophilus parasuis*: generation of an extensive passenger domain repertoire specific for pathogenic strains. *J. Bacteriol.* 2009, 191, 576-587.
19. Ruiz A., Oliveira S., Torremorell M., Pijoan C.: Outer membrane proteins and DNA profiles in strains of *Haemophilus parasuis* recovered from systemic and respiratory sites. *J. Clin. Microbiol.* 2001, 39, 1757-1762.
20. Sandal I., Corbeil L. B., Inzana T. J.: *Haemophilus*, [w:] Gyles C. L., Prescott J. F., Songer J. G., Thoen C. O.: *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*. Wiley-Blackwell 2010, 4. Ed., s. 387-409.
21. Serruto D., Rappuoli R., Scarselli M., Gros P., van Strijp J. A.: Molecular mechanisms of complement evasion: learning from staphylococci and meningococci. *Nat. Rev. Microbiol.* 2010, 8, 393-399.
22. Smart N. L., Hurnik D., Macinnes J. I.: An investigation of enzootic Glässer's disease in a specific-pathogen-free grower-finisher facility using restriction endonuclease analysis. *Can. Vet. J.* 1993, 34, 487-490.
23. Vahle J. L., Haynes J. S., Andrews J. J.: Interaction of *Haemophilus parasuis* with nasal and tracheal mucosa following intranasal inoculation of cesarean derived colostrum deprived (CDCD) swine. *Can. J. Vet. Res.* 1997, 61, 200-206.
24. Vanier G., Szcotka A., Friedl P., Lacouture S., Jacques M., Gottschalk M.: *Haemophilus parasuis* invades porcine brain microvascular endothelial cells. *Microbiol.* 2006, 152, 135-1452.
25. Wang Y., Liu C., Fang Y., Liu X., Li W., Liu S., Liu Y., Charreyre C., Audonnet J. C., Chen P., He Q.: Transcription analysis on response of porcine alveolar macrophages to *Haemophilus parasuis*. *BMC Genomics* 2012, 13, 68.
26. Yue M., Yang F., Yang J., Bei W., Cai X., Chen L., Dong J., Zhou R., Jin M., Jin Q., Chen H.: Complete Genome Sequence of *Haemophilus parasuis* SH0165. *J. Bacteriol.* 2008, 191, 1359-1360.
27. Zhang B., Feng S., Xu C., Zhou S., He Y., Zhang L., Zhang J., Guo L., Liao M.: Serum resistance in *Haemophilus parasuis* SC096 strain requires outer membrane protein P2 expression. *FEMS Microbiol. Lett.* 2012, 326, 109-115.
28. Zhang B., He Y., Xu C., Xu L., Feng S., Liao M., Ren T.: 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. *Vet. Microbiol.* 2012, 157, 237-242.
29. Zhang B., Tang C., Liao M., Yue H.: Update on the pathogenesis of *Haemophilus parasuis* infection and virulence factors. *Vet. Microbiol.* 2014, 168, 1-7.
30. Zhou H., Yang B., Xu F., Chen X., Wang J., Blackall P. J., Zhang P., Xia Y., Zhang J., Ma R.: Identification of putative virulence-associated genes of *Haemophilus parasuis* through suppression subtractive hybridization. *Vet. Microbiol.* 2010, 144, 377-383.
31. Zhou M., Zhang Q., Zhao J., Jin M.: *Haemophilus parasuis* encodes two functional cytolethal distending toxins: CdtC contains an atypical cholesterol recognition/interaction region. *PLoS One* 2012, 7, e32580.

Adres autora: prof. zw. dr hab. Marian Truszczyński, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: mtruszcz@piwet.pulawy.pl