

# Eco-epidemiología de las *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia pneumoniae* y *Chlamydia pecorum*: impacto en la salud pública

Recibido: 17/07/2015      Aceptado: 30/09/2015

María Celia Frutos<sup>1</sup>, Marina Monetti<sup>1</sup>, Jessica Mosmann<sup>1</sup>,  
Raúl Venezuela<sup>1</sup>, Ximena Kiguen<sup>1</sup>, María E. Cadario<sup>2</sup>,  
Viviana Ré<sup>1,3</sup>, Cecilia Cuffini<sup>1</sup>.

**Resumen** *Introducción: Las infecciones zoonóticas son una creciente amenaza para la salud mundial. Varias especies de Chlamydia y sus implicancias son poco conocidas.*

*Objetivo: Profundizar el conocimiento eco-epidemiológico de Chlamydia en Córdoba.*

*Materiales y métodos: Se implementaron técnicas serológicas y moleculares para la detección de Chlamydia en 314 individuos sanos, 44 con nexo epidemiológico asociado a Psitacosis, 505 aves silvestres, 288 aves cautivas, 30 reptiles y 30 equinos.*

*Resultados: En humanos se detectó C. pneumoniae, C. pecorum, C. psittaci, y co-infecciones asociadas a mayor cuantificación bacteriana. La prevalencia de anticuerpos en individuos sanos fue de 14,3 % y en pacientes 68,2 %. Se evidenció una respuesta inmune exacerbada en trabajadores en contacto con reptiles infectados con C. pneumoniae. En aves cautivas se identificó C. pneumoniae, C. psittaci, C. pecorum, C. gallinácea y co-infecciones con mayor concentración de ADN. Las aves silvestres no excretaban Chlamydia. En equinos se halló C. pneumoniae, también en Suricata suricatta y Atelerix albiventris. El genotipo A se halló en humanos, reptiles, aves, mamíferos no humanos y B en equinos.*

*Conclusiones: C. psittaci genotipo WC se detectó en aves y humanos; en menor frecuencia los genotipos E/B y A. Este hallazgo sugiere que los animales pue-*

<sup>1</sup>Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas – Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. INEI-ANLIS. Carlos G. Malbrán.

<sup>3</sup>Miembro científico del CONICET, Argentina.

Dirección para correspondencia:

Biol. María Celia Frutos, Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella". Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. Enfermera Gordillo Gómez s/n Ciudad Universitaria. CP: 5016, Córdoba, Argentina.

Tel: (54-351) 4334022 E-mail: mariaceliafrutos@gmail.com

**Fuentes de apoyo:** Este estudio fue apoyado en parte por Mincyt-Cba 113/2011, PICTO-ANLIS 0180/11. Esta comunicación ha sido elaborada en el marco de la colaboración promovida por la Secretaría de Medio Ambiente de la provincia de Córdoba, Argentina.

**Conflicto de intereses:** Los autores declaran que no tienen intereses en conflicto.

den representar una fuente subestimada de *C. psittaci*. El hallazgo de *C. pneumoniae* y *C. pecorum* en pacientes y en animales, plantea posibles ciclos zoonóticos y la necesidad de diagnóstico diferencial. Estos resultados avalaron el decreto de ley provincial de tenencia y comercialización de animales, promovido por la Secretaría de Ambiente de Córdoba.

**Palabras claves:** *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia pecorum*, prevalencia, caracterización genética.

## Introducción

Las *Chlamydia* son bacterias intracelulares obligadas y comprenden las especies *Chlamydia (C.) muridarum*, *C. suis* y *C. trachomatis*, *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, *C. pecorum*, *C. felis*, *C. caviae*, *C. abortus*, y recientemente descritas *C. ibidis*, *C. avium* y *C. gallinácea* (1,2,3).

Estas bacterias son los microorganismos más frecuentes en el reino animal, infectando mamíferos no humanos, reptiles y aves, causando una amplia gama de enfermedades. Varias de estas especies bacterianas son transmisibles al hombre y de importancia para la salud pública.

Todas las *Chlamydia* constituyen potenciales patógenos zoonóticos, produciendo en el hombre y animales enfermedades respiratorias, oculares, articulares, genitales e intestinales. A menudo pueden producir infecciones persistentes crónicas y subclínicas (4).

Generalmente, el contagio humano se produce por la inhalación de aerosoles de las secreciones de animales infectados. La clínica se relaciona con neumonías severas, fiebre alta, escalofríos, mialgia y dificultad respiratoria. Estos cuadros clínicos (neumonías atípicas) en humanos están generalmente producidos por las especies *C. psittaci* y *C. pneumoniae*.

*C. psittaci* se clasifica en 7 genotipos (A-F; E/B) asociados con aves y 2 genotipos (M56 y WC) asociados con mamíferos no humanos (5). Todos los genotipos se consideran transmisibles a los humanos. El análisis de las secuencias del gen que codifican para la Proteína Mayor de Membrana (MOMP) permite identificar todos los genotipos descriptos (6).

*C. pneumoniae* presenta un diverso rango de huéspedes y fue aislada en humanos, caballos, reptiles, anfibios, koalas y marsupiales australianos. Se clasifica en 4 genotipos (A-D), no son especie específicos, salvo por el genotipo B que sólo ha sido detectado en equinos (7). En humanos, *C. pneumoniae* es responsable de la NAC (neumonía adquirida en la comuni-

dad) en cuarteles, grupos familiares y pequeñas comunidades. El análisis filogenético de secuencias encontradas en reptiles y anfibios de Australia presentó un 99% de homología con secuencias de genotipos humanos, lo cual proporcionó evidencias sobre su rol como agente zoonótico (8).

*C. pecorum* ha sido aislada a partir de rumiantes, cerdos, aves, koalas y es comúnmente encontrada en intestino de animales asintomáticos (9).

En Argentina y específicamente en Córdoba existen pocos reportes sobre infecciones por estas bacterias productoras de zoonosis.

## Objetivo

Profundizar el conocimiento eco-epidemiológico de las especies de *Chlamydia* de importancia médico-veterinaria en la provincia de Córdoba, Argentina.

## Materiales y Métodos

En el período 2010-2013 se analizaron 314 muestras de sueros de individuos sanos (grupo control) y 44 de pacientes con nexo epidemiológico asociado a Psitacosis, por la técnica de neutralización de placas bajo medio líquido. Se subdividió a ambos grupos en tres rangos etarios y en los pacientes se analizaron datos epidemiológicos obtenidos de la ficha de notificación de casos.

Los resultados del estudio de serología fueron calculados con intervalos de confianza exacto binomial (IC) de 95 %. La prevalencia de las poblaciones fue analizada como proporciones independientes en dos poblaciones con el programa para análisis epidemiológicos de datos tabulados Epidat, Versión 3.1 (10). Asimismo en el año 2011, se analizaron 5 muestras de sueros de cuidadores de reptiles con sospecha de infección por

*C. pneumoniae*, por MIF (Bion Enterprises®, France) y el mismo muestreo se repitió 6 meses después.

Para la detección molecular y caracterización genética de *Chlamydia*, se analizaron 76 muestras de hisopados faríngeos de pacientes con nexo epidemiológico asociado a Psitacosis, 5 hisopados faríngeos de los cuidadores de reptiles y muestras de animales [aves silvestres (n=505), aves en cautiverio (n=288), reptiles (n=30) y equinos (n=30)], de diferentes regiones de la provincia de Córdoba.

Los hisopados se colocaron en 1 ml de sacarosa-fosfato-glutamato y se utilizó 200 µl de esta solución se sometieron a la extracción de ADN usando el kit de Accuprep Genomic DNA Extraction (Bioneer, Alameda, CA, EE.UU.) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El ADN extraído se almacenó a 4 °C.

La detección molecular se realizó por PCR genérica dirigida al gen *ompA* y la determinación de la especie por nested-PCR (11). La detección de *C. pneumoniae* se hizo por nested-PCR dirigida al gen *rpoB* (12) y el genotipo se obtuvo con una nested-PCR del gen *ompA* (7).

Los productos de las nested-PCR fueron sometidos a secuenciación en ambas direcciones utilizando los cebadores de las respectivas nested-PCR (Macrogen, Inc. Seúl, Corea). Las secuencias obtenidas fueron editadas utilizando el programa ClustalX y las secuencias consenso se compararon mediante BLASTn 2.2.19 (13) contra el conjunto completo de fragmentos genómicos de *Chlamydia* obtenidos del banco de datos GenBank, mediante un corte E-value de 510.

Mediante el programa MEGA 4 (14) se realizó el alineamiento de las secuencias disponibles en el GenBank. El modelo de sustitución nucleotídica fue seleccionado acorde al Criterio de Akaike implementado el programa ModelTest 3.7 (15) y se procedió a su análisis con el programa PhyML 3.0 (16).

Se realizó un *bootstrap* o generación de pseudorréplicas de la matriz original de ADN (2000 veces), a fin de obtener un dendograma consenso con soporte estadístico. La edición final de los dendogramas obtenidos se realizó utilizando el programa Dendroscope (17).

La determinación cuantitativa del ADN bacteriano se realizó por PCR en tiempo real dirigida al gen 23S ARNr de la familia Chlamydiaceae (18). La PCR cuantitativa

se llevó a cabo en un volumen final de 25 µl que contenía 5 µl de ADN utilizando un termociclador ABI Prism7000 (Applied Biosystems, Buenos Aires, Argentina). El valor del ciclo umbral (Ct) se calculó automáticamente. Cada muestra se analizó por duplicado. Los resultados se expresaron como UFI/ml.

## Resultados

La prevalencia de anticuerpos neutralizantes anti-LPS de *Chlamydia* en individuos sanos fue de 14,3% (Tabla 1). Si bien la mayor prevalencia se observó en el rango etario de 41-60 años en el grupo control, no existieron diferencias significativas entre los rangos etarios, el género, el título de anticuerpos detectado y la seroprevalencia.

**Tabla 1. Títulos de anticuerpos contra *Chlamydia* en relación al género y rango etario de los integrantes del grupo control**

Rango etario	%Total (n)	% Masculino (n)		% Femenino (n)	
		Títulos de anticuerpos neutralizantes		Títulos de anticuerpos neutralizantes	
		10	20	10	20
21-40	11,3 (11/97)	10,2 (5/49)	0,0 (0/49)	12,5 (6/48)	0,0 (0/48)
41-60	17,4 (19/109)	15,4 (10/65)	3,0 (2/65)	11,4 (5/44)	4,5 (2/44)
≥61	14,8 (16/108)	13,6 (6/44)	0,0 (0/44)	12,5 (8/64)	3,1 (2/64)
%Total (n)	14,7 (46/314)	13,3 (21/158)	1,3 (2/158)	12,2 (19/156)	2,6 (4/156)

En pacientes con nexo epidemiológico para Psitacosis la seroprevalencia fue del 68,2% (Tabla 2), la mayor prevalencia se observó en el rango etario mayor a 60 años, en ambos sexos. Sin embargo, no existieron

**Tabla 2. Títulos de anticuerpos contra *Chlamydia* en relación al género y rango etario de los integrantes del grupo con nexo epidemiológico para *C. psittaci***

Rango etario	%Total (n)	% Masculino (n)				% Femenino (n)			
		Títulos de anticuerpos neutralizantes				Títulos de anticuerpos neutralizantes			
		10	20	40	≥80	10	20	40	≥80
21-40	64,3 (9/14)	12,5 (1/8)	12,5 (1/8)	25,0 (2/8)	12,5 (1/8)	16,7 (1/6)	16,7 (1/6)	16,7 (1/6)	16,7 (1/6)
41-60	69,6 (16/23)	27,3 (3/11)	9,1 (1/11)	9,1 (1/11)	18,2 (2/11)	16,7 (2/12)	8,4 (1/12)	33,4 (4/12)	16,7 (2/12)
≥61	71,4 (5/7)	0,0 (0/3)	33,4 (1/3)	33,4 (1/3)	0,0 (0/3)	25,0 (1/4)	0,0 (0/4)	25,0 (1/4)	25,0 (1/4)
%Total (n)	68,2 (30/44)	18,2 (4/22)	13,6 (3/22)	18,2 (4/22)	13,6 (3/22)	18,2 (4/22)	9,1 (2/22)	27,3 (6/22)	18,2 (4/22)

diferencias significativas entre edad, el género, los títulos de anticuerpos detectados y la seroprevalencia.

El cuadro clínico más frecuente fue Neumonía Atípica y de ellos el 73,3% presentó anticuerpos neutralizantes y con títulos elevados ( $Z=4,85$  [0,300-0,645]  $p=0,0001$ ).

En el grupo de cuidadores de reptiles se detectó una respuesta inmune exacerbada, con títulos de IgG que van desde 512 hasta 4096. Estos títulos se mantuvieron en ambos muestreos. Mientras que los hisopados faríngeos de los cuidadores resultaron negativos para *Chlamydia* por PCR genérica (Tabla 3).

**Tabla 3. Características de los cuidadores de un centro recreativo de la provincia de Córdoba y resultados del estudio serológico anti-IgM y anti-IgG para *C. pneumoniae***

Cuidador	Protección laboral	Mayo		Diciembre		Contacto con animales
		Títulos anticuerpos		Títulos anticuerpos		
		IgM	IgG	IgM	IgG	
1	SÍ	-	-	-	-	Diario
2	NO	-	2 048	-	4 096	Diario
3	NO	-	2 048	-	2 048	Diario
4	NO	-	2 048	-	1 024	Diario
5	NO	-	512	S/D*	S/D*	Esporádico
6	NO	S/D**	S/D**	-	4 096	Diario

- Negativo. \* No determinado, renunció al centro recreativo.

\*\* No determinado, se incorporó al centro recreativo.

En pacientes se halló un 53,9% infectados con *Chlamydia*, *C. pneumoniae* (46,3%) genotipo A, *C. pecorum* (29,3%) y *C. psittaci* (24,4%) genotipo A, E/B y WC. El 43,9% de los individuos infectados fueron hospitalizados y requirieron cuidados intensivos (Figura 1). Asimismo se detectó un 26,8% de infecciones mixtas (*C. pneumoniae/C. pecorum*). Los pacientes evolucionaron favorablemente sólo después de recibir el tratamiento antimicrobiano específico.

En aves en cautiverio el 17,4% presentó infección por *Chlamydia*. *C. pneumoniae* (48,0%) genotipo A, *C. pecorum* (22,0%) y *C. psittaci* (6,0%) genotipo WC. Asimismo una nueva especie, *C. gallinacea*, se encontró en aves Passeriformes (Figura 1). En aves silvestres de nuestra provincia, no se detectó *Chlamydia*.

En reptiles y mamíferos no humanos se halló una ocurrencia de 41,7% al 80,0% de *C. pneumoniae* genotipo A, respectivamente. En los reptiles analizados del centro recreativo, se detectó *C. pneumoniae* en el 58,0% de los reptiles, que fue mitigado con la implementación del tratamiento antimicrobiano en los reptiles. En

equinos se detectó una ocurrencia de *C. pneumoniae* del 42,0%, genotipo B (Figura 1).

La mayor concentración de ADN bacteriano se halló en muestras humanas que presentaron de más de una especie de *Chlamydia*. En las aves que presentaron coinfección de *C. pneumoniae* y *C. pecorum*, también presentaron mayor excreción de *Chlamydia*. En reptiles, en aves de parques zoológicos y en mamíferos no humanos fue menor la excreción de estas bacterias (Tabla 4).

**Tabla 4: Características de las muestras analizadas por la técnica de PCR en tiempo real para la cuantificación de ADN bacteriano**

Muestra analizada*	Hospedador	Especie de <i>Chlamydia</i> detectada	Nº UFI/ml
ARG F15	<i>Homo sapiens</i>	<i>C. pneumoniae/C. pecorum</i>	5
ARG F16	<i>Homo sapiens</i>	<i>C. pecorum</i>	5
ARG F30	<i>Homo sapiens</i>	<i>C. psittaci/C. pecorum</i>	5
ARG F40	<i>Homo sapiens</i>	<i>C. psittaci/C. pneumoniae/C. pecorum</i>	85
ARG AMB 2	<i>Cyanocompsa brissonii</i>	<i>C. pneumoniae/C. pecorum</i>	45
ARG AMB 5	<i>Piranga flava</i>	<i>C. pneumoniae/C. pecorum</i>	85
ARG AMB 6	<i>Saltator aurantirostris</i>	<i>C. pneumoniae/C. pecorum</i>	5
ARG AMB 7	<i>Pheucticus aureoventris</i>	<i>C. pneumoniae/C. pecorum</i>	190
ARG AMB 8	<i>Paroaria coronata</i>	<i>C. pneumoniae/C. pecorum</i>	85
ARG AMB 9	<i>Cyanocompsa brissonii</i>	<i>C. pecorum</i>	5
ARG AMB 10	<i>Saltator aurantirostris</i>	<i>C. pecorum</i>	5
ARG AMB 18	<i>Gubernatrix cristata</i>	<i>C. pecorum</i>	5
ARG AMB 27	<i>Sicalis luteola</i>	<i>C. pecorum</i>	85
ARG AMB 212	<i>Pheucticus aureoventris</i>	<i>C. pneumoniae</i>	5
ARG ZOO 7	<i>Rhea americana</i>	<i>C. pneumoniae</i>	5
ARG PK 11	<i>Bothrops alternatus</i>	<i>C. pneumoniae</i>	5
ARG PK 20	<i>Trachemis scripta elegans</i>	<i>C. pneumoniae</i>	5
ARG AMB 73	<i>Atelerix albiventris</i>	<i>C. pneumoniae</i>	5
ARG VM C18	<i>Equus ferus</i>	<i>C. pneumoniae</i>	5

\* ARG HUM se indican las muestras de humanos, ARG AMB se indican las aves, ARG PK muestras de reptiles, ARG AMB 73 mamífero no humano y ARG VM C18 equino.

## Discusión

La seroprevalencia detectada en el grupo control se corresponde con lo reportado por otros autores utilizando la técnica de neutralización (19,20,21). En concordancia con otros autores, cuando analizamos el gru-

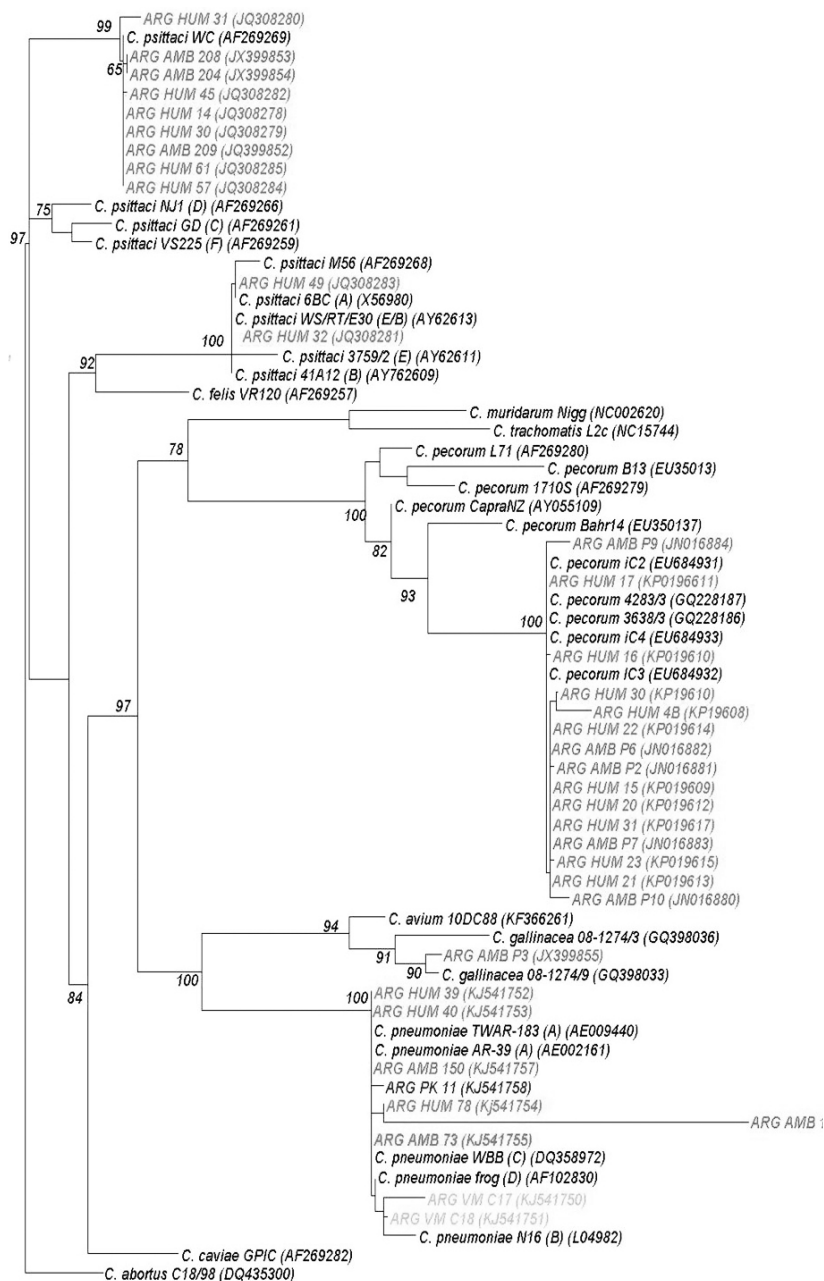


Figura 1. Dendrograma obtenido de un fragmento de 255 nt del dominio variable IV del gen ompA de *Chlamydia*, construido por Máxima Verosimilitud utilizando TIM2+I+G como modelo de sustitución de nucleótidos con parámetros sugeridos por ModelTest 3.7 (software PhyML). Las secuencias que pertenecen a este estudio son denominan ARG. ARG HUM se indican las secuencias detectadas en humanos, ARG AMB se indican las secuencias detectadas en aves, ARG PK secuencias de reptiles, ARG AMB 73 secuencia de mamífero no humano y ARG VM las secuencias correspondientes a equinos. En paréntesis se indica el genotipo al cual corresponden las cepas patrones y códigos de acceso al banco de genes. La secuencia de *C. abortus* C18/98 se incluyó como grupo externo. Son indicados los valores de *bootstrap* (2.000 pseudoréplicas) mayores a 50, en los nodos de las ramas.

que existe una mayor respuesta inmune en aquellas personas expuestas que cursan un cuadro clínico o quienes han tenido contacto con animales excretores de estas bacterias.

Gracias a la implementación de nuevas técnicas moleculares logramos ampliar el conocimiento de las *Chlamydia* de importancia médico-veterinaria. Pudimos identificar y caracterizar diversas especies de *Chlamydia* zoonóticas y potencialmente zoonóticas, en muestras de un amplio rango de hospedadores.

En nuestra región se identificó 4 especies de *Chlamydia* en humanos con nexo epidemiológico para *C. psittaci* y en animales en cautiverio. Mientras que en aves libres no se detectó estas bacterias.

Este es el primer estudio que aportó datos sobre la identificación y caracterización genómica de *Chlamydia* en diferentes poblaciones de Córdoba. Nuestros resultados contribuyeron al conocimiento de la epidemiología molecular de estas bacterias y apoyaron la promulgación de una ley provincial para tenencia y comercialización de animales y serán de utilidad para mejorar el diagnóstico y el manejo clínico-terapéutico de los pacientes y animales infectados.

En muestras humanas fue más frecuente *C. pneumoniae*, seguida por *C. pecorum* y *C. psittaci*. La neumonía atípica fue el cuadro clínico asociado a estos agentes. También se detectaron co-infecciones que estuvieron asociadas a mayor cuantificación bacteriana, a exacerbación del cuadro clínico y a pacientes hospitalizados en cuidados intensivos.

La detección de *C. psittaci* genotipo WC en aves y humanos sugiere que los animales pueden representar una fuente subestimada de *C. psittaci* o que las aves pueden dispersar cepas asociadas a mamíferos.

po con nexo epidemiológico para *C. psittaci*, observamos una mayor prevalencia de anticuerpos neutralizantes anti-LPS de *Chlamydia* (22,23,24). Asimismo, esta diferencia significativa en la prevalencia en ambos grupos, también fue observada en los títulos de anticuerpos detectados. Por lo que podríamos inferir

El hallazgo de *C. pneumoniae* y *C. pecorum* en humanos con enfermedad respiratoria y en animales de compañía, plantea posibles ciclos zoonóticos.

Se logró identificar en aves en cautiverio, no sólo la tradicionalmente estudiada *C. psittaci*, sino también

*C. pneumoniae* y *C. pecorum*, cuyo rol zoonótico aún no ha sido claramente establecido. Sin embargo el hallazgo de *C. pneumoniae* en muestras clínicas de individuos con cuadros respiratorios agudos y contacto estrecho con aves, sería el primer indicio de la necesidad de ampliar el espectro diagnóstico diferencial y evaluar la incorporación de la detección de otras *Chlamydia* en el algoritmo de infecciones respiratorias en nuestra región.

De la misma forma, la ubicuidad de *C. pneumoniae* en diferentes hospedadores, el hallazgo de este agente en reptiles y el alto título de anticuerpos hallados en

sus cuidadores, nos permite inferir su amplio potencial zoonótico y por tanto enfatizar en la necesidad de la implementación de normas de bioseguridad laboral en el personal en contacto con animales y en la importancia de la implementación de controles más estrictos de la tenencia y comercialización ilegal de aves y nuevos animales de compañía, con el objeto final de mitigar su diseminación.

Finalmente el hallazgo de una nueva *Chlamydia*, *C. gallinacea*, en aves de nuestra región abre las puertas a nuevas investigaciones tendientes a dilucidar sus implicancias médico-veterinarias.

## Referencias

- Kuo CC, Stephens RS, Bavoil PM, Kaltenboeck B. Genus *Chlamydia*. Jones, Rake and Stearns 1945, 55, in: Krieg NR, Staley JT, Brown DR, Hedlund BP, Paster BJ, Ward NL, Ludwig W, Whitman WB. (Eds.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 4, 2nd ed., Springer, Heidelberg 2011;846-865.
- Vorimore F, Hsia R-c, Huot-Creasy H, Bastian S, Deruyter L, Passet A, Sachse K, Bavoil P, Myers G, Laroucau K. Isolation of a New *Chlamydia* species from the Feral Sacred Ibis (*Threskiornis aethiopicus*): *Chlamydia ibidis*. PLoS ONE 2013; 8(9): e74823. doi:10.1371/journal.pone.0074823.
- Sachse K, Laroucau K, Riege K, Wehner S, Dilcher M, Huot Creasy H, Weidmann M, Myers G, Vorimore F, Vicari N, Magnino S, Liebler-Tenorio E, Ruetzger A, Bavoil PM, Hufert FT, Rosselló-Móra R, Marz M. Evidence for the existence of two new members of the family Chlamydiaceae and proposal of *Chlamydia avium* sp. nov. and *Chlamydia gallinacea* sp. nov. Syst Appl Microbiol 2014; 37(2):79-88.
- Longbottom D, Coulter LJ. Animal chlamydioses and zoonotic implications. J Comp Pathol 2003; 128:217-244.
- Pannekoek Y, Dickx V, Beeckman DS, Jolley KA, Keijzers WC, Vretou E, Maiden MC, Vanrompay D, van der Ende A. Multi Locus Sequence Typing of *Chlamydia* Reveals an Association between *Chlamydia psittaci* Genotypes and Host Species. PLoS ONE 2010; 5(12): e14179. doi:10.1371/journal.pone.0014179.
- Geens T, Desplanques A, Van Loock M, Bonner BM, Kaleta EF, Magnino S, Andersen AA, Everett KD, Vanrompay D. Sequencing of *Chlamydia psittaci ompA* gene reveals a new genotype, E/B, and need for a rapid discriminatory genotyping method. J Clin Microbiol 2005; 43:2456-2461.
- Bodetti T, Jacobson E, Wan C. Molecular evidence to support the expansion of the host range of *Chlamydia pneumoniae* to include reptiles as well as humans, horses, koalas and amphibians. Syst Appl Microbiol 2002; 25:146-152.
- Mitchell C, Hutton S, Myers G, Brunham R, Timm P. *Chlamydia pneumoniae* is genetically diverse in animals and appears to have crossed the host barrier to humans on (at least) two occasions. PLoS Pathog 2010; 6(5):e1000903. doi:10.1371/journal.ppat.1000903.
- Rodolakis, A. Yousef Mohamad, K. Zoonotic potential of *Chlamydia*. Vet Microbiol 2010; 27: 140 (34):382-391.
- Xunta de Galicia, OPS. EPIDAT 3.1. A Coruña, Washington, D.C.: Xunta de Galicia, OPS; 2006. Disponible en: <http://www.sergas.es/>
- Sachse K, Hotzel H. Detection and differentiation of *Chlamydiae* by nested-PCR. Methods Mol Biol 2003; 216: 123-36.
- Maass M, Bartels C, Engel PM, Mamat U, Sievers HH. Endovascular presence of viable *Chlamydia pneumoniae* is a common phenomenon in coronary artery disease. J Am Coll Cardiol 1998; 31(4):827-832.
- Zheng Zhang S, Schwartz LW, Webb M. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. J Comput Biol 2000; 7:203-214.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. Mol Biol Evol 2007; 24:1596-1599.
- Posada D, Crandall KA. Modeltest: testing the model of DNA substitution. Bioinformatics 1998; 14(9):817-818.
- Guindon S, Gascuel O. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. Syst Biol 2003; 52(5):696-704.
- Huson DH, Richter DC, Rausch C, DeZulian T, Franz M, Rupp R. *Dendroscope: An interactive viewer for large phylogenetic trees*. BMC Bioinformatics 2007; 8(1):460.
- Everett KD, Hornung LH, Andersen AA. Rapid detection of the Chlamydiaceae and other families in the order Chlamydiales: three PCR tests. J Clin Microbiol 1999b; 37:575-580.
- Donatti M, Rumpianesi F, Pavan G, D'Apote L, Cevenini R. Detection of serum antibodies against *Chlamydia*

- pneumoniae* by in vitro neutralization and microimmunofluorescence assays. Zentralbl Bakteriol 1996; 284(1):52-57.
20. Phoon MC, Yee GW, Koh WP, Chow VT. Comparative Seroepidemiologic Analysis of *Chlamydomydia pneumoniae* Infection using Microimmunofluorescence, Enzyme Immunoassay and Neutralization Test: Implications for Serodiagnosis. Indian J Microbiol 2011; 51(2): 223-229.
  21. Tapia O, Slepkin A, Sevrioukov E, Hamor K, de la Maza LM, Peterson EM. Inclusion Fluorescent-Antibody Test as a Screening Assay for Detection of Antibodies to *Chlamydomydia pneumoniae*. Clin Diagn Lab Immunol 2002; 9(3):562-567.
  22. Cuffini C, Guzmán LA, Villegas N, Alonso CE, Martínez Riera L, Rodríguez Fermepín M, Entrocassi A, Adamo MP, Pedranti M, Zapata M. Isolation of *Chlamydomydia pneumoniae* from Atheromas of the Carotid Artery and their antibiotics susceptibility profile. Rev Enf Infecc y Microbiol Clín 2006; 24:81-85.
  23. Kanauchi M, Kawano T, Dohi K. Association of *Chlamydomydia pneumoniae* infection with diabetic nephropathy. Diabetes Res Clin Pract 2000; 47(1):45-48.
  24. Kenina V, Auce P, Millers A. The relationship between seropositivity against *Chlamydomydia pneumoniae* and stroke and its subtypes in a Latvian population. Medicina (Kaunas) 2011; 47 (12): 657-660.
  25. Monno R, Fumarola L, Trerotoli P, Giannelli G, Correale M, Brunetti D, Di Biase M. Seroprevalence of *Chlamydomydia pneumoniae* in ischaemic heart disease. New Microbiol 2010; 33(4):381-385.

## ***Eco Epidemiology of Chlamydia psittaci, Chlamydia pneumoniae and Chlamydia pecorum: impact on public health***

**Summary** Introduction: Zoonotic infections are a growing threat to global health. Chlamydia and its implications are not well known.

The aim of this study was to further the eco-epidemiological knowledge of Chlamydia in Cordoba.

Materials and methods: Serological and molecular techniques was implemented for detection of Chlamydia in 314 healthy individuals, 44 individuals associated with Psittacosis, 505 wild birds, 288 captive birds, 30 reptiles and 30 equine.

Results: In humans were detected *C. pneumoniae*, *C. pecorum*, *C. psittaci* and co-infections associated with increased bacterial quantification.

The prevalence of antibodies in healthy individuals was 14.3% and 68.2% patients. Exacerbated immune response was detected in workers with contact infected with *C. pneumoniae* evidenced reptiles.

In captive birds we detected *C. pneumoniae*, *C. psittaci*, *C. pecorum*, *C. gallinácea* and co-infections with the highest concentration of DNA. Wild birds did not excrete Chlamydia.

In horses we found *C. pneumoniae*, also in *Suricata suricatta* and *Atelerix albiventris*. The genotype was found in humans, reptiles, birds, mammals and non-human equine B.

Conclusions: *C. psittaci* WC genotype was detected in birds and humans; less frequently genotypes E/B and A. This finding suggests that animals can be a source of *C. psittaci* underestimated.

The discovery of *C. pneumoniae* and *C. pecorum* in patients and animals raises potential zoonotic cycles and the need for differential diagnosis.

These results endorsed the decree of provincial law to possess and marketing of animals, promoted by Secretaría de Ambiente de Córdoba.

**Keywords:** *Chlamydia psittaci*; *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia pecorum*; prevalence; genetic characterization.