

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**ESTANDARIZACIÓN DE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA  
PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *CHLAMYDIA PSITTACI* EN AVES DE URUGUAY.**

**POR**

**FERNÁNDEZ VALLO, María Magdalena  
PICÚN ROUX, Tatiana Camila**

TESIS DE GRADO presentada como uno  
de los requisitos para obtener el título de  
Doctor en Ciencias Veterinarias

Orientación: Medicina Veterinaria

MODALIDAD: Ensayo experimental

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2025**

## PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

---

Dr. Lorenzo Verger

Segundo miembro (Tutor):

---

Dra. Victoria Iribarnegaray

Tercer miembro:

---

Dr. Rody Artigas

Cuarto miembro:

---

Dra. Natasha Eliopulos

Fecha:

---

22/12/2025

Autores:

---

María Magdalena Fernández Vallo

---

Tatiana Camila Picún Roux

## **AGRADECIMIENTOS**

A nuestra tutora, Vicky, por su dedicación, disposición y paciencia, siempre presente y con su toque de humor que hizo todo más sencillo.

A nuestra co-tutora, Natasha, por involucrarnos en el maravilloso mundo de la medicina de los animales no tradicionales y orientarnos en este proceso.

A todos los y las profesionales que colaboraron con este proyecto y nos compartieron generosamente sus conocimientos.

A nuestras familias, amigos y amigas por su apoyo incondicional.

“Si he visto más lejos es porque estoy sentado sobre hombros de gigantes.”

*Isaac Newton*

## TABLA DE CONTENIDO

<b>PÁGINA DE APROBACIÓN</b> .....	<b>2</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>3</b>
<b>LISTA DE CUADROS Y FIGURAS</b> .....	<b>6</b>
<b>1. RESUMEN</b> .....	<b>7</b>
<b>2. SUMMARY</b> .....	<b>8</b>
<b>3. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>9</b>
<b>4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>11</b>
4.1. Agente etiológico .....	11
4.1.1. Historia y taxonomía .....	11
4.1.2. Morfología y ciclo de vida .....	12
4.1.3. Genotipos y variabilidad .....	14
4.1.4. Epidemiología y transmisión .....	15
4.1.5. Patogenia y manifestaciones clínicas .....	17
4.1.6. Clamidiosis aviar en humanos .....	17
4.2. Herramientas diagnósticas en aves .....	18
4.2.1. Pruebas serológicas .....	19
4.2.2. Identificación del agente .....	19
4.2.2.1. Aislamiento .....	19
4.2.2.2. Tinción citológica .....	20
4.2.2.3. Detección del antígeno .....	20
4.2.2.4. Métodos moleculares .....	20
4.3. Diagnóstico en humanos .....	21
4.4. Tratamiento .....	22
4.5. Control y prevención .....	22
4.6. Situación epidemiológica .....	23
<b>5. HIPÓTESIS</b> .....	<b>26</b>
<b>6. OBJETIVO</b> .....	<b>27</b>
6.1. Objetivo general .....	27
6.2. Objetivos específicos .....	27
<b>7. METODOLOGÍA</b> .....	<b>28</b>
7.1. Aspectos éticos .....	28
7.2. Población de estudio .....	28
7.3. Toma de muestras .....	28
7.4. Estandarización de la PCR convencional para la identificación de Chlamydiaceae .....	28
7.5. Estandarización de la PCR convencional para la identificación de <i>Chlamydia psittaci</i> mediante el gen <i>ompA</i> .....	29
7.6. Extracción de ADN .....	30
7.7. Procesamiento de muestras mediante PCR .....	30
7.8. Secuenciación .....	30
7.9. Análisis filogenético de <i>Chlamydia psittaci</i> basado en el gen <i>ompA</i> ...	31

<b>8.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>32</b>
8.1.	PCR convencional para la identificación de Chlamydiaceae .....	32
8.2.	PCR convencional para la identificación de <i>Chlamydia psittaci</i> mediante el gen <i>ompA</i> .....	32
8.3.	Muestras obtenidas y procesamiento por PCR para detectar <i>Chlamydia psittaci</i> .....	33
8.4.	Secuenciación .....	35
8.5.	Análisis filogenético de <i>Chlamydia psittaci</i> basado en el gen <i>ompA</i> ..	35
<b>9.</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>37</b>
<b>10.</b>	<b>CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS</b> .....	<b>43</b>
<b>11.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>44</b>
	<b>ANEXOS</b> .....	<b>56</b>

## LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Figura 1. Cultivo celular Buffalo green monkey (BGM), 18hs después de la inoculación con una cepa de <i>Chlamydia psittaci</i> .....	13
Figura 2. Cultivo celular BGM, 52hs posteriores a la inoculación de una cepa de <i>Chlamydia psittaci</i> . .....	13
Figura 3. Representación esquemática del ciclo de vida de <i>Chlamydia psittaci</i> .....	14
Figura 4. Huéspedes de <i>C. psittaci</i> y posibles rutas de transmisión al ser humano.....	15
Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa (2%) de los productos de PCR para detectar géneros de la familia Chlamydiaceae.....	32
Figura 6. Electroforesis en gel de agarosa (2%) de los productos de PCR para detectar el gen <i>ompA</i> .....	32
Figura 7. Electroforesis en gel de agarosa (2%) de los productos de PCR para detectar <i>C. psittaci</i> mediante el gen <i>ompA</i> .....	35
Figura 8. Árbol filogenético construido a partir del gen <i>ompA</i> .....	36
Tabla 1. Ocurrencia de <i>C. psittaci</i> en aves psitácidas a nivel mundial.....	25
Tabla 2. Distribución de los géneros/especies de los ejemplares muestreados según su origen.....	33
Tabla 3. Detección de <i>Chlamydia psittaci</i> mediante PCR de las muestras obtenidas según el tipo de muestra y el origen de las aves.....	34

## 1. RESUMEN

*Chlamydia psittaci* es un patógeno zoonótico de relevancia en salud pública y medicina veterinaria, responsable de la psitacosis en humanos y de cuadros respiratorios y sistémicos en aves. En Uruguay existe escasa información sobre su circulación en aves, pese a la frecuente interacción entre personas y aves de compañía, el ingreso de ejemplares confiscados por tráfico ilegal y la presencia de aves silvestres en centros de rehabilitación y reservas. El objetivo de este estudio fue estandarizar una técnica de PCR convencional dirigida al gen *ompA* para la identificación de *C. psittaci* y aplicarla al análisis de muestras provenientes de aves psitácidas mantenidas en diferentes condiciones de cautiverio. Para ello, se optimizó la amplificación del gen blanco utilizando ADN control y se procesaron un total de 77 muestras, correspondientes a hisopados cloacales, orofaríngeos y materia fecal de aves de distintos orígenes: pertenecientes a bioparques, custodiadas por el Ministerio de Ambiente y atendidas en la Policlínica de Fauna Silvestre y Mascotas No Tradicionales de Facultad de Veterinaria. La técnica estandarizada permitió identificar la presencia de *C. psittaci* en 9/34 aves confiscadas y en 3/19 aves de compañía, constituyendo el primer antecedente de diagnóstico molecular de este patógeno en Uruguay. Estos hallazgos evidencian su circulación en distintos entornos y subrayan la necesidad de fortalecer las capacidades de vigilancia y control en el país. Este trabajo aporta una herramienta diagnóstica aplicable en el ámbito nacional y establece una base para futuros estudios, incluyendo la ampliación del muestreo, la incorporación de otras especies de aves y la eventual implementación de PCR en tiempo real para mejorar la sensibilidad diagnóstica.

## 2. SUMMARY

*Chlamydia psittaci* is a zoonotic pathogen of relevance to public health and veterinary medicine, responsible for psittacosis in humans and for respiratory and systemic disease in birds. In Uruguay, information on its circulation in avian populations is scarce, despite the frequent interaction between people and companion birds, the arrival of confiscated specimens from illegal trafficking, and the presence of wild birds in rehabilitation centers and wildlife reserves. The objective of this study was to standardize a conventional PCR technique targeting the *ompA* gene for the identification of *C. psittaci* and to apply it to the analysis of samples from psittacine birds kept under different captivity conditions. To achieve this, amplification of the target gene was optimized using control DNA, and a total of 77 samples were processed, including cloacal swabs, oropharyngeal swabs, and fecal material from birds housed in zoological parks, held in custody by the Ministerio de Ambiente and attended at the Policlínica de Fauna Silvestre y Mascotas No Tradicionales de Facultad de Veterinaria.

The standardized technique enabled the identification of *C. psittaci* in 9/34 confiscated birds and in 3/19 companion birds, representing the first report of molecular diagnosis of this pathogen in Uruguay. These findings demonstrate its circulation across different settings and highlight the need to strengthen surveillance and control capacities in the country.

This work provides a diagnostic tool applicable at national level and establishes a foundation for future studies, including expanding sampling efforts, incorporating additional bird species, and the potential implementation of real-time PCR to improve diagnostic sensitivity.

### 3. INTRODUCCIÓN

*Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*) es una bacteria perteneciente a la familia Chlamydiaceae, reconocida como el agente causal de la clamidiosis aviar o psitacosis, una zoonosis de distribución mundial (Kaleta & Taday, 2003). Se trata de una bacteria Gram negativa, intracelular obligada, que presenta un ciclo reproductivo bifásico característico (Knittler & Sachse, 2015; Longbottom & Coulter, 2003).

*C. psittaci* posee amplia distribución geográfica, con registros en Europa, América, Asia, Oceanía y, en menor medida, África (Stokes et al., 2021; Wang et al., 2024). Aunque inicialmente se asociaba principalmente a aves psitácidas (Vanrompay et al., 2007), actualmente se reconoce su presencia en numerosos mamíferos domésticos y silvestres, incluidos bovinos, ovinos, equinos y felinos, así como en animales de laboratorio y en reptiles (Cox et al., 1998; Everett, 2000; Inchuai et al., 2021; Knittler & Sachse, 2015; Wang et al., 2024). Sin embargo, las aves continúan siendo sus principales reservorios y huéspedes naturales (Andersen & Franson, 2008), destacándose aquellas con estrecho contacto con el ser humano, como palomas, patos, pavos y gallinas, además de los Psittaciformes (Kaleta & Taday, 2003; Sachse, Laroucau et al., 2015).

La transmisión entre aves y hacia humanos ocurre principalmente por inhalación de partículas aerógenas contaminadas con secreciones o excreciones infectadas, y en menor medida por ingestión (Dickx & Vanrompay, 2011). Las aves pueden eliminar el agente de forma intermitente, incluso sin manifestar signos clínicos, y aumentar la excreción en situaciones de estrés como hacinamiento o transporte (Harkinezhad et al., 2009). La bacteria puede permanecer viable hasta 30 días en heces y varias semanas en el ambiente (Caul & Sillis, 1998; Longbottom & Coulter, 2003), lo que favorece su persistencia. Estas características incrementan el riesgo de transmisión de *C. psittaci* en personas con contacto frecuente con aves, tales como médicos veterinarios, trabajadores del sector avícola, personal de centros de rescate de fauna silvestre y propietarios de aves de compañía (Beeckman & Vanrompay, 2009; Hogerwerf et al., 2020; Hulin et al., 2015; Sheleby-Elías et al., 2013).

En las aves, la infección suele ser subclínica, permitiendo la diseminación del agente, aunque también puede causar cuadros respiratorios, digestivos u oculares de gravedad variable (Andersen & Franson, 2008). Los signos clínicos incluyen fiebre, anorexia, rinitis, diarrea amarillenta y erizamiento de plumas, pudiendo evolucionar a estados graves (Harkinezhad et al., 2009). En humanos, la enfermedad se manifiesta desde formas leves hasta neumonías intersticiales severas, con signos inespecíficos como fiebre, cefalea y dificultad respiratoria. Si bien el diagnóstico suele realizarse de forma tardía, el tratamiento antibiótico resulta eficaz y las tasas de mortalidad son bajas (OMSA, 2018).

Existen diversos métodos para el diagnóstico de *C. psittaci* en aves, clasificados en dos grupos principales: por un lado, la detección directa del agente en muestras de tejidos, secreciones o excreciones, y por otro, el análisis serológico de sangre para identificar anticuerpos anti-clamidiales (Sachse et al., 2009). Actualmente la

Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) recomienda las pruebas de amplificación de ácido nucleico como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional y en tiempo real, la detección basada en microchips de ADN y la secuenciación de ADN (OMSA, 2018).

La psitacosis es reconocida como zoonosis desde fines del siglo XIX, cuando Ritter describió un brote de neumonía asociado a aves tropicales en Suiza (Ruiz-Laiton, 2020). Desde entonces, se han reportado casos humanos vinculados al contacto con psitácidos, aves domésticas y silvestres en distintos países (Cadario et al., 2017; Kaibu et al., 2006; Laroucau et al., 2009; Rehn et al., 2013). En América del Sur, los registros son escasos, pero esto puede responder al subdiagnóstico y a la falta de obligatoriedad en la notificación, y no necesariamente a una baja incidencia (Stokes et al., 2021). En Uruguay, si bien existen antecedentes de casos humanos, la enfermedad no es de denuncia obligatoria ante el Ministerio de Salud Pública, por lo que los registros oficiales probablemente no representen la casuística real.

Wang et al., (2024) reportaron que la incidencia de *Chlamydia psittaci* en aves y humanos a nivel mundial ha mostrado un incremento sostenido en los últimos años, lo que evidencia la importancia de continuar investigando su distribución y dinámica epidemiológica a escala regional. En este sentido, se han llevado a cabo en Latinoamérica numerosos estudios que reportan prevalencias muy variables en aves: desde 81,8 % en psitácidos de Colombia (Ruiz-Laiton et al., 2022), 21,1 % en aves de compañía en Argentina (Origlia et al., 2019), hasta 3,4% en psitácidos en Costa Rica (Sheleby-Elias et al., 2013).

En Uruguay, los estudios son limitados. El primer diagnóstico se realizó en 1986 en un ejemplar de *Myiopsitta monachus* mediante histopatología (Caffarena, 1987), y desde entonces no se cuenta con información sobre su prevalencia, pese a ser una enfermedad de notificación obligatoria ante el Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP, 2024).

Dado el escaso conocimiento sobre la presencia de *C. psittaci* en aves en Uruguay y la inexistencia de técnicas moleculares validadas para su diagnóstico en el país, este estudio tuvo como objetivo principal estandarizar una PCR convencional para su detección, contribuyendo así al conocimiento y a la vigilancia epidemiológica nacional.

## 4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 4.1. Agente etiológico

#### 4.1.1. Historia y taxonomía

La psitacosis, reconocida como enfermedad zoonótica, fue descrita por primera vez en 1879, cuando se reportó en Suiza un cuadro de neumonía atípica en humanos asociado al contacto con aves (Harkinezhad et al., 2009). El agente causal, posteriormente identificado como *Chlamydia psittaci*, fue considerado en un principio un virus, según la clasificación propuesta por Bedson y colaboradores en 1930. En las décadas siguientes, particularmente entre 1931 y 1963, se registraron casos de psitacosis en distintos países, entre ellos India, lo que contribuyó a reconocer la amplia distribución de la enfermedad. El desarrollo de la microscopía electrónica en 1966 permitió demostrar que las clamidias poseen ADN, ARN, ribosomas y una pared celular similar a la de las bacterias Gram negativas, lo que llevó a reclasificarlas como bacterias (Harkinezhad et al., 2009; Matsumoto & Manire, 1970; Ravichandran et al., 2021).

Posteriormente, el género *Chlamydia* se incorporó a la familia Chlamydiaceae, (orden Chlamydiales), sumándose nuevas especies hasta alcanzar las quince reconocidas en la actualidad (Luu et al., 2023), entre ellas *C. avium* y *C. gallinaceae*, descritas más recientemente por Sachse y colaboradores (2014).

La clasificación taxonómica de los organismos clamidiales ha sido objeto de múltiples revisiones y controversias a lo largo del tiempo. Inicialmente, estos microorganismos fueron descritos como *Rickettsia* (Lillie, 1930), aunque su ubicación sistemática fue modificada en sucesivas ocasiones durante los años siguientes (Ruiz-Laiton, 2020). El género *Chlamydia*, perteneciente a la familia Chlamydiaceae y al orden Chlamydiales, fue establecido por Page en 1966, incluyendo bacterias intracelulares Gram negativas caracterizadas por un ciclo de desarrollo bifásico (Page, 1966; Sachse, Laroucau et al., 2015).

Hasta 1980 se reconocían dos especies dentro del género *Chlamydia*: *C. trachomatis* y *C. psittaci*, correspondientes a cepas aisladas de humanos y animales, respectivamente (Longbottom & Coulter, 2003; Page, 1968). En aquel momento, la asignación de cepas a una u otra especie se realizaba considerando características bioquímicas y morfológicas, junto con particularidades en su replicación y en los hospedadores que infectaban (Sachse, Laroucau et al., 2015).

En 1999, Everett y colaboradores propusieron una revisión del orden Chlamydiales, dividiéndolo en cuatro familias y reestructurando la familia Chlamydiaceae en dos géneros: *Chlamydia* y *Chlamydophila*. Esta propuesta incluyó la incorporación de nuevas especies y la reclasificación de algunas ya conocidas, como *Chlamydia psittaci*, renombrada como *Chlamydophila psittaci*. De esta última derivaban tres nuevas especies: *C. abortus*, *C. caviae* y *C. felis* (Everett et al., 1999). Sin embargo, dicha reorganización no obtuvo una aceptación general dentro de la comunidad científica, debido a las controversias sobre sus fundamentos y su limitada aplicación práctica (Schachter et al., 2001; Stephens et al., 2009). Posteriormente, en 2009, el

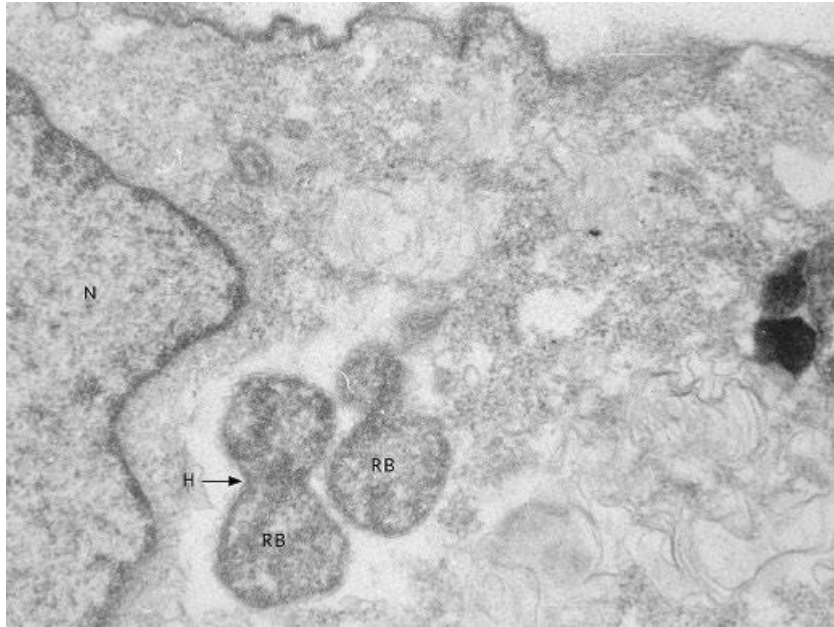
Subcomité de Taxonomía de Chlamydiales de la Sociedad de Microbiología acordó reunificar los géneros dentro de la familia Chlamydiaceae, decisión respaldada por la propuesta de Sachse, Bavoil y colaboradores (2015). Este consenso dio lugar a la clasificación actualmente aceptada, que reconoce un único género: *Chlamydia* (Greub, 2010; Sachse, Bavoil et al., 2015).

#### **4.1.2. Morfología y ciclo de vida**

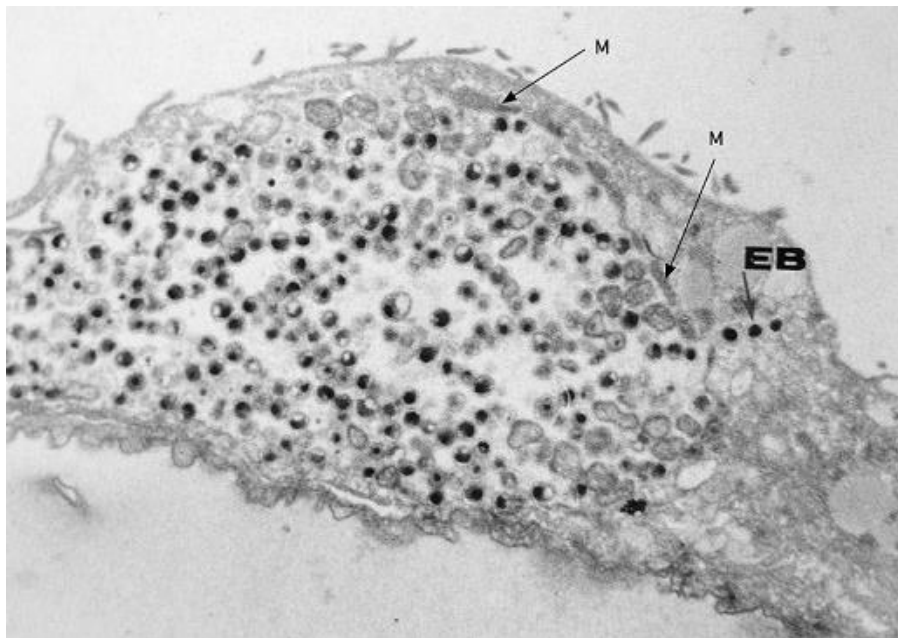
*Chlamydia psittaci* es una bacteria intracelular obligada, de morfología coccoide y Gram negativa (Cheong et al., 2019; Everett, 2000; Ravichandran et al., 2021; Sachse, Laroucau et al., 2015; Vanrompay, 2020) (Figuras 1 y 2). Presenta un ciclo de desarrollo bifásico característico y altamente conservado en sus hospedadores, que involucra dos formas principales morfológica y funcionalmente diferenciadas: el cuerpo elemental (CE) y el cuerpo reticulado (CR), además de un cuerpo intermedio (IB), identificado durante la transición de CR a CE, y una forma aberrante asociada a la persistencia (Vanrompay, 2020) (Figura 3).

El CE, electrón denso y de 0,2–0,3  $\mu\text{m}$  de diámetro, constituye la forma infecciosa. Se adhiere a la mucosa de la célula blanco y, una vez internalizado, se transforma en CR, la forma intracelular metabólicamente activa y de mayor tamaño (0,5–2,0  $\mu\text{m}$ ). El CR se localiza dentro de una inclusión citoplasmática, donde se divide por fisión binaria, generando nuevos corpúsculos que maduran nuevamente a CE entre las 24 y 72 horas posteriores a la infección. Estos son liberados por lisis celular o mediante endocitosis reversa, completando así el ciclo (Harkinezhad et al., 2009; Knittler & Sachse, 2015; Vanrompay, 2020). Durante este proceso pueden observarse los cuerpos intermedios (0,3–1,0  $\mu\text{m}$ ), que representan la transición entre las fases activa e infecciosa (Vanrompay, 2020).

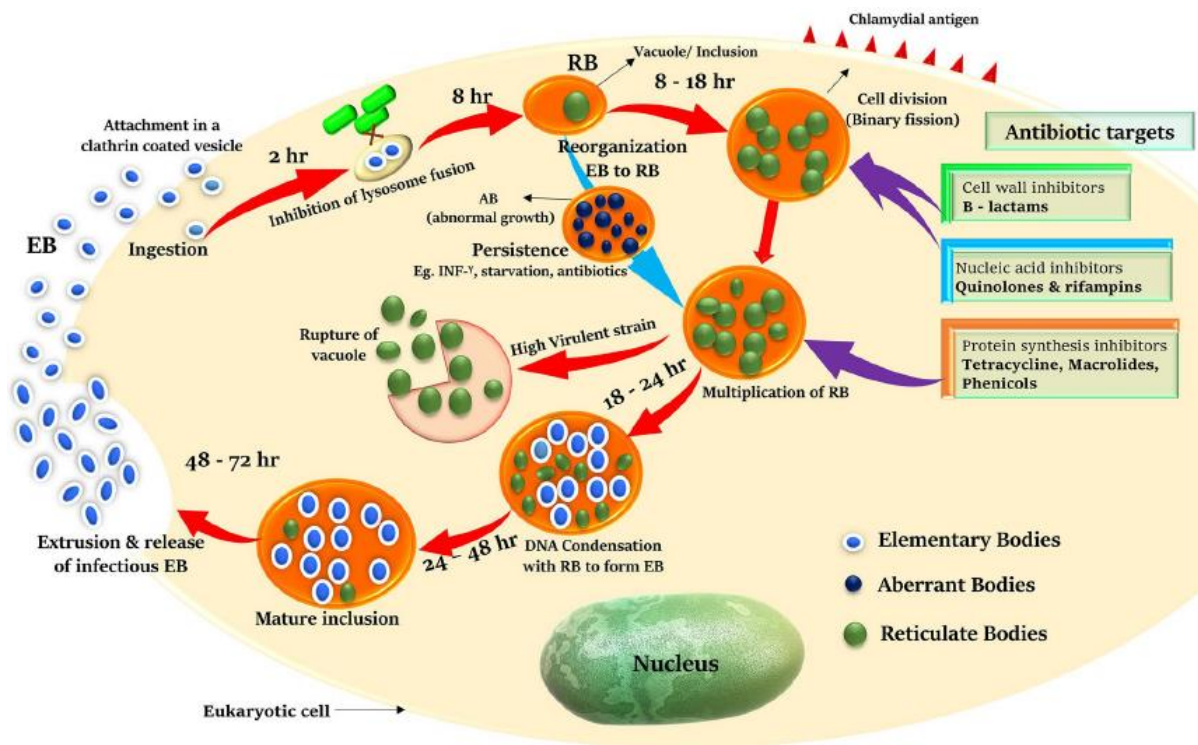
Frente a condiciones adversas o factores de estrés, como la presencia de citoquinas inflamatorias, antibióticos, o falta de nutrientes, la bacteria puede adoptar una morfología intracelular reversible, metabólicamente inactiva, denominada cuerpos aberrantes o cuerpos reticulares aberrantes (CRa o AB) (Goellner et al., 2006). Estas estructuras, de mayor tamaño al de los CR, son viables pero no cultivables, y se asocian con el fenómeno de persistencia, considerado un factor clave en la patogenicidad de la familia y en el establecimiento de infecciones crónicas. Cuando las condiciones vuelven a ser favorables, los cuerpos aberrantes pueden reconvertirse en CR normales, reanudando el ciclo completo de desarrollo (Goellner et al., 2006; Knittler & Sachse 2015; Sachse, Laroucau et al., 2015; Vanrompay, 2020).



**Figura 1.** Cultivo celular *Buffalo green monkey* (BGM), 18hs después de la inoculación con una cepa de *Chlamydia psittaci*. Se observa la inclusión vacuolar cerca del núcleo de la célula huésped (N), con dos cuerpos reticulados (RB) en distintas etapas de división. Extraído de Vanrompay, 2020.



**Figura 2.** Cultivo celular BGM, 52hs posteriores a la inoculación de una cepa de *Chlamydia psittaci*. Se observa la inclusión vacuolar ocupando gran parte de la célula huésped, con las mitocondrias bordeando a la misma (M) y cuerpos elementales (EB) aparentemente “escapando” de esta. Extraído de Vanrompay, 2020.



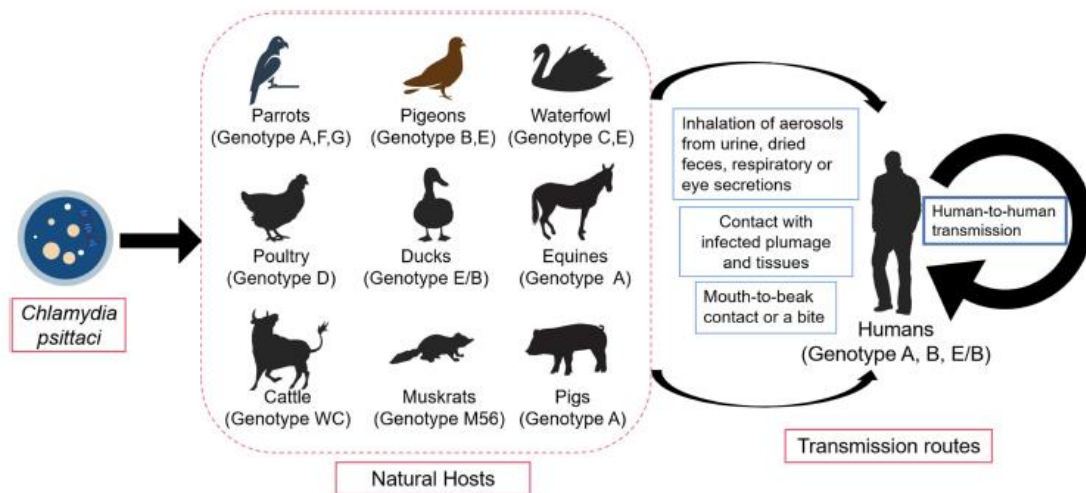
**Figura 3.** Representación esquemática del ciclo de vida de *Chlamydia psittaci*. Se muestran los CE (EB) como la forma infectante, los CR (RB) dentro de la inclusión citoplasmática, responsables de la replicación, y formas de persistencia (AB) frente a diversas situaciones adversas. Se mencionan además algunos factores de virulencia, como la inhibición de la fusión de los lisosomas de la célula huésped, y algunos blancos de la antibioticoterapia disponible. Extraído y adaptado de Ravichandran et al., 2021.

#### 4.1.3. Genotipos y variabilidad

*Chlamydia psittaci* presenta una notable variabilidad genética y fenotípica (Sachse, Laroucau et al., 2015). A partir del análisis del gen *ompA*, que codifica la proteína principal de la membrana externa (MOMP, por sus siglas en inglés), se han establecido diversos genotipos que muestran preferencia por determinados hospedadores y diferencias en su virulencia (Knittler & Sachse, 2015; Vanrompay, 2020). Inicialmente se describieron nueve genotipos: siete asociados a aves (A–F y E/B) y dos a mamíferos (WC y M56) (Andersen, 1991; Geens et al., 2005; Vanrompay, 2020; Vanrompay et al., 1997) (Figura 4). Sin embargo, dado que numerosas cepas aisladas no se ajustaban a esta clasificación, se propusieron posteriormente genotipos adicionales mediante distintas técnicas moleculares (Sachse et al., 2008; Stokes et al., 2021).

El genotipo A se considera endémico en aves psitácidas (Psittacidae) y altamente virulento, aunque también ha sido detectado en pavos, patos, palomas y paseriformes. El genotipo B, generalmente menos virulento, se asocia principalmente a palomas (Columbiformes), pero puede infectar también pollos, pavos, patos, psitácidas y paseriformes. El genotipo C se encuentra en aves acuáticas, como patos

y gansos (Anseriformes), además de en pollos y palomas. El genotipo D se relaciona con mayor frecuencia con pavos, aunque también ha sido aislado en palomas y, más recientemente, en pollos (Dickx et al., 2010). El genotipo E —también denominado Cal-10, MP o MN— ha sido identificado en diversas especies de aves, incluyendo pavos, palomas, patos, avestruces y ñandúes, y fue aislado en humanos durante un brote de neumonía en la década de 1930. El genotipo F se encuentra representado por aislamientos procedentes de aves psitácidas, aunque en 2001 fue identificado además en una granja de pavos en Bélgica (Van Loock et al., 2005). El genotipo E/B se presenta con mayor frecuencia en patos, pero también ha sido hallado en loros (Harkinezhad et al., 2007), pavos (Van Droogenbroeck et al., 2009) y palomas (Geigenfeind et al., 2012). El genotipo M56 fue aislado a partir de roedores y liebres (Spalatin et al., 1971), aunque Stalder y colaboradores (2020) encontraron este genotipo en aves rapaces. Finalmente, el genotipo WC se identificó en bovinos (Knittler & Sachse, 2015; Pannekoek et al., 2010). Todos los genotipos se consideran potencialmente transmisibles al ser humano (Knittler & Sachse, 2015; Sachse, Laroucau et al., 2015; Stokes et al., 2021; Vanrompay, 2020).



**Figura 4.** Huéspedes de *C. psittaci* y posibles rutas de transmisión al ser humano. Extraído de Wang et al., 2024.

#### 4.1.4. Epidemiología y transmisión

*Chlamydia psittaci* presenta una amplia distribución geográfica, con registros de animales infectados en Europa, América, Asia, Oceanía y, en menor medida, África (Knittler & Sachse, 2015; Stokes et al., 2021; Wang et al., 2024). Inicialmente, esta bacteria se asociaba principalmente a aves psitácidas; sin embargo, con el avance de las investigaciones, se amplió considerablemente el espectro de hospedadores conocidos. En la actualidad, se reconoce su presencia no solo en aves, sino también en reptiles y en varias especies de mamíferos, adquiriendo así relevancia tanto en salud pública, por su carácter zoonótico, como en el ámbito productivo (Harkinezhad et al., 2009; Inchuai et al., 2021; Knittler & Sachse, 2015).

A lo largo del tiempo se fueron documentando aislamientos en pavos, palomas, patos y pollos, muchos de ellos vinculados a casos de zoonosis y con impacto directo en la industria avícola. En este contexto, *C. psittaci* se considera endémica en la producción de pavos en Estados Unidos y Bélgica (Harkinezhad et al., 2009; Van Loock et al., 2005), donde ocasiona signos respiratorios leves y reducción en el consumo alimenticio, con baja mortalidad, sin alcanzar la magnitud de los brotes registrados en la primera mitad del siglo XX (Sachse, Laroucau et al., 2015).

Hasta la fecha, *C. psittaci* ha sido detectada en al menos 477 especies de aves pertenecientes a 30 órdenes distintos (Chahota et al., 2006; Kaleta & Taday, 2003), incluyendo aves silvestres, domésticas y de compañía, siendo los Psittaciformes el grupo más representado (Chahota et al., 2006; Harkinezhad et al., 2009; Kaleta & Taday, 2003; Ravichandran et al., 2021; Sachse, Laroucau et al., 2015; Wang et al., 2024). Asimismo, se ha identificado en diversos mamíferos, como bovinos, ovinos, caprinos, porcinos, equinos y felinos, así como en fauna silvestre -incluyendo su detección reciente en un marsupial en Australia (Anstey et al., 2021)- y en animales de laboratorio (Knittler & Sachse, 2015; Wang et al., 2024).

La transmisión de *C. psittaci* ocurre predominantemente entre aves, siendo estas su huésped preferencial. También se reconoce la transmisión de aves a mamíferos, considerados hospedadores alternativos (Knittler et al., 2014), y de aves a humanos (Harkinezhad et al., 2009; Hogerwerf et al., 2020; Knittler et al., 2014). En 2017, Chan y colaboradores (2017) reportaron un posible caso de contagio desde una especie de mamífero (equino) hacia humanos. A su vez, existen algunos reportes que sugieren la transmisión entre humanos (Hogerwerf et al., 2020; Ito et al., 2002; Wallensten et al., 2014; Zhang et al., 2022).

La transmisión de *C. psittaci* ocurre principalmente entre aves infectadas y susceptibles que se encuentran en contacto cercano, a través de la inhalación de partículas infectadas presentes en material contaminado y, en menor medida, por ingestión. El agente se excreta a través de las heces, las secreciones respiratorias y las secreciones oculares. La eliminación fecal es intermitente y puede reactivarse ante factores de estrés, tales como deficiencias nutricionales, transporte, hacinamiento, reproducción, tratamientos o manipulación. El período de excreción de la bacteria varía según la virulencia de la cepa, la dosis infectante y el estado inmunitario del hospedador, pudiendo prolongarse durante meses o incluso años (Dickx & Vanrompay, 2011; Harkinezhad et al., 2009; Vanrompay, 2020; Van Wettere, 2025). Otras vías de contagio menos frecuentes incluyen la transmisión por ectoparásitos hematófagos, como piojos, ácaros y moscas, lo cual podría tener una mayor relevancia en los nidos de aves de producción. Ha sido documentada la transmisión vertical en pollos, patos, periquitos, gaviotas y gansos navales, aunque su ocurrencia es baja (Vanrompay, 2020).

Los cuerpos elementales de *C. psittaci* pueden sobrevivir en las heces y en la cama hasta treinta días; sin embargo, el agente es inactivado por la mayoría de los detergentes y desinfectantes debido a su alto contenido lipídico (Harkinezhad et al., 2009; Vanrompay, 2020).

*C. psittaci* puede transmitirse a aves domésticas o mascotas a través del contacto con aves silvestres. El agua de bebida, los hábitats acuáticos compartidos y el alimento contaminado representan fuentes potenciales de infección, por lo que deben mantenerse protegidos del acceso de aves silvestres, particularmente en las instalaciones de aves de corral. Asimismo, aves carroñeras pueden contagiarse mediante la ingestión de cadáveres infectados.

#### **4.1.5. Patogenia y manifestaciones clínicas**

En las aves, la infección por *C. psittaci* suele ser sistémica y puede manifestarse de forma inaparente a severa, con cursos tanto agudos como crónicos (Kaleta & Taday, 2003; Knittler & Sachse, 2015; Vanrompay, 2020). Se presume que la evolución y la gravedad del cuadro clínico están estrechamente vinculados con la virulencia de la cepa, la respuesta inmune del hospedador, la vía de entrada del agente y la dosis infectante (Knittler et al., 2014; Ravichandran et al., 2021). Si bien existe consenso respecto a estos factores, todavía es poco lo que se conoce sobre la interacción huésped-patógeno (Knittler et al., 2014).

La bacteria infecta inicialmente a las células epiteliales de la mucosa respiratoria y los macrófagos, a través de los cuales se cree que se disemina por sangre hacia la conjuntiva, el tracto gastrointestinal y diversos órganos como el hígado y el bazo (Beeckman & Vanrompay, 2009; Knittler & Sachse, 2015; Ravichandran et al., 2021). Las manifestaciones clínicas son inespecíficas e incluyen signos respiratorios como rinitis, tos, disnea y secreciones nasales u oculares, además de conjuntivitis, letargia, anorexia y heces de color verde-grisáceo, ocasionalmente con curso fatal (Harkinezhad et al., 2009; Sachse, Laroucau et al., 2015). La presentación clínica se asocia con condiciones de hacinamiento, sobrepoblación y estrés fisiológico (Ravichandran et al., 2021). Entre las lesiones observadas post mortem se describen hepatomegalia y esplenomegalia con hemorragias subcapsulares, así como hepatitis, saculitis y pericarditis (Knittler & Sachse, 2015; Ravichandran et al., 2021).

*C. psittaci* es capaz de establecer infecciones latentes, las cuales parecen ser considerablemente más comunes que las manifestaciones clínicas, tanto en aves como en humanos, aunque sus consecuencias aún no están claramente documentadas (Knittler et al., 2014; Sachse, Laroucau et al., 2015). Estas infecciones pueden derivar en cuadros crónicos o recurrentes, con excreción intermitente del agente (Ravichandran et al., 2021).

#### **4.1.6. Clamidiosis aviar en humanos**

También denominada ornitosis o fiebre del loro, la psitacosis en humanos constituye una importante clamidiosis de origen animal con carácter zoonótico (Knittler et al., 2014). A lo largo del siglo XX se registraron grandes epidemias, aunque en la actualidad los casos reportados corresponden, en su mayoría, a pequeños brotes y casos aislados (Hogerwerf et al., 2020; Knittler y Sachse 2015; Nieuwenhuizen et al., 2018). Aunque *Chlamydia psittaci* continúa siendo el principal agente causal de la clamidiosis aviar en humanos, la identificación de nuevas especies de *Chlamydia* con aves como sus principales huéspedes –como *C. gallinacea* y *C. avium* (Sachse et al.,

2014) y *Candidatus C. ibidis* (Vorimore et al., 2013)– sugiere una etiología más compleja para esta enfermedad (Knittler y Sachse, 2015).

Históricamente, la enfermedad se vinculó al contacto con aves psitácidas y columbiformes. Sin embargo, en los últimos años se ha reconocido su asociación con otras especies de aves, como pavos, patos y pollos, lo que refleja su estrecha relación con la industria avícola (Hogerwerf et al., 2020; Kaleta & Taday, 2003; Nieuwenhuizen et al., 2018).

La infección en humanos ocurre por contacto cercano con aves portadoras, a través de la inhalación de partículas contaminadas procedentes de heces o secreciones del tracto respiratorio (Dickx & Vanrompay, 2011; Hogerwerf et al., 2020) (Figura 4). Los principales grupos de riesgo incluyen a trabajadores del sector avícola, veterinarios y propietarios de aves de compañía (Beeckman & Vanrompay, 2009; Hogerwerf et al., 2020).

El período de incubación suele ser entre 5 y 14 días, aunque se han documentado casos con periodos más largos (Dickx & Vanrompay, 2011; OMSA, 2018; West, 2011). Los signos clínicos son predominantemente respiratorios e inespecíficos, semejantes a los de un cuadro gripal, e incluyen cefalea, mialgia, fiebre, tos y disnea (Dickx & Vanrompay, 2011; Knittler & Sachse, 2015; West, 2011). En casos avanzados puede desarrollarse neumonía, y más raramente pericarditis, endocarditis o hepatomegalia (Knittler & Sachse, 2015; OMSA, 2018).

Si bien se han registrado casos fatales, la psitacosis es fácilmente tratada con antibióticos, por lo que rara vez es mortal. Sin embargo, en ausencia de tratamiento adecuado, la infección puede evolucionar hacia formas graves con riesgo de muerte (Dickx & Vanrompay, 2011; Knittler & Sachse, 2015; Smith et al., 2011; West, 2011). A pesar de que la psitacosis puede generar una neumonía adquirida en la comunidad (CAP, por sus siglas en inglés), *Chlamydia psittaci* no suele considerarse en las rutinas diagnósticas de pacientes con neumonía (salvo que se conozca un antecedente de contacto con aves psitácidas) y los signos son inespecíficos. Esto contribuye a que el diagnóstico sea en general tardío y a que la enfermedad esté probablemente subdiagnosticada y subnotificada (Hogerwerf et al., 2020; Knittler & Sachse, 2015; Nieuwenhuizen et al., 2018; Senn & Greub, 2008).

#### **4.2. Herramientas diagnósticas en aves**

El diagnóstico de *Chlamydia psittaci* en aves constituye un componente crítico tanto para la medicina veterinaria como para la salud pública, debido a la naturaleza zoonótica de la enfermedad y a la inespecificidad de sus signos clínicos. La identificación precisa del agente es especialmente relevante para la prevención de brotes en poblaciones de aves y para minimizar el riesgo de transmisión a humanos. Existen diversos métodos para el diagnóstico de *C. psittaci* que se agrupan en dos enfoques principales, la detección directa del agente en muestras de tejidos, secreciones o excreciones, y el análisis serológico de sangre para identificar anticuerpos anti-clamidiales (Sachse et al., 2009). Históricamente, los diagnósticos se han establecido con base en la presentación clínica y las pruebas serológicas, las cuales carecen de especificidad y pueden ser difíciles de interpretar (Balsamo et al.,

2017). Actualmente la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) recomienda las pruebas de amplificación de ácido nucleico como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional y en tiempo real, la detección basada en microchips de ADN y la secuenciación de ADN. Otras herramientas diagnósticas que se pueden utilizar en caso de no disponer de pruebas de amplificación de ácido nucleico comprenden el aislamiento, la tinción citológica de frotis de exudados o heces y frotis de impresión de tejidos, así como la tinción inmunohistoquímica de preparaciones citológicas e histológicas, y el enzimoimmunoanálisis (ELISA) por captura de antígeno (OMSA, 2018).

Si bien Andersen (1996) reporta que las muestras de hisopados faríngeos son las de mayor sensibilidad para el aislamiento, Soon y colaboradores (2025) describen que los hisopados cloacales y las muestras de materia fecal suelen ser las muestras de elección para el diagnóstico. Para lograr una mayor precisión recomiendan tomar muestras tanto del tracto respiratorio como gastrointestinal (Soon et al., 2025). Por otro lado, en casos agudos es posible extraer muestras de exudados, secreciones, frotis por impronta de hígado, sangre entera y muestras de tejido de pulmón y bazo (OMSA, 2018).

#### **4.2.1. Pruebas serológicas**

El diagnóstico serológico incluye métodos como la aglutinación de cuerpos elementales (CE), la prueba ELISA de anticuerpos (detecta IgA, IgG e IgM), la fijación modificada del complemento y la inmunofluorescencia directa e indirecta (Ravichandran et al., 2021).

Según Vanrompay (2020), la serología por sí sola no es particularmente útil para diagnosticar una infección por clamidia en aves debido a su alta prevalencia y a la persistencia a largo plazo (hasta varios meses) de anticuerpos anticlamidiales. Por lo tanto, para determinar si una sola ave está infectada, la serología siempre debe utilizarse junto con la detección de antígenos o genes, o bien, deben analizarse sueros pareados.

#### **4.2.2. Identificación del agente**

##### **4.2.2.1. Aislamiento**

Antiguamente la técnica “*gold standard*” para la identificación de *C. psittaci* era el aislamiento *in vitro* en el saco vitelino de huevos embrionados o en cultivos celulares en monocapas de células de ratón, mono o humanos (Everett, 2000). Debido a su potencial riesgo zoonótico para el personal de laboratorio, el tiempo requerido, las exigencias relacionadas a la bioseguridad de las instalaciones, así como al desarrollo de pruebas diagnósticas basadas en la detección de ADN, el aislamiento del organismo ya no se recomienda para el diagnóstico (Balsamo et al., 2017; Ravichandran et al., 2021).

#### 4.2.2.2. Tinción citológica

*C. psittaci* puede detectarse en frotis de hisopados cloacales y/o conjuntivales, así como en frotis de impresión de tejidos (pulmón, hígado, bazo, riñón y sacos aéreos) mediante tinciones citológicas como las de Giemsa, Giménez, Giménez modificada, Ziehl-Neelsen y Macchiavello (Campbell, 2015). Sin embargo, ninguna de estas tinciones detecta específicamente la bacteria. Todas ellas son menos sensibles que los métodos de detección de antígenos basados en anticuerpos o las pruebas de amplificación de ácido nucleico específicas. Por lo tanto, el uso de la tinción citológica está perdiendo popularidad (Vanrompay, 2020).

#### 4.2.2.3. Detección de antígeno

La inmunohistoquímica (IHQ) y el ELISA por captura de antígeno son dos de los métodos recomendados por la OMSA para el diagnóstico de *C. psittaci* cuando las pruebas de amplificación de ácido nucleico no están disponibles. La inmunohistoquímica se utiliza como método para detectar Chlamydiae en preparaciones citológicas e histológicas. Tiene la ventaja de ser más sensible que la tinción citológica, pero pueden producirse reacciones cruzadas con algunas bacterias y hongos. Esta técnica permite estudios retrospectivos cuando se conservan tejidos que han sido fijados con formalina. Mediante marcadores inmunohistoquímicos, los diversos antígenos de *C. psittaci* puede detectarse en hígado, bazo, pulmón, intestino, saco aéreo, glándula suprarrenal, médula ósea, conjuntiva y endotelio capilar de numerosos órganos y tejidos, así como en macrófagos en zonas de inflamación (Andersen & Franson, 2008; Vanrompay, 2020).

Por su parte, las pruebas de ELISA detectan todas las especies de Chlamydiaceae, ya que están diseñadas para detectar el antígeno del lipopolisacárido (LPS) (Andersen & Vanrompay, 2000). Han sido ampliamente introducidas en formato de kits comerciales para el diagnóstico de psitacosis humana, y aunque fueron probados varios de estos kits para la detección de clamidiosis en aves (Vanrompay et al., 1994), ninguno ha sido oficialmente autorizado para la detección de *C. psittaci* (Vanrompay, 2020).

#### 4.2.2.4. Métodos moleculares

Los métodos moleculares son actualmente los más sensibles para detectar *C. psittaci* en aves (Soon et al., 2025). Dentro de ellos, múltiples técnicas han sido utilizadas, como la PCR convencional, PCR en tiempo real y microchips de ADN (OMSA, 2018). Los microchips o *arrays* de ADN son una serie de sondas de ADN unidas a un soporte sólido en una disposición regular y prefijada. El ácido nucleico diana puede ser ADN o ARN y previamente a la hibridación debe ser marcado con una sustancia fluorescente o radiactiva (Doménech-Sánchez & Vila, 2004). La principal ventaja con respecto a otras técnicas de biología molecular, como la reacción en cadena de la polimerasa, es que permite que las muestras de ADN sean examinadas simultáneamente por un gran número de sondas, que pueden derivarse de un segmento genético polimórfico y/o de diferentes regiones genómicas (Sachse et al., 2009).

Las posibilidades de detección rápida y específica de *Chlamydia spp.* han mejorado considerablemente desde la introducción de métodos moleculares, en particular la PCR. Este método permite la diferenciación basada en ADN entre especies individuales y la identificación directa del agente a partir de muestras clínicas (Sachse et al., 2009). La PCR presenta la ventaja de ofrecer resultados en un corto período de tiempo, permite la genotipificación, y se encuentra disponible en numerosos laboratorios (Balsamo et al., 2017; Santos et al., 2023). A su vez, las técnicas de PCR han reemplazado al aislamiento debido al menor riesgo que supone para el personal de laboratorio y por su mayor sensibilidad (OMSA, 2018). Cabe destacar que, mientras la PCR convencional solo puede confirmar la presencia o ausencia de un patógeno determinado, la PCR en tiempo real permite además cuantificar el agente presente en la muestra. Otra ventaja es que la PCR en tiempo real no requiere manipulación de la muestra luego de realizada la técnica, lo que evita la posible contaminación del producto de PCR y permite ensayos más rápidos y de alto rendimiento (Sachse et al., 2009).

La OMSA (2018) recomienda una estrategia diagnóstica para *C. psittaci* con un enfoque jerárquico, el cual implica un primer procesamiento de las muestras mediante una PCR específica de género, seguido de una PCR para *C. psittaci*. Dicho enfoque puede permitir la detección de otras especies de *Chlamydia* circulantes en aves (Soon et al., 2025).

Según Soon et al. (2025) las secuencias más utilizadas para el diagnóstico de *C. psittaci* son *ompA* (proteína principal de membrana externa), *ompB* (proteína principal de membrana externa B), *pmp* (proteína putativa de membrana externa), *rnpB* (gen de ARN RNasa P), *incA* (proteína de membrana de inclusión), *ITS*, *Cpsit\_0607* (proteína A hipotética), ARNr 16S, ARNr 23S e IGS-23S ARNr (espaciador intergénico ARNr 16S-ARNr 23S junto con el dominio I del ARNr 23S). Dentro de ellos, *ompA* es el gen más utilizado cuando el diagnóstico se realiza mediante una sola secuencia objetivo. La combinación más común con dos genes de detección es ARNr 23S y *ompA*, y con tres genes de detección es ARNr 16S, ARNr 23S y *ompA* (Soon et al., 2025).

El gen *ompA* codifica la proteína principal de membrana externa (MOMP) y contiene cuatro dominios variables (VD), cada uno delimitado por regiones conservadas. Mientras que las regiones conservadas contienen los determinantes antigénicos específicos de género y especie, los segmentos específicos de serovar se localizan en los dominios variables, principalmente VD2 y VD4. Esta estructura primaria heterogénea convierte al gen *ompA* en una diana ideal para la PCR diagnóstica, así como para ensayos de diferenciación intraespecie (Sachse et al., 2009).

### **4.3. Diagnóstico en humanos**

El diagnóstico de la psitacosis humana se basa principalmente en una combinación de la historia clínica del paciente, pruebas serológicas, pruebas de amplificación de ácido nucleico y técnicas de imagen, como la radiografía de tórax o tomografía computarizada (Khadka et al., 2022). A nivel mundial, la psitacosis se ha diagnosticado con mayor frecuencia mediante serología. Sin embargo, las pruebas

serológicas de *C. psittaci* muestran reacción cruzada con otras especies de clamidias, por lo que su especificidad es variable (Balsamo et al., 2017; Rybarczyk et al., 2020; Wong et al., 1994). Por su parte, el uso de las pruebas de amplificación de ácido nucleico para el diagnóstico de psitacosis ha ido en aumento debido a que su sensibilidad y especificidad son mayores que la serología en la fase aguda de la enfermedad y permiten una rápida identificación del agente (Rybarczyk et al., 2020). Es por esto que uno de los métodos de diagnóstico más utilizado consiste en combinar pruebas serológicas con pruebas de amplificación del ácido nucleico (Hogerwerf et al., 2020; Nieuwenhuizen et al., 2018).

#### **4.4. Tratamiento**

El tratamiento de la clamidiosis aviar se ha mantenido incambiado a lo largo de los años y consiste en la terapia antimicrobiana. Los antibióticos de elección son algunos de los pertenecientes a la familia de las tetraciclinas (doxiciclina, clortetraciclina, oxitetraciclina) y de las fluoroquinolonas (enrofloxacin), aunque algunos países han prohibido el uso de este último en aves de corral debido al riesgo de generar resistencia antimicrobiana en familias de antibióticos que son de uso humano (Vanrompay, 2020). El tratamiento habitualmente se realiza durante períodos prolongados que van desde los 21-45 días (Ravichandran et al., 2021). El mismo puede ser administrado vía oral (con el alimento o agua de bebida) o parenteral (subcutáneo o intramuscular) (Flammer, 1989).

Al igual que en las aves, el tratamiento en humanos consiste en la terapia antimicrobiana, aunque se deben tener en cuenta algunas consideraciones. Las tetraciclinas son las drogas de elección, pudiendo administrarse vía oral para los casos de infecciones moderadas y vía intravenosa en los casos de infecciones severas (Balsamo et al., 2017). Como alternativa pueden utilizarse las fluoroquinolonas como la moxifloxacin o levofloxacin (Shi et al., 2021). En el caso de mujeres embarazadas y niños las mismas están contraindicadas, cuya alternativa es el uso de los macrólidos como la eritromicina o azitromicina (Ravichandran et al., 2021; Stewardson & Grayson., 2010). Según Rybarczyk y colaboradores (2020), con un tratamiento antibiótico adecuado, el porcentaje de muerte por infección por *C. psittaci* es inferior al 1%, aumentando hasta un 10-20% en aquellas infecciones sin tratamiento.

Se puede esperar una respuesta al tratamiento en 1 o 2 días, pero el mismo debe continuarse durante al menos 14 días (Rybarczyk et al., 2020).

#### **4.5. Control y prevención**

Para prevenir la transmisión de *C. psittaci*, se recomiendan una serie de acciones que pueden ser útiles para individuos con mayor riesgo de contraer la enfermedad como aquellos que permanecen en contacto directo con aves, ya sean, médicos veterinarios, trabajadores de la industria avícola, empleados de tiendas de mascotas, zoológicos, centros de recepción de fauna silvestre y propietarios de aves de compañía (Hulin et al., 2015; Sheleby-Elías et al., 2013).

Balsamo y colaboradores (2017) publicaron un compendio con recomendaciones específicas para el control de la infección por *Chlamydia psittaci*. Dichas medidas incluyen: (1) realizar una cuarentena mínima de 30 días a las aves recién adquiridas o expuestas, y mantener el aislamiento físico respecto de aquellas enfermas; (2) utilizar desinfectantes en todas las superficies, dado que *C. psittaci* es sensible a numerosos desinfectantes y detergentes, aunque presenta resistencia a ácidos y álcalis. Su infectividad se inactiva rápidamente mediante la exposición a compuestos de amonio cuaternario y disolventes lipídicos como el cloruro de benzalconio, la solución de yodo alcohólico y el etanol al 70%, o el peróxido de hidrógeno al 3% (Vanrompay, 2020); (3) promover la educación de las personas en riesgo y de los profesionales sobre la enfermedad; (4) reducir el riesgo de infección en humanos durante el manejo de aves enfermas o expuestas mediante el uso de elementos de protección personal (tapabocas, guantes, mameluco, gafas y cubrezapatos); (5) evitar la mezcla de aves de distintos orígenes; (6) realizar pruebas diagnósticas en aves que mantienen contacto frecuente con la población; (7) conservar registros precisos de todos los movimientos de aves durante al menos un año, a fin de facilitar la identificación de posibles fuentes de infección y personas expuestas; (8) adoptar prácticas preventivas adecuadas en la cría y manejo de aves para minimizar el riesgo de transmisión; y finalmente, (9) abstenerse de adquirir o comercializar aves que presenten signos compatibles con clamidiosis aviar.

Por otra parte, si bien la vacunación es una de las prácticas más utilizadas como medida preventiva de enfermedades infecciosas, actualmente no existe una vacuna comercial para aves contra *C. psittaci*. Sin embargo, el desarrollo de una vacuna eficaz continúa siendo una línea activa de trabajo en diversos grupos de investigación (Balsamo et al., 2017; Ravichandran et al., 2021; Vanrompay, 2020).

#### **4.6. Situación epidemiológica**

La psitacosis es una enfermedad zoonótica reconocida desde hace más de un siglo. Su primer registro se remonta a 1879, cuando Ritter, un médico suizo, describió un brote de neumonía atípica en siete personas tras la exposición a aves tropicales (Harkinezhad et al., 2009). Años más tarde, durante el invierno de 1929-1930, se produjo una pandemia de psitacosis humana en Estados Unidos y Europa, atribuida a la importación de loros amazónicos (*Amazona aestiva*) provenientes de Argentina (Harkinezhad et al., 2009; Macfarlane & Macrae, 1983). Desde entonces se han reportado casos de psitacosis humana asociada a contacto con psitácidos, aves silvestres, patos, pavos, gallinas y palomas en diversos países como Argentina (Cadario et al., 2017), Francia (Laroucau et al., 2009), Alemania (Gaede et al., 2008), Bélgica (Verminnen et al., 2008), Suecia (Rehn et al., 2013) y Japón (Kaibu et al., 2006; Matsui et al., 2008), entre otros.

En la región, los reportes de psitacosis humana son escasos; sin embargo, esto no refleja necesariamente una baja incidencia. Esta situación se debe, por un lado, a que en muchos países la enfermedad no es de notificación obligatoria ante las autoridades sanitarias, y por otro, al frecuente subdiagnóstico que presenta (Harkinezhad et al., 2009; Stokes et al., 2021).

En Argentina, donde sí se exige su notificación, se registraron 194 casos entre 2020 y 2024, de los cuales 32 fueron confirmados. En el transcurso de 2025, se notificaron 520 casos, confirmándose 99 de ellos (Ministerio de Salud de Argentina, 2025). En Brasil, por su parte, no existen reportes oficiales centralizados sobre la prevalencia de *Chlamydia psittaci* en humanos, pero sí hay estudios que demuestran su circulación en aves del país (Santos et al., 2014; Vilela et al., 2019).

En cuanto a la situación en Uruguay, se han registrado casos humanos en los últimos años (Díaz et al., 1995); sin embargo, estos no figuran oficialmente debido a que la enfermedad no es de denuncia obligatoria ante el Ministerio de Salud Pública (MSP). En marzo de 2022 se reportó en la prensa local un caso de psitacosis en la ciudad de Salto, y previamente, en 2018, el MSP emitió un comunicado alertando a la población por “un incremento de casos de una enfermedad denominada psitacosis” (Ministerio de Salud Pública, 2018). Si bien el número de reportes en humanos no ha sido elevado, la enfermedad continúa registrándose de forma persistente año tras año.

Con el propósito de estudiar la presencia de la bacteria en las aves, se han llevado a cabo en la última década diversos estudios en busca de *C. psittaci*. En la Tabla 1 se muestran diversos reportes de ocurrencia mundial de *C. psittaci* en aves psitácidas. Las ocurrencias reportadas mostraron una gran variabilidad: desde un 81,8% en psitácidos de un centro de recepción de fauna silvestre en Colombia (Ruiz-Laiton et al., 2022), 71.6% en loros amazónicos en un centro de rehabilitación de vida silvestre en Minas Gerais, Brasil (Vilela et al., 2019); hasta un 21,1% en psitácidos mascota en Buenos Aires, Argentina (Origlia et al., 2019), un 10,6% en aves psitácidas vendidas en tiendas de mascotas en Salvador de Bahía, Brasil (Santos et al., 2014) y 3,4% en aves de clínicas veterinarias de las ciudades de San José y Heredia, Costa Rica (Sheleby-Elías et al., 2013).

En lo que respecta a Uruguay, los estudios sobre *C. psittaci* son escasos. Se desconoce la prevalencia de la bacteria en psitácidos del país, a pesar de figurar en la lista de enfermedades de animales de denuncia obligatoria ante el Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP) (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, 2024). El primer diagnóstico de clamidiosis aviar en Uruguay fue realizado por Caffarena y su equipo en el año 1986 en un ejemplar de *Myiopsitta monachus* (cotorra argentina) en base a la presencia de síntomas, patología y estudios histopatológicos en parénquima hepático (Caffarena, 1987). Por otra parte, en 1997 se llevó a cabo un estudio serológico de *C. psittaci* en ovinos observándose que 3 de 107 ovejas procedentes de 7 establecimientos de 6 departamentos del Uruguay presentaron títulos de anticuerpos compatibles con la infección a *C. psittaci* (Freyre et al., 1997).

**Tabla 1. Ocurrencia de *C. psittaci* en aves psitácidas a nivel mundial.**

<b>País</b>	<b>Técnica diagnóstica</b>	<b>Ocurrencia (%)</b>	<b>Referencia</b>
Colombia	PCR convencional	81.8 (144/176)	Ruiz et al., 2022
EE.UU.	TC	75 (45/60)	Panigrahy et al., 1978
Brasil	PCR convencional	71.6 (152/212)	Vilela et al., 2019
Egipto	PCR convencional	52.5 (63/120)	Tolba et al., 2019
Brasil	PCR	40 (4/10)	de Freitas Raso et al., 2004
Brasil	PCR convencional	37 (22/59)	Santos et al., 2023
Brasil	IFD	35.8 (34/95)	de Freitas Raso et al., 2002
Argentina	qPCR	21.1 (19/90)	Origlia et al., 2019
EE.UU.	Cultivo	20 (58/287)	Schwartz & Fraser, 1982
China	qPCR	19.9 (27/136)	Feng et al., 2017
Brasil	PCR semi-anidada	18.2 (14/77)	de Freitas Raso et al., 2006
Brasil	PCR semi-anidada	10.6 (33/311)	Santos et al., 2014
Polonia	PCR convencional	10.3 (16/156)	Piasecki et al., 2012
Costa Rica	PCR anidada	3.4 (4/117)	Sheleby-Elias et al., 2013
Eslovenia	qPCR	2.4 (3/125)	Marhold et al., 2012
Perú	FC	0.1 (2/2407)	Karesh et al., 1997

**Nota.** FC = fijación del complemento; IFD = inmunofluorescencia directa; TC = tinción citológica; qPCR = reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa. *Adaptado de Ruiz-Laiton, 2020; Sukon et al., 2021.*

## **5. HIPÓTESIS**

Existe circulación de *Chlamydia psittaci* en aves psitácidas dentro del territorio uruguayo. Dicha circulación puede ser detectada a partir de hisopados cloacales, hisopados orofaríngeos y materia fecal mediante la amplificación del gen *ompA* con PCR convencional.

## 6. OBJETIVOS

### 6.1. Objetivo general

Estandarizar e implementar una técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de *Chlamydia psittaci*, y aplicarla al análisis de muestras biológicas de aves en distintas condiciones de cautiverio.

### 6.2. Objetivos específicos

1. Estandarizar la amplificación del gen *ompA Chlamydia psittaci* mediante la técnica de PCR, utilizando ADN genómico control como referencia.

2. Obtener muestras de hisopado cloacal, orofaríngeo y de materia fecal de aves pertenecientes a la familia Psittacidae residentes de bioparques, aves custodiadas por el Ministerio de Ambiente, y aves atendidas en la Policlínica de Fauna Silvestre y Mascotas No Tradicionales de la Facultad de Veterinaria.

3. Extraer ADN genómico de calidad a partir de dichas muestras.

4. Comprobar la utilidad de la técnica de PCR para detectar *Chlamydia psittaci* a partir del ADN genómico obtenido de las muestras.

## **7. METODOLOGÍA**

### **7.1. Aspectos éticos**

El presente trabajo contempló lo estipulado en la Ley N° 18.611 de 2009 y se realizó con el aval de la Comisión de Ética en el Uso de Animales (CEUA), bajo el protocolo N° 1785.

### **7.2. Población de estudio**

Se obtuvieron un total de 77 muestras provenientes de aves de la familia Psittacidae mantenidas en distintos contextos de cautiverio, recolectadas entre los años 2022 y 2024. De la totalidad de muestras, 19 correspondieron a aves de compañía atendidas en la Policlínica de Fauna Silvestre y Mascotas No Tradicionales de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República, 20 a ejemplares alojados en el Zoológico de Villa Dolores del Sistema Departamental de Zoológicos de Montevideo (SDZM), 4 a aves residentes del Parque Nacional Santa Teresa y 34 a aves decomisadas por el Ministerio de Ambiente (MA) de tráfico ilegal de fauna.

### **7.3. Toma de muestras**

La toma de muestras de hisopados cloacales e hisopados orofaríngeos se realizó mediante una inmovilización física de las aves, posterior a su captura, siguiendo las recomendaciones de Fowler (2008). Los individuos fueron capturados y sujetos por la cabeza y extremidades posteriores, extendiendo el procedimiento el mínimo tiempo necesario de manera de minimizar el estrés. Para la obtención del hisopado cloacal, la cloaca fue expuesta y se introdujo un hisopo estéril, previamente humedecido en solución salina tamponada con fosfato (PBS) 1X, mediante movimientos rotatorios suaves. En el caso del hisopado orofaríngeo, se mantuvo el pico abierto mediante técnicas manuales y se introdujo el hisopo húmedo en la cavidad orofaríngea, asegurando el contacto con la mucosa.

Las muestras de material fecal fueron obtenidas del recinto individual o colectivo de los ejemplares, según correspondiera, sin necesidad de manipulación del animal. En todos los casos, la persona encargada de la toma de muestras utilizó equipo de protección personal (EPP), que consistió en guantes, mascarilla y túnica, durante el manejo del ave y la recolección de la muestra.

Una vez obtenida la muestra, los hisopos y la materia fecal fueron colocados en tubos Eppendorf con medio de transporte PBS 1X, debidamente identificados. Todas las muestras fueron almacenadas a -20°C hasta su procesamiento.

### **7.4. Estandarización de la PCR convencional para la identificación de Chlamydiaceae**

Inicialmente se procuró la estandarización de la PCR que identifica a los géneros pertenecientes a la familia Chlamydiaceae. Para ello se utilizaron como controles positivos ADN<sub>g</sub> de *C. psittaci* y ADN<sub>g</sub> de *Chlamydia abortus*, ambos cedidos por la Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du

Travail (Francia). Se emplearon los cebadores FW (5'-GAAAAGAACCCTTGTTAAGGGAG-3') y RV (5'-CTTAACCTCCCTGGCTCATCATG-3') descritos por Everett et al., (1999), los cuales amplifican un fragmento de 132 pb del gen ARNr 23S y son específicos para Chlamydiaceae. Para la reacción de PCR se utilizaron 12,5 µL de Master Mix (NZYtech), 1,25 µL de cada cebador [0,5 µM], 9 µL de agua y 1 µL de ADN genómico, para un volumen final de 25 µL. La amplificación se llevó a cabo en el termociclador Bio-Rad (C1000 touch cycler; Hercules, CA, EE.UU.) utilizando el siguiente ciclado: desnaturalización inicial a 98°C durante 30 segundos, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 98°C durante 10 segundos, hibridación a 63.3°C durante 30 segundos y extensión a 72°C durante 10 segundos, terminando con una extensión final a 72°C por 5 minutos.

Los productos de PCR se visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa (2%) con buffer TAE 1X, teñidos con GoodView™ (Beijing SBS Genetech Co., Ltd), a 100 V durante 23 minutos. Como marcador de peso molecular se utilizó HyperLadder™ 100 pb (Bioline).

### **7.5. Estandarización de la PCR convencional para la identificación de *Chlamydia psittaci* mediante el gen *ompA***

El siguiente paso fue la estandarización de la PCR que identifica a *C. psittaci* mediante la amplificación de un fragmento del gen *ompA*. Para esto se utilizó el ADNg de *C. psittaci* y ADNg de *C. abortus* mencionados anteriormente. Debido al alto porcentaje de identidad que presentan estas especies en este gen, se empleó el cebador ompA-F (5'-ATGAAAAGAAATACCTAAGCG-3'), conservado para ambas especies, y los cebadores ompA-RPsi (5'-CCCTCTATGTACAGTGTCAT-3') específico para *C. psittaci* y ompA-RAbo (5'-CCCTCTATATACAGTGTTGC-3') específico para *C. abortus*, todos ellos descritos por Ruiz-Laiton et al., (2022).

En la PCR que identifica a *Chlamydia psittaci* se utilizó como control positivo ADNg de *C. psittaci* y como control negativo ADNg de *C. abortus*. Por otra parte, para la PCR que identifica a *C. abortus* se utilizó como control positivo ADNg de *C. abortus* y control negativo ADNg de *C. psittaci*. En ambos casos el amplicón esperado fue de 365 pb, identificado como *C. psittaci* o *C. abortus* dependiendo de los cebadores. En ambas PCR se utilizó un control negativo de reacción (NTC).

El objetivo principal de la puesta a punto de la PCR es optimizar las condiciones de la reacción para obtener una amplificación específica y eficiente del ADN de *Chlamydia psittaci*. Se utilizó como guía el protocolo de la PCR descrito por Ruiz-Laiton et al. (2022), con algunas modificaciones, empleando 12,5 µL de Master Mix (NZYtech), 1,25 µL de cada cebador [0,5 µM], 8 µL de agua y 2 µL de ADN genómico, para un volumen final de 25 µL. La amplificación se llevó a cabo en el termociclador Bio-Rad (C1000 touch cycler; Hercules, CA, EE.UU.). Para su estandarización se realizó un gradiente de temperatura entre 53°C a 68.1°C en la etapa de hibridación de los cebadores. El ciclado consistió en una desnaturalización inicial a 98°C durante 30 segundos, seguidos de 35 ciclos de desnaturalización a 98°C durante 10 segundos,

hibridación a 59°C durante 30 segundos y extensión a 72°C durante 20 segundos, terminando con una extensión final a 72°C por 10 minutos.

Los fragmentos amplificados fueron sometidos a electroforesis en gel de agarosa (2%) con buffer TAE 1X, teñido con GoodView™ (SBS Genetech Co., Ltd), a 100 V durante 23 minutos. Como marcador de peso molecular se utilizó HyperLadder™ 100 pb (Bioline).

#### **7.6. Extracción de ADN**

Previamente al procesamiento por PCR de las muestras obtenidas se realizó la extracción del ADN, empleando el kit comercial Quick-DNA Miniprep D3025 Zymo Research, siguiendo las indicaciones del fabricante. Todas las muestras fueron inicialmente inactivadas en el flujo laminar (cabina de bioseguridad clase II) mediante el agregado de 400 µl del buffer de lisis a 100 µl de cada una de ellas. Luego fueron homogeneizadas utilizando el agitador Vortex (FlexVortex2 Loccus) durante 4-6 segundos y se dejaron reposar 5-10 minutos a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se transfirió la mezcla a una columna Zymo-Spin™ IICR dentro de un tubo colector y se centrifugó a  $\geq 10,000 \times g$  por un minuto. El tubo colector fue descartado con el contenido. La columna Zymo-Spin™ IICR fue transferida a un nuevo tubo colector y se adicionaron 200 µl de solución buffer de pre-lavado de ADN y se centrifugó a  $\geq 10,000 \times g$  por un minuto. Posteriormente se agregaron 500 µl de buffer de lavado de ADN a la columna y se centrifugó a  $\geq 10,000 \times g$  por un minuto. El último paso consistió en transferir la columna a un tubo de microcentrífuga y agregar  $\geq 50 \mu\text{l}$  de buffer de elución de ADN. Se incubó 2-5 minutos a temperatura ambiente y se centrifugó a  $10,000 \times g$  por 30 segundos para eluir el ADN.

El ADN genómico se cuantificó empleando el espectrofotómetro NanoDrop™ One (Thermo Scientific™), mediante la relación de absorbancia 260/280 y la concentración de ADN medida en ng/µl. Los extractos de ADN fueron conservados a -20°C hasta su utilización.

#### **7.7. Procesamiento de muestras mediante PCR**

Las 77 muestras obtenidas fueron procesadas para evaluar mediante PCR la presencia o ausencia de *C. psittaci*. Para ello se realizó la extracción de ADN genómico y posterior PCR para detección del gen *ompA* específico de *C. psittaci*, como se describió anteriormente. Las muestras con un amplicón de 365 pb fueron consideradas positivas para *C. psittaci*.

#### **7.8. Secuenciación**

Fueron seleccionados 5 productos de PCR de muestras positivas a la detección del gen *ompA* específico de *C. psittaci* y enviados a MacroGen (Corea) para su secuenciación, de manera de confirmar su identidad.

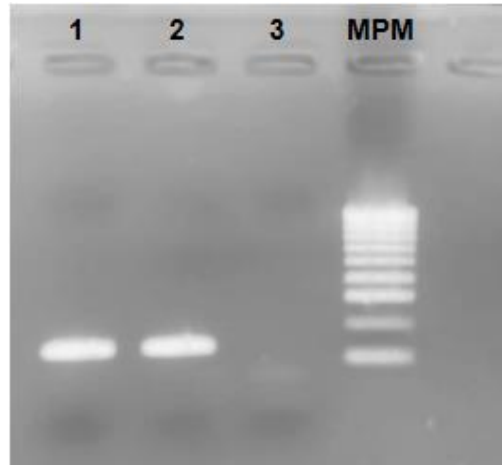
### **7.9. Análisis filogenético de *Chlamydia psittaci* basado en el gen *ompA***

Se realizaron análisis filogenéticos basados en la secuencia del gen *ompA* que codifica para la proteína principal de la membrana externa (MOMP), utilizando un amplicón de 365pb (Ruiz-Laiton et al., 2022). Varios estudios han demostrado que este gen posee gran variabilidad, siendo un adecuado marcador para clasificar los genotipos de *C. psittaci* (Frutos et al., 2015, Longbottom & Coulter, 2003; Sachse, Laroucau et al., 2015). Para ello se utilizaron un total de 29 secuencias, de las cuales 5 correspondieron a muestras positivas a *Chlamydia psittaci* y 24 fueron secuencias de referencia recuperadas de GenBank (Anexo I), representativas de cada genotipo. Las secuencias fueron alineadas utilizando el programa MUSCLE (Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation), que permite generar alineamientos múltiples de alta precisión y rendimiento (Edgar, 2004). Finalmente, se construyó un árbol filogenético utilizando el método de máxima verosimilitud, con un análisis de *bootstrapping* basado en 1000 réplicas para evaluar la robustez de las ramas filogenéticas ([https://www.ebi.ac.uk/ Tools/](https://www.ebi.ac.uk/Tools/); European Bioinformatics Institute, 2024).

## 8. RESULTADOS

### 8.1. PCR convencional para la identificación de Chlamydiaceae

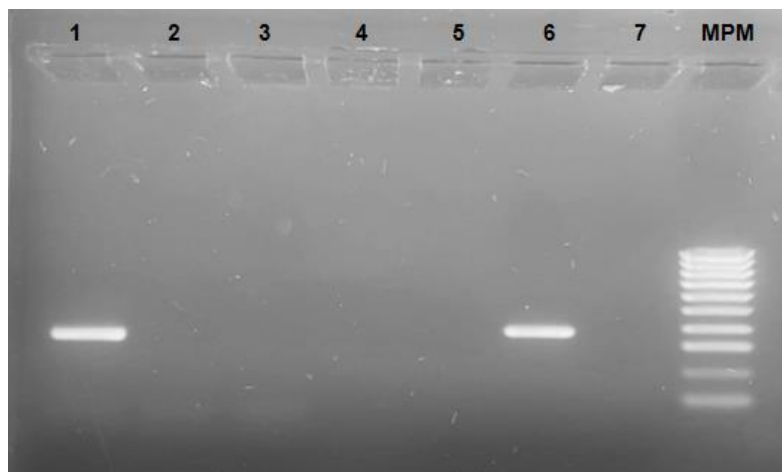
En cuanto a la estandarización de la PCR que identifica a los géneros pertenecientes a la familia Chlamydiaceae, se obtuvo una correcta amplificación del gen ARNr 23S para ambos ADN, observándose los dos fragmentos de 132 pb (Figura 5).



**Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa (2%) de los productos de PCR para detectar géneros de la familia Chlamydiaceae.** (1) ADN de *Chlamydia psittaci*; (2) ADN de *Chlamydia abortus*; (3) control negativo; MPM: marcador de peso molecular (100 pb).

### 8.2. PCR convencional para la identificación de *Chlamydia psittaci* mediante el gen *ompA*

Utilizando los cebadores descritos por Ruiz-Laiton et al., (2022) para cada especie y bajo las condiciones detalladas previamente se logró amplificar correctamente el fragmento del gen *ompA* a partir de los ADNg de *C. psittaci* y *C. abortus*, observándose el amplicón esperado de 365 pb (Figura 6).



**Figura 6. Electroforesis en gel de agarosa (2%) de los productos de PCR para detectar el gen *ompA*.** Los carriles 1, 2 y 3 corresponden a los productos de amplificación de la PCR para detectar el gen *ompA* con los cebadores específicos

para *C. psittaci*. (1) control positivo: ADN de *C. psittaci*; (2) control negativo: ADN de *C. abortus*; (3) control negativo de reacción; (4) sin muestra. Los carriles 5, 6 y 7 corresponden a los productos de PCR para detectar el gen *ompA* con los cebadores específicos de *C. abortus*. (5) control negativo: ADN de *C. psittaci*; (6) control positivo: ADN de *C. abortus*; (7) control negativo de reacción. MPM: marcador de peso molecular (100 pb).

### 8.3. Muestras obtenidas y procesamiento por PCR para detectar *Chlamydia psittaci*

Se obtuvieron un total de 77 muestras, todas de aves pertenecientes a la familia Psittacidae. Del conjunto, 19 de ellas correspondieron a aves de compañía, de las cuales 3 pertenecían a la especie *Amazona aestiva*, 2 al género *Ara spp* y 14 a individuos de la especie *Myiopsitta monachus*. Las 20 muestras provenientes del Zoológico de Villa Dolores correspondieron a ejemplares de la especie *A. aestiva*. En el Parque Nacional Santa Teresa se obtuvieron 4 muestras, pertenecientes a 3 ejemplares de la especie *A. aestiva* y 1 del género *Ara sp*. Finalmente, se recolectaron 34 muestras de aves decomisadas por el Ministerio de Ambiente: 25 de la especie *A. aestiva*, 1 identificado como *Amazona sp* y 8 del género *Ara spp* (Tabla 2).

**Tabla 2. Distribución de los géneros/especies de los ejemplares muestreados según su origen.**

Origen / Género o especie	<i>Amazona aestiva</i>	<i>Amazona sp</i>	<i>Ara spp</i>	<i>Myiopsitta monachus</i>	Nº total de muestras
Aves de compañía <sup>1</sup>	3	0	2	14	19
Zoológico de Villa Dolores	20	0	0	0	20
Parque Nacional Santa Teresa	3	0	1	0	4
Decomiso <sup>2</sup>	25	1	8	0	34
<b>Nº total de muestras</b>	<b>51</b>	<b>1</b>	<b>11</b>	<b>14</b>	<b>77</b>

<sup>1</sup>Aves de compañía atendidas en la Policlínica de Fauna Silvestre y Mascotas No Tradicionales de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República.

<sup>2</sup>Aves decomisadas por el Ministerio de Ambiente.

Se recolectaron muestras de hisopado cloacal, hisopado orofaríngeo y de materia fecal, a las cuales se les realizó la extracción de ADN según lo especificado en la sección de metodología. Se obtuvieron 19 muestras de aves de compañía, de las cuales 18 correspondieron a hisopados cloacales y 1 muestra de materia fecal individual. De las aves del Zoológico de Villa Dolores se obtuvieron 17 hisopados cloacales, 1 muestra de materia fecal proveniente de un recinto individual, y 2

muestras de materia fecal de recintos en los que había más de un individuo de la misma especie (colectivos), sumando un total de 20 muestras. Las 4 muestras provenientes del Parque Nacional Santa Teresa fueron hisopados cloacales. Por último, de las 34 muestras procedentes de decomiso por el Ministerio de Ambiente, se obtuvieron 27 hisopados cloacales, 5 hisopados orofaríngeos y 2 muestras de materia fecal (ambas de recintos colectivos) (Tabla 3).

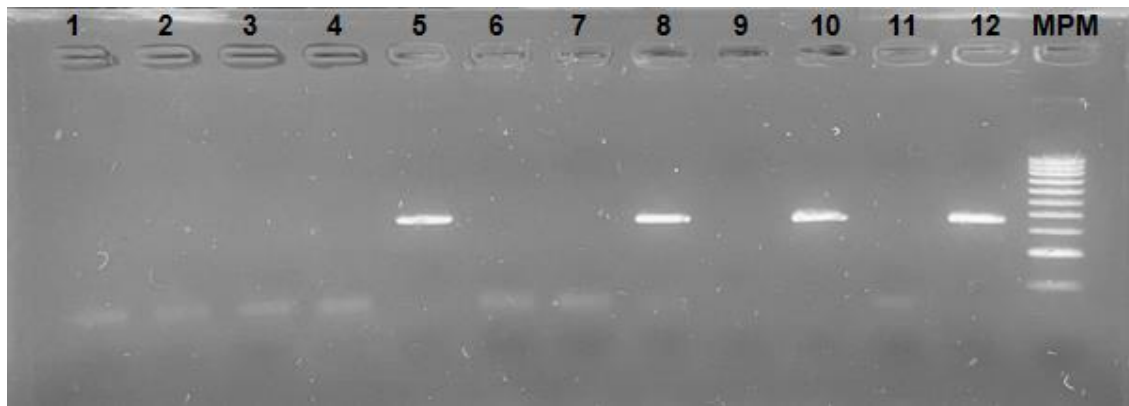
El ADN de *Chlamydia psittaci* se detectó en 12 de las 77 muestras procesadas (15.6%) (Figura 7). De las muestras positivas, 9/12 correspondieron a aves decomisadas por el Ministerio de Ambiente, todas ellas pertenecientes a la especie *Amazona aestiva*. De estos 9 positivos, 8 fueron hisopados cloacales y una muestra de materia fecal. Las 3 muestras restantes (3/12) correspondieron a hisopados cloacales de individuos mantenidos como mascotas en residencias particulares, pertenecientes a la especie *Myiopsitta monachus* (Tabla 3).

**Tabla 3. Detección de *Chlamydia psittaci* mediante PCR de las muestras obtenidas según el tipo de muestra y el origen de las aves.**

Origen	Nº de muestras	Tipo de muestra	<i>C. psittaci</i> no detectada	<i>C. psittaci</i> detectada
Aves de compañía <sup>1</sup>	19	Hisopado cloacal	15	3
		Materia fecal	1	0
Zoológico de Villa Dolores	20	Hisopado cloacal	17	0
		Materia fecal	3	0
Parque Nacional Santa Teresa	4	Hisopado cloacal	4	0
Decomiso <sup>2</sup>	34	Hisopado cloacal	19	8
		Hisopado orofaríngeo	5	0
		Materia fecal	1	1
<b>Total</b>	<b>77</b>		<b>65</b>	<b>12</b>

<sup>1</sup>Aves de compañía atendidas en la Policlínica de Fauna Silvestre y Mascotas No Tradicionales de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República.

<sup>2</sup>Aves decomisadas por el Ministerio de Ambiente.



**Figura 7. Electroforesis en gel de agarosa (2%) de los productos de PCR para detectar *C. psittaci* mediante el gen *ompA*.** Se presenta una corrida electroforética de 10 muestras procesadas. (1) (2) (3) (4) (6) (7) (9) muestras negativas a *C. psittaci*; (5) (8) (10) muestras positivas a *C. psittaci*; (11) control negativo; (12) control positivo. MPM: marcador de peso molecular (100 pb).

#### 8.4. Secuenciación

Una vez obtenidas las secuencias de nucleótidos de los productos de PCR positivos enviados a Macrogen, estas fueron alineadas mediante la herramienta BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), confirmando su identidad como *Chlamydia psittaci*.

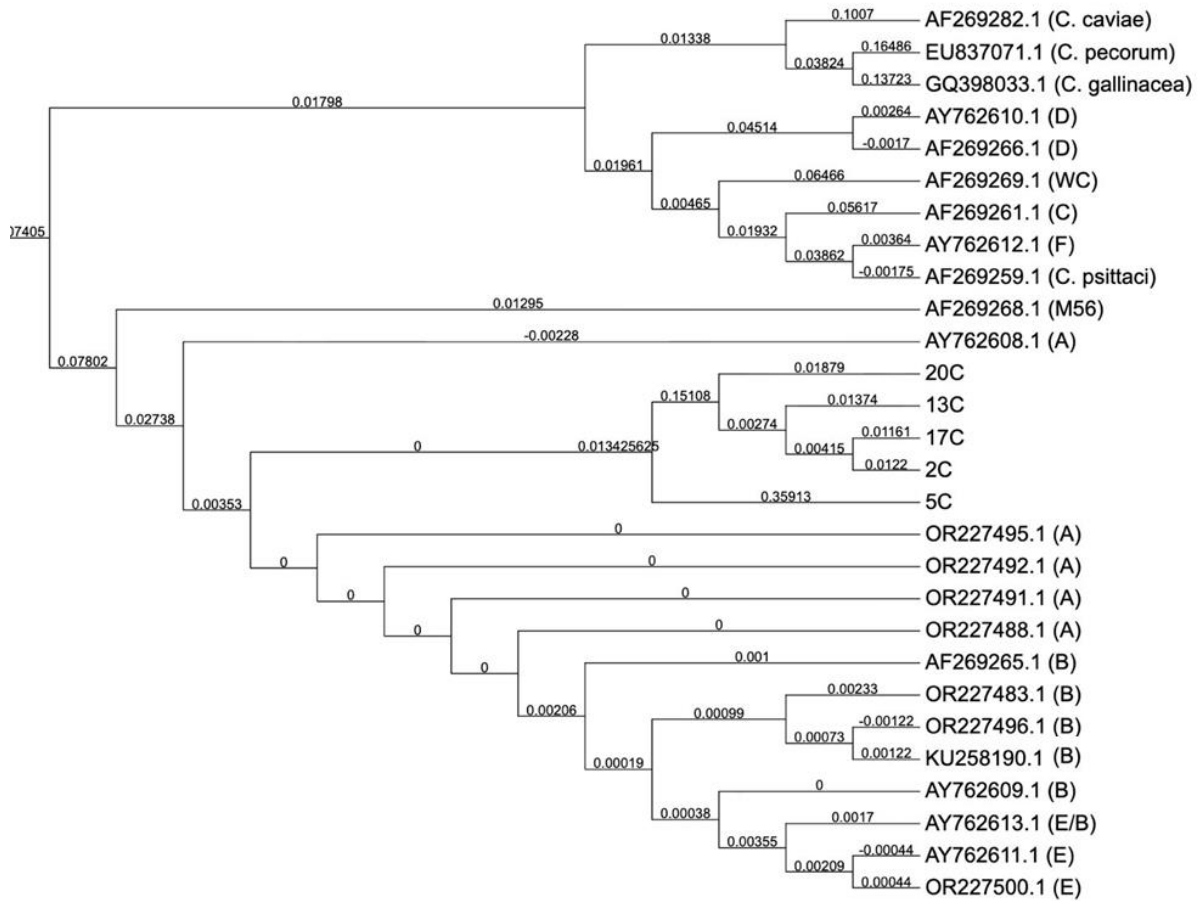
#### 8.5. Análisis filogenético de *Chlamydia psittaci* basado en el gen *ompA*

El análisis revela que las muestras 2C, 13C, 17C y 20C conforman un clado bien definido, indicando una estrecha relación evolutiva y una probable pertenencia al genotipo A, representado también por las secuencias de referencia AY762608.1, OR227495.1, OR227492.1, OR227491.1 y OR227488.1.

En contraste, la muestra 5C se agrupa en un clado separado, mostrando mayor distancia genética y una similitud con el genotipo B, junto con referencias como OR227496.1 y OR227483.1.

Además, otras secuencias de referencia que representan diferentes genotipos como C, D, E, F y WC se agrupan en clados independientes, lo que confirma la diversidad genética del conjunto analizado.

El árbol proporciona evidencia sólida para la clasificación genotípica de las muestras basándose en su proximidad filogenética a secuencias de referencia, apoyando el uso del gen *ompA* para estudios moleculares y epidemiológicos de *Chlamydia*.



**Figura 8.** Árbol filogenético construido a partir del gen *ompA*. Cepas locales (5C, 17C, 13C, 2C, 20C). Construcción mediante EMBL-EBI *Job Dispatcher sequence analysis tools*.

## 9. DISCUSIÓN

La presencia de *Chlamydia psittaci* en aves psitácidas constituye un desafío relevante para la salud animal y humana. Esto es especialmente importante en contextos donde el comercio ilegal de fauna silvestre, la tenencia de psitácidos autóctonos y exóticos como animales de compañía, y las actividades de atención y recuperación de animales rescatados convergen, generando ambientes propicios para la circulación y eventual transmisión zoonótica del agente.

En este estudio se analizaron 77 muestras provenientes de aves psitácidas, de las cuales 12 resultaron positivas a *Chlamydia psittaci* (15.6%). Este hallazgo confirma la circulación del agente en el país y constituye un antecedente relevante, dado que hasta el momento no existían registros de diagnóstico molecular de la bacteria en aves a nivel nacional. La detección de *C. psittaci* en este conjunto de muestras revela que la infección ha pasado probablemente desapercibida durante años. Esto sucede en un contexto donde la vigilancia de fauna silvestre no es sistemática y la psitacosis no suele incluirse de forma rutinaria en el diagnóstico diferencial en humanos, fenómeno que está ampliamente descrito en otros países y se asocia al subdiagnóstico de la psitacosis (Harkinezhad et al., 2009; Rybarczyk et al., 2020).

La mayoría de los individuos positivos correspondió a aves incautadas (9/12), resultado que era esperable considerando que las condiciones de hacinamiento, estrés y contacto estrecho entre ejemplares favorecen la transmisión del agente. En contraste, las tres muestras restantes (3/12) pertenecían a aves mantenidas como mascotas. Este aspecto cobra particular relevancia desde el punto de vista de la salud pública, dado que la psitacosis es una zoonosis capaz de generar cuadros respiratorios graves, incluyendo neumonía (Knittler & Sachse, 2015; Rybarczyk et al., 2020). Por ejemplo, Favier y colaboradores (2024) encontraron un 28,6% de positividad en trabajadores de reservas de Buenos Aires, que mantuvieron contacto con aves portadoras de *Chlamydia psittaci*. Durante uno de los operativos de incautación de aves de tráfico vinculados a este trabajo, algunos de los trabajadores presentaron sintomatología respiratoria compatible con la enfermedad. Asimismo, uno de los ejemplares mantenidos como mascota, una *Myiopsitta monachus* sin signos clínicos compatibles con clamidiosis aviar, pertenecía a una persona que cursó un cuadro de neumonía compatible con psitacosis, lo que refuerza la posible relación entre la infección en aves y su transmisión al ser humano y subraya nuevamente el potencial zoonótico de *C. psittaci* y la necesidad de considerar esta enfermedad dentro del diagnóstico diferencial en Uruguay.

Este punto reviste especial importancia en Uruguay, donde el tráfico ilegal de fauna continúa siendo una amenaza tanto para la conservación de la biodiversidad como para la salud pública: además del impacto directo sobre las poblaciones silvestres, estas prácticas pueden facilitar el movimiento de patógenos entre regiones y especies, aumentando el riesgo de introducción o mantenimiento de zoonosis.

Se trabajó exclusivamente con aves pertenecientes a la familia Psittacidae. Esta decisión respondió, por una parte, a la disponibilidad de ejemplares en el contexto local dado su frecuente uso como mascota; y, por otra parte, a la relevancia de este grupo como importante reservorio y fuente de infección de psitacosis para los humanos (Bello de Vasconcelos et al., 2016; Stokes et al., 2021) debido a que la infección por *C. psittaci* es particularmente común en loros en cautiverio (orden Psittaciformes), donde la prevalencia está entre el 16% y el 81% (Stokes et al., 2021). Dentro de las especies analizadas, *Amazona aestiva* tuvo una representación destacada, lo que probablemente refleje su alta frecuencia en el comercio y tráfico ilegal de fauna en la región.

Las muestras provinieron de tres orígenes distintos: aves residentes de dos bioparques (n = 24), aves provenientes de incautaciones (n = 34) y aves de compañía (n = 19). Debido a que la selección de los lugares de muestreo dependió de la disponibilidad de ejemplares en cada momento y no de un diseño sistemático, no es posible establecer conclusiones sólidas en relación con la proporción de animales muestreados según el origen o con respecto al período de tiempo.

En cuanto al tipo de muestra obtenida, se recolectaron 66 hisopados cloacales (HC), 5 hisopados orofaríngeos (HOF) y 6 muestras de materia fecal (MF). Los hisopados cloacales son el tipo de muestra más utilizado en el diagnóstico de *C. psittaci* (Soon et al., 2025), debido a que el agente infecta el tracto gastrointestinal y una de las principales vías de eliminación es mediante las heces. Sin embargo, la materia fecal como muestra suele presentar inhibidores que interfieren con la PCR (Sareyyupoglu et al., 2007) y la excreción de la bacteria por este medio suele ser intermitente (Harkinezhad et al., 2009; Rodríguez-Leo et al., 2017). En este sentido, Ruiz-Laiton y colaboradores (2022) encontraron una probabilidad 8,15 veces mayor de detectar *Chlamydia psittaci* en hisopados cloacales frente a materia fecal. A su vez, el hisopado cloacal es una muestra de fácil obtención y poco invasiva, lo que representa una ventaja práctica con respecto a los hisopados orofaríngeos. Probablemente, estas características expliquen la mayor proporción de hisopados cloacales dentro del total de muestras obtenidas.

Considerando los tres tipos de muestras analizadas, los hisopados cloacales fueron los que presentaron la mayor proporción de resultados positivos (11/66), frente a los hisopados orofaríngeos (0/5) y las muestras de materia fecal (1/6). Sin embargo, es posible que algunos individuos con resultado negativo se encontraran en etapas tempranas de la infección, antes del inicio de la eliminación bacteriana por vía cloacal (Andersen, 1996; Ruiz-Laiton et al., 2020). En este sentido, Santos y colaboradores (2023) observaron aves que resultaron positivas entre 11 a 24 días después de haber sido negativas en un primer muestreo mediante hisopados cloacales. Asimismo, Andersen (1996) y Sheleby-Elias y colaboradores (2013) reportaron discrepancias en la detección de *C. psittaci* entre distintos tipos de muestras tomadas del mismo individuo, lo que respalda la recomendación de obtener más de un tipo de muestra por animal, preferiblemente de sistemas diferentes (Soon et al., 2025).

Por otra parte, la fiabilidad de los hisopados puede verse comprometida por errores en la técnica de muestreo, tales como la falta de contacto adecuado con la mucosa o la obtención insuficiente de células epiteliales, lo que podría generar falsos negativos (Corsaro & Greub, 2006; Soon et al., 2025). En este estudio se registró un caso en el que dos hisopados cloacales obtenidos simultáneamente del mismo ave arrojaron resultados discordantes -uno de ellos siendo positivo a *C. psittaci* y el otro negativo-, lo que refuerza esta posibilidad. De todas formas, las diferencias observadas entre los distintos tipos de muestras deben interpretarse con cautela, dado el tamaño muestral limitado y desigual de cada grupo.

En el presente trabajo se detectó la presencia de *Chlamydia psittaci* en aves psitácidas en Uruguay, con una frecuencia del 15,6% (12/77). Si bien estos resultados confirman la detección del agente en el país, los valores obtenidos no representan una estimación de prevalencia debido a la ausencia de un diseño de muestreo epidemiológico. Este valor es comparable al reportado por Madariaga et al. (2024) en la ciudad de Buenos Aires, donde se detectó un 12,5% (69/550) de psitácidos positivos mediante PCR anidada. De manera similar, Origlia y colaboradores (2019) registraron una prevalencia del 21% (19/90) en psitácidos mantenidos como mascotas en el noreste de la provincia de Buenos Aires, utilizando qPCR. En contraste, Frutos et al. (2015) analizaron 793 aves de distintos órdenes en la ciudad de Córdoba, Argentina (505 de vida libre y 288 de cautiverio) y reportaron una prevalencia considerablemente menor. Entre las 288 aves de cautiverio evaluadas, solo 3 (1%) resultaron positivas, todas pertenecientes al orden Passeriformes y mantenidas en residencias particulares. De estas 288 aves, 76 permanecían alojadas en zoológicos y ninguna presentó infección por *C. psittaci*. Esto coincide con lo observado en nuestro estudio, en el cual se evaluaron 24 muestras de aves mantenidas en bioparques sin detectarse positivos. Si bien se podrían considerar factores como el tiempo de residencia o las condiciones de manejo, es posible que las aves alojadas en bioparques, al encontrarse habituadas a su entorno, compartiendo recintos con los mismos ejemplares por un largo período de tiempo y no sometidas a estrés agudo, tengan una menor probabilidad de encontrarse en fase de excreción activa detectable mediante técnicas moleculares.

Frutos y colaboradores (2015) tampoco detectaron la bacteria en ninguna de las 505 aves de vida libre analizadas. Las diferencias observadas entre estos resultados y los de Madariaga et al. (2024) y Origlia et al. (2019) podrían reflejar el impacto de factores epidemiológicos vinculados al origen y manejo de las aves. Las poblaciones silvestres suelen mostrar una menor circulación de *C. psittaci*, mientras que las aves en cautiverio, especialmente aquellas provenientes del tráfico ilegal, presentan mayor riesgo de infección debido al estrés, la densidad poblacional y las deficientes condiciones sanitarias, que favorecen la diseminación del agente y la excreción del mismo (Frutos et al., 2015; Vanrompay, 2020).

Por otra parte, estudios realizados en Brasil evidencian prevalencias más elevadas. Santos y colaboradores (2023) reportaron un 37% (22/59) de positividad en *Amazona aestiva* provenientes de un centro de fauna que recibe animales del tráfico ilegal,

mientras que Vilela et al. (2019) hallaron una prevalencia del 71,6% en 212 ejemplares muertos de la misma especie, procedentes de un centro de rescate en Minas Gerais. Estos resultados reflejan la alta circulación del agente en aves sometidas a condiciones de hacinamiento y estrés, y ponen de manifiesto el riesgo zoonótico asociado al tráfico y manejo de fauna silvestre. Las prevalencias reportadas en los países limítrofes adquieren especial relevancia para el contexto nacional, por la proximidad geográfica y el continuo flujo de aves silvestres a través de las fronteras, factores que pueden favorecer la introducción y diseminación de *C. psittaci* en Uruguay.

En el resto de Latinoamérica, los reportes son más limitados. Ruiz-Laiton et al. (2022) reportaron una prevalencia del 81,3% en aves psitácidas de un centro de recepción de fauna silvestre en Colombia, Rodríguez-Leo et al. (2017) informaron un 62% de positividad en psitácidos de un zoológico en Venezuela, mientras que Sheleby-Elias y colaboradores (2013) reportaron un 3,4% en psitácidos en cautiverio en Costa Rica, todos ellos mediante diagnóstico molecular. Aunque estos estudios confirman la amplia distribución de *C. psittaci* en la región, su número sigue siendo escaso, lo que refleja la necesidad de ampliar la vigilancia epidemiológica.

Estudios llevados a cabo a nivel internacional evidencian una amplia variabilidad en las prevalencias de *C. psittaci*. En Corea, Lee et al. (2023) reportaron una elevada circulación del agente en psitácidos provenientes de zoológicos, criaderos y cafés temáticos, donde el 63.9% de las 263 muestras analizadas resultaron positivas a *Chlamydia spp.*, y el 36.5% específicamente a *C. psittaci* mediante qPCR, a pesar de que todas las aves eran asintomáticas. De forma similar, en Egipto, Tolba et al. (2019) detectaron *C. psittaci* en el 52.5% (63/120) de las aves pertenecientes a tiendas de mascotas de El Cairo, utilizando PCR convencional dirigida al gen *ompA*. En contraste, prevalencias menores se han reportado en poblaciones silvestres. Stokes et al. (2020), al analizar 123 psitácidos de vida libre en el sureste de Australia mediante PCR, encontraron una positividad del 9.8%, lo que sugiere una menor circulación del patógeno en aves no sometidas a condiciones de hacinamiento o estrés. Resultados intermedios fueron observados por Feng et al. (2017) en China, quienes identificaron un 19.9% (27/136) de aves psitácidas positivas, provenientes de zoológicos y tiendas de mascotas mediante qPCR.

Las prevalencias suelen ser mayores cuando se emplean pruebas serológicas, debido a que estas detectan anticuerpos anti-chlamydiales, los cuales pueden persistir tras infecciones pasadas y no se ven afectados por la excreción intermitente del agente. Además, presentan menor especificidad y sensibilidad, dado que no discriminan entre infecciones activas o previas y pueden verse afectadas por reacciones cruzadas (Fenga et al., 2007; Nieuwenhuizen et al., 2018; Stokes et al., 2020; Sukon et al., 2021). En este sentido, Monsalve y colaboradores (2011) reportaron una prevalencia de 85.5% (118/138) en sueros positivos por ELISA indirecto en aves psitácidas en Colombia. Sin embargo, Carlos & Luyo (2018) reportaron un 44,7% (17/38) en *Ara spp.* mantenidos en cautiverio en zoológicos de Lima y Larraechea et al. (2021) encontraron una prevalencia serológica del 5,26% (5/95) en *Myiopsitta monachus* en

Chile. Estos valores más bajos podrían deberse al origen de las aves, la distribución geográfica y al número de ejemplares muestreados.

En conjunto, estos resultados ponen de manifiesto que *C. psittaci* se encuentra ampliamente distribuida en aves psitácidas de la región, y que los valores de ocurrencia varían según las condiciones de muestreo, el tipo de población estudiada y la metodología diagnóstica empleada.

La PCR convencional utilizada en este estudio como herramienta diagnóstica para la detección de *Chlamydia psittaci* fue adecuada para los objetivos planteados, particularmente para su implementación como técnica diagnóstica en el laboratorio de la Facultad de Veterinaria. La PCR convencional es un método rápido, accesible y sencillo, con buena relación costo-efectividad, y permite la amplificación específica de secuencias blanco del agente. En este caso, se utilizaron los cebadores descritos por Ruiz-Laiton et al. (2022), diseñados específicamente para la detección de *C. psittaci*, lo que asegura la especificidad de la reacción. Asimismo, se trata de una metodología sensible, capaz de detectar cantidades mínimas de ADN, aunque su rendimiento óptimo suele observarse durante fases agudas de infección, cuando la carga bacteriana es mayor (Nieuwenhuizen et al., 2018; Sukon et al., 2021). Esto implica que ciertas aves pueden resultar negativas por PCR pese a haber estado expuestas previamente al agente y presentar anticuerpos detectables por serología.

Por otra parte, la técnica puede verse afectada por limitaciones inherentes a la calidad de las muestras. La presencia de inhibidores en la materia fecal puede interferir en la reacción y reducir la eficiencia de amplificación (Sareyyupoglu et al., 2007), a diferencia de los hisopados cloacales y orofaríngeos, que suelen presentar menor interferencia. Además, aunque la técnica permite amplificar cantidades mínimas de ADN (Hewinson et al., 1997), la concentración final del material genético extraído puede no ser suficiente para una amplificación detectable, especialmente en muestras donde la excreción bacteriana es intermitente o escasa. Estos factores deben considerarse al interpretar resultados negativos y refuerzan la importancia de una adecuada selección y manejo de las muestras para maximizar la sensibilidad diagnóstica.

Durante el análisis de las muestras provenientes de una de las incautaciones de fauna, se identificó un ave positiva a *Chlamydia spp.* pero negativa a *C. psittaci*, en contraste con otros ejemplares del mismo grupo que sí resultaron positivos a *C. psittaci*. Este hallazgo resulta de interés, ya que plantea la posibilidad de que el ejemplar estuviera infectado con otra especie del género *Chlamydia*. Entre las especies de relevancia reportadas en aves psitácidas se destacan *Chlamydia avium*, asociada a infecciones respiratorias o portadores asintomáticos (Popelin-Wedlarski et al., 2020) y *Chlamydia abortus*, causante de abortos en rumiantes y con importante riesgo zoonótico (Origlia et al., 2019). En este contexto, Frutos y colaboradores (2015) obtuvieron en Argentina 15/76 psitácidos positivos a *Chlamydia spp.* pero ninguno positivo a *C. psittaci*. Las detecciones correspondieron a *C. pneumoniae*, especie reportada principalmente en humanos y otros mamíferos, y a *C. pecorum*, usualmente

asociada a rumiantes y marsupiales. La coexistencia de distintas especies de *Chlamydia* dentro de un mismo lote de aves es epidemiológicamente posible, especialmente en contextos de tráfico ilegal, donde aves de diferentes orígenes y estados sanitarios son mantenidas en condiciones de hacinamiento que pueden favorecer la transmisión de diversos agentes infecciosos.

Cuatro de las muestras se agruparon con el genotipo A de *C. psittaci*. Este genotipo es el más común en psitácidos (Ravichandran et al., 2021) y se ha descrito como altamente virulento tanto para aves y humanos (Sachse, Laroucau et al., 2015; Stokes et al., 2021). Dichas muestras procedían de aves decomisadas pertenecientes a un mismo conjunto en el que se habían observado ejemplares con sintomatología clínica. Sin embargo, no se registró el estado individual de cada ave, por lo que no es posible establecer una relación directa entre la detección del patógeno y la presentación clínica de la enfermedad. Por otro lado, aunque todas las muestras provenían del mismo operativo de incautación, la muestra 5C mostró mayor similitud con el genotipo B. Este genotipo es considerado endémico en palomas, aunque también ha sido reportado en pavos, patos, psitácidos y paseriformes (Ravichandran et al., 2021; Vanrompay, 2020). En la región, fue informado por primera vez en aves en Argentina por Origlia y colaboradores (2019), lo que podría sugerir un vínculo epidemiológico asociado al tráfico ilegal de fauna entre ambos países. No obstante, si bien el análisis de la secuencia de la muestra 5C presentó homología con el genotipo B, su confirmación requeriría la amplificación completa del gen *ompA*.

## 10. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Los hallazgos de este trabajo constituyen el primer antecedente de diagnóstico molecular de *Chlamydia psittaci* en aves en Uruguay y demuestra la eficacia de la PCR convencional como herramienta de diagnóstico y vigilancia. La aplicación de esta técnica permitió la identificación de casos positivos tanto en aves confiscadas como en aves de compañía. Esto resalta la necesidad de trabajar en la concientización y educación de la población respecto a la tenencia de aves, la problemática del tráfico ilegal de especies y el impacto que tiene esta zoonosis en la salud pública. Dadas las presiones regionales derivadas del tráfico ilegal de fauna silvestre, es crucial fortalecer las capacidades locales de diagnóstico, vigilancia y control, como un monitoreo sistemático y la implementación de medidas de bioseguridad más rigurosas en entornos de riesgo, para prevenir la aparición de nuevas enfermedades, en línea con el concepto de Una Salud. Este estudio representa un primer paso hacia ese objetivo, sentando las bases para el monitoreo continuo de *C. psittaci* asociada a la fauna silvestre en Uruguay.

A futuro, sería pertinente ampliar el área de muestreo para estimar la distribución de la bacteria a nivel nacional, considerando incluir otras especies de aves con estrecho contacto con el ser humano. Asimismo, sería conveniente establecer un protocolo estandarizado de toma y remisión de muestras que optimice la detección. Finalmente, el desarrollo de una PCR cuantitativa en tiempo real permitiría mejorar la sensibilidad diagnóstica y aportar información adicional sobre las cargas bacterianas en distintas condiciones epidemiológicas.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andersen, A. A. (1991). Serotyping of *Chlamydia psittaci* isolates using serovar-specific monoclonal antibodies with the C., Legione microimmunofluorescence test. *Journal of Clinical Microbiology*, 29(4), 707-711. <https://doi.org/10.1128/jcm.29.4.707-711.1991>
- Andersen, A. A. (1996). Comparison of pharyngeal, fecal, and cloacal samples for the isolation of *Chlamydia psittaci* from experimentally infected cockatiels and turkeys. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 8(4), 448-450. <https://doi.org/10.1177/104063879600800407>
- Andersen, A.A., & Franson, J.C. (2008). Avian chlamydiosis. En N. J. Thomas, D. B. Hunter, & C. T. Atkinson (Eds.). *Infectious diseases of wild birds* (pp. 303-316). Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9780470344668.ch15>
- Andersen, A. A., & Vanrompay, D. (2000). Avian chlamydiosis. *Revue Scientifique et Technique*, 19(2), 396-404.
- Anstey, S. I., Kasimov, V., Jenkins, A., Devlin, J., Amery-Gale, J., Gilkerson, J., Hair, S., Perkins, N., Peel, A. J., Borel, N., Pannekoek, Y., Chaber, A. L., Woolford, L., Timms, P., & Jelocnik, M. (2021). *Chlamydia Psittaci* ST24: Clonal Strains of One Health Importance Dominate in Australian Horse, Bird and Human Infections. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10(8), 1015. <https://doi.org/10.3390/pathogens10081015>
- Balsamo, G., Maxted, A. M., Midla, J. W., Murphy, J. M., Wohrle, R., Edling, T. M., Fish, P. H., Flammer, K., Hyde, D., Kuty, P. K., Kobayashi, M., Helm, B., Oiulfstad, B., Ritchie, B. W., Stobierski, M. G., Ehnert, K., & Tully, T. N., Jr (2017). Compendium of Measures to Control *Chlamydia psittaci* Infection Among Humans (Psittacosis) and Pet Birds (Avian Chlamydiosis). *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 31(3), 262-282. <https://doi.org/10.1647/217-265>
- Bedson, S., Western, G., & Simpson, S. (1930). Observations on the aetiology of psittacosis. *Lancet*, 215, 235-236.
- Beeckman, D. S., & Vanrompay, D. C. (2009). Zoonotic *Chlamydia psittaci* infections from a clinical perspective. *Clinical Microbiology and Infection*, 15(1), 11-17. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02669.x>
- Bello de Vasconcelos, T. C., Nogueira, D. M., Pereira, V., & Bruno, S. F. (2016). *Chlamydia psittaci* in captive blue-and-gold macaws (*Ara ararauna*) in a triage center of wild animals in Brazil. *Ciência Rural*, 46(5), 858-862. <https://doi.org/10.4322/rbcv.2016.027>
- Cadario, M. E., Frutos, M. C., Arias, M. B., Origlia, J. A., Zelaya, V., Madariaga, M. J., Lara, C. S., Ré, V., & Cuffini, C. G. (2017). Epidemiological and molecular characteristics of *Chlamydia psittaci* from 8 human cases of psittacosis and 4 related birds in Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 49(4), 323-327. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.04.001>
- Caffarena, R. M. (1987). Chlamydiosis: confirmación diagnóstica en el Uruguay. *Veterinaria Argentina*, 4(14), 326-330.

- Campbell, T. W. (2015). Normal avian cytology. En *Exotic animal hematology and cytology* (4a ed., pp. 219–227). Fourth edition. Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781118993705>
- Carlos, N., & Luyo, E. P. (2018). Seroprevalence of Chlamydia psittaci in captive macaws (Ara spp.) in the department of Lima, Peru. *Ciência Animal Brasileira*, 19, e44704. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v19e-44704>
- Caul, E., & Sillis, M. (1998). Chlamydiosis. En G. W. Beran & J. H. Steele (Eds.), *Zoonoses: Biology, clinical practice, and public health control* (pp. 53–65). Oxford University Press.
- Chahota, R., Ogawa, H., Mitsuhashi, Y., Ohya, K., Yamaguchi, T., & Fukushi, H. (2006). Genetic diversity and epizootiology of Chlamydophila psittaci prevalent among the captive and feral avian species based on VD2 region of ompA gene. *Microbiology and Immunology*, 50(9), 663–678. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2006.tb03839.x>
- Chan, J., Doyle, B., Branley, J., Sheppeard, V., Gabor, M., Viney, K., Quinn, H., Janover, O., McCready, M., & Heller, J. (2017). An outbreak of psittacosis at a veterinary school demonstrating a novel source of infection. *One Health (Amsterdam, Netherlands)*, 3, 29–33. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2017.02.003>
- Cheong, H. C., Lee, C. Y. Q., Cheok, Y. Y., Tan, G. M. Y., Looi, C. Y., & Wong, W. F. (2019). Chlamydiaceae: diseases in primary hosts and zoonosis. *Microorganisms*, 7(5), 146.
- Corsaro, D., & Greub, G. (2006). Pathogenic potential of novel Chlamydiae and diagnostic approaches to infections due to these obligate intracellular bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(2), 283–297. <https://doi.org/10.1128/CMR.19.2.283-297.2006>
- Cox, H. U., Hoyt, P. G., Poston, R. P., Snider, T. G., III, Lemarchand, T. X., & O'Reilly, K. L. (1998). Isolation of an avian serovar of Chlamydia psittaci from a case of bovine abortion. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 10(3), 280–282. <https://doi.org/10.1177/104063879801000310>
- de Freitas Raso, T., Godoy, S. N., Milanelo, L., de Souza, C. A., Matuschima, E. R., Araújo Júnior, J. P., & Pinto, A. A. (2004). An outbreak of chlamydiosis in captive blue-fronted Amazon parrots (Amazona aestiva) in Brazil. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 35(1), 94–96. <https://doi.org/10.1638/02-090>
- de Freitas Raso, T., Júnior, A. B., & Pinto, A. A. (2002). Evidence of Chlamydophila psittaci infection in captive Amazon parrots in Brazil. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 33(2), 118–121.
- de Freitas Raso, T., Seixas, G. H., Guedes, N. M., & Pinto, A. A. (2006). Chlamydophila psittaci in free-living Blue-fronted Amazon parrots (Amazona aestiva) and Hyacinth macaws (Anodorhynchus hyacinthinus) in the Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Veterinary Microbiology*, 117(2-4), 235–241. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.06.025>

- Díaz Hernández, L. M., Lacordelle Leites, F. N., Braselli Domínguez, A. T., & Sadi Ruso, I. (1995). *Tres casos de psitacosis*. *Revista Médica del Uruguay*, *11*(3), 214–217.
- Dickx, V., Geens, T., Deschuyffeleer, T., Tyberghien, L., Harkinezhad, T., Beeckman, D. S., Braeckman, L., & Vanrompay, D. (2010). Chlamydophila psittaci zoonotic risk assessment in a chicken and turkey slaughterhouse. *Journal of Clinical Microbiology*, *48*(9), 3244–3250. <https://doi.org/10.1128/JCM.00698-10>
- Dickx, V., & Vanrompay, D. (2011). Zoonotic transmission of Chlamydia psittaci in a chicken and turkey hatchery. *Journal of Medical Microbiology*, *60*(6), 775–779. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.030528-0>
- Doménech-Sánchez, A., & Vila, J. (2004). Fundamento, tipos y aplicaciones de los arrays de ADN en la microbiología médica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, *22*(1), 46–54. <https://doi.org/10.1157/13056692>
- Edgar R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, *32*(5), 1792–1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- European Bioinformatics Institute. (2024). [EBI tools]. <https://www.ebi.ac.uk/Tools/>
- Everett K. D. (2000). Chlamydia and Chlamydiales: more than meets the eye. *Veterinary Microbiology*, *75*(2), 109–126. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(00\)00213-3](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(00)00213-3)
- Everett, K. D., Bush, R. M., & Andersen, A. A. (1999). Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *49*(2), 415–440. <https://doi.org/10.1099/00207713-49-2-415>
- Everett, K. D., Hornung, L. J., & Andersen, A. A. (1999). Rapid detection of the Chlamydiaceae and other families in the order Chlamydiales: three PCR tests. *Journal of Clinical Microbiology*, *37*(3), 575–580. <https://doi.org/10.1128/JCM.37.3.575-580.1999>
- Favier, P., Wiemeyer, G. M., Arias, M. B., Lara, C. S., Vilar, G., Crivelli, A. J., Ludvik, H. K., Ardiles, M. I., Teijeiro, M. L., Madariaga, M. J., Rolón, M. J., & Cadario, M. E. (2024). Chlamydia psittaci Screening of Animal Workers from Argentina Exposed to Carrier Birds. *EcoHealth*, *21*(1), 38–45. <https://doi.org/10.1007/s10393-024-01683-w>
- Feng, Y., Feng, Y.-M., Zhang, Z.-H., Wu, S.-X., Zhong, D.-B., & Liu, C.-J. (2017). Prevalence and genotype of Chlamydia psittaci in faecal samples of birds from zoos and pet markets in Kunming, Yunnan, China. *Epidemiology and Infection*, *145*(13), 2707–2713. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1500091>
- Fenga, C., Cacciola, A., Di Nola, C., Calimeri, S., Lo Giudice, D., Pugliese, M., Niutta, P. P., & Martino, L. B. (2007). Serologic investigation of the prevalence of Chlamydophila psittaci in occupationally-exposed subjects in eastern Sicily. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, *14*(1), 93–96.

- Flammer, K. (1989). Treatment of chlamydiosis in exotic birds in the United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 195(11), 1537–1540.
- Fowler, M. E. (2008). Restraint and handling of wild and domestic animals (3<sup>a</sup> ed.). Blackwell publishing.
- Freyre, A., Falcon, J., Wilsmore, A. J., & Bonino, J. (1997). Evidencia serológica de infección a *Chlamydia psittaci* en ovinos en el Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 33(136), 14–16.
- Frutos, M. C., Monetti, M. S., Vaulet, L. G., Cadario, M. E., Fermepin, M. R., Ré, V. E., & Cuffini, C. G. (2015). Genetic diversity of Chlamydia among captive birds from central Argentina. *Avian Pathology*, 44(1), 50–56. <https://doi.org/10.1080/03079457.2014.993593>
- Gaede, W., Reckling, K. F., Dresenkamp, B., Kenklies, S., Schubert, E., Noack, U., Irmischer, H. M., Ludwig, C., Hotzel, H., & Sachse, K. (2008). *Chlamydophila psittaci* infections in humans during an outbreak of psittacosis from poultry in Germany. *Zoonoses and Public Health*, 55(4), 184–188. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01108.x>
- Geens, T., Desplanques, A., Van Loock, M., Bönner, B. M., Kaleta, E. F., Magnino, S., Andersen, A. A., Everett, K. D., & Vanrompay, D. (2005). Sequencing of the *Chlamydophila psittaci* ompA gene reveals a new genotype, E/B, and the need for a rapid discriminatory genotyping method. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(5), 2456–2461. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.5.2456-2461.2005>
- Geigenfeind, I., Vanrompay, D., & Haag-Wackernagel, D. (2012). Prevalence of *Chlamydia psittaci* in the feral pigeon population of Basel, Switzerland. *Journal of Medical Microbiology*, 61(2), 261–265. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.034025-0>
- Goellner, S., Schubert, E., Liebler-Tenorio, E., Hotzel, H., Saluz, H. P., & Sachse, K. (2006). Transcriptional response patterns of *Chlamydophila psittaci* in different in vitro models of persistent infection. *Infection and Immunity*, 74(8), 4801–4808. <https://doi.org/10.1128/IAI.01487-05>
- Greub, G. (2010). International Committee on Systematics of Prokaryotes Subcommittee on the taxonomy of the Chlamydiae: minutes of the inaugural closed meeting, 21 March 2009, Little Rock, AR, USA. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(11), 2691-2693.
- Harkinezhad, T., Geens, T., & Vanrompay, D. (2009). *Chlamydophila psittaci* infections in birds: a review with emphasis on zoonotic consequences. *Veterinary Microbiology*, 135(1-2), 68–77. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.046>
- Harkinezhad, T., Verminnen, K., Van Droogenbroeck, C., & Vanrompay, D. (2007). *Chlamydophila psittaci* genotype E/B transmission from African grey parrots to humans. *Journal of Medical Microbiology*, 56(8), 1097–1100. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.47157-0>
- Hewinson, R. G., Griffiths, P. C., Bevan, B. J., Kirwan, S. E., Field, M. E., Woodward, M. J., & Dawson, M. (1997). Detection of *Chlamydia psittaci* DNA in avian clinical samples by polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology*, 54(2), 155-166.

- Hogerwerf, L., Roof, I., de Jong, M. J. K., Dijkstra, F., & van der Hoek, W. (2020). Animal sources for zoonotic transmission of psittacosis: a systematic review. *BMC infectious diseases*, *20*(1), 192. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-4918-y>
- Hulin, V., Bernard, P., Vorimore, F., Aaziz, R., Cléva, D., Robineau, J., Durand, B., Angelis, L., Siarkou, V. I., & Laroucau, K. (2015). Assessment of Chlamydia psittaci Shedding and Environmental Contamination as Potential Sources of Worker Exposure throughout the Mule Duck Breeding Process. *Applied and Environmental Microbiology*, *82*(5), 1504–1518. <https://doi.org/10.1128/AEM.03179-15>
- Inchuai, R., Weerakun, S., Nguyen, H. N., & Sukon, P. (2021). Global Prevalence of Chlamydial Infections in Reptiles: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)*, *21*(1), 32–39. <https://doi.org/10.1089/vbz.2020.2654>
- Ito, I., Ishida, T., Mishima, M., Osawa, M., Arita, M., Hashimoto, T., & Kishimoto, T. (2002). Familial cases of psittacosis: possible person-to-person transmission. *Internal Medicine (Tokyo, Japan)*, *41*(7), 580–583. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.41.580>
- Kaibu, H., Iida, K., Ueki, S., Ehara, H., Shimasaki, Y., Watanabe, S., Anzai, H., Takebu, W., Muta, T., Kusaba, T., Kishimoto, T., & Ando, S. (2006). Psittacosis in all four members of a family in Nagasaki, Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, *59*(5), 349–350.
- Kaleta, E. F., & Taday, E. M. (2003). Avian host range of Chlamydophila spp. based on isolation, antigen detection and serology. *Avian Pathology*, *32*(5), 435–461. <https://doi.org/10.1080/03079450310001593613>
- Karesh, W. B., del Campo, A., Braselton, W. E., Puche, H., & Cook, R. A. (1997). Health evaluation of free-ranging and hand-reared macaws (Ara spp.) in Peru. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, *28*(4), 368–377.
- Khadka, S., Timilsina, B., Pangen, R. P., Regmi, P. R., & Thapa, A. S. (2022). Importance of clinical history in the diagnosis of psittacosis: A case report. *Annals of Medicine and Surgery*, *82*, 104695. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2022.104695>
- Knittler, M. R., Berndt, A., Böcker, S., Dutow, P., Hänel, F., Heuer, D., Kägebein, D., Klos, A., Koch, S., Liebler-Tenorio, E., Ostermann, C., Reinhold, P., Saluz, H. P., Schöfl, G., Sehnert, P., & Sachse, K. (2014). Chlamydia psittaci: New insights into genomic diversity, clinical pathology, host–pathogen interaction and anti-bacterial immunity. *International Journal of Medical Microbiology*, *304*(7), 877–893. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.06.010>
- Knittler, M. R., & Sachse, K. (2015). Chlamydia psittaci: update on an underestimated zoonotic agent. *Pathogens and Disease*, *73*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftu007>
- Laroucau, K., de Barbeyrac, B., Vorimore, F., Clerc, M., Bertin, C., Harkinezhad, T., Verminnen, K., Obeniche, F., Capek, I., Bébéar, C., Durand, B., Zanella, G., Vanrompay, D., Garin-Bastuji, B., & Sachse, K. (2009). Chlamydial infections in

- duck farms associated with human cases of psittacosis in France. *Veterinary Microbiology*, 135(1-2), 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.048>
- Larraechea, M., Hidalgo, H., Ramírez-Toloza, G., Sandoval-Rodríguez, A., Ibáñez, D., & Briceño, C. (2021). Seropositividad a *Chlamydia psittaci* en cotorras argentinas (*Myiopsitta monachus*) invasoras de la ciudad de Santiago de Chile. *Revista Chilena de Infectología*, 38(3), 337–341. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182023000100035>
- Lee, H. J., Lee, O. M., Kang, S. I., Yeo, Y. G., Jeong, J. Y., Kwon, Y. K., & Kang, M. S. (2023). Prevalence of asymptomatic infections of *Chlamydia psittaci* in psittacine birds in Korea. *Zoonoses and Public Health*, 70(5), 451–458. <https://doi.org/10.1111/zph.13039>
- Lillie, R. D. (1930). Psittacosis: rickettsia-like inclusions in man and in experimental animals. *Public Health Reports (1896-1970)*, 45(15), 773-778.
- Longbottom, D., & Coulter, L. J. (2003). Animal chlamydioses and zoonotic implications. *Journal of Comparative Pathology*, 128(4), 217–244. <https://doi.org/10.1053/jcpa.2002.0629>
- Luu, L. D. W., Kasimov, V., Phillips, S., Myers, G. S. A., & Jelocnik, M. (2023). Genome organization and genomics in *Chlamydia*: whole genome sequencing increases understanding of chlamydial virulence, evolution, and phylogeny. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1178736. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1178736>
- Macfarlane, J. T., & Macrae, A. D. (1983). Psittacosis. *British Medical Bulletin*, 39(2), 163–167. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a071810>
- Madariaga, M. J., Caraballo, D. A., Teijeiro, M. L., Boeri, E. J., & Cadario, M. E. (2024). Molecular Detection and Genotyping of *Chlamydia psittaci* in Birds in Buenos Aires City, Argentina. *Animals*, 14(22), 3286. <https://doi.org/10.3390/ani14223286>
- Marhold, C., Slavec, B., Laroucau, K., Vorimore, F., Račnik, J., Zadavec, M., Keše, D., Krapež, U., & Dovč, A. (2012). *Detection of Chlamydia psittaci in cage birds in Slovenia by real-time PCR. Slovenian Veterinary Research*, 49(4), 185–192.
- Matsui, T., Nakashima, K., Ohyama, T., Kobayashi, J., Arima, Y., Kishimoto, T., Ogawa, M., Cai, Y., Shiga, S., Ando, S., Kurane, I., Tabara, K., Itagaki, A., Nitta, N., Fukushi, H., Matsumoto, A., & Okabe, N. (2008). An outbreak of psittacosis in a bird park in Japan. *Epidemiology and Infection*, 136(4), 492–495. <https://doi.org/10.1017/S0950268807008783>
- Matsumoto, A. & Manire, G.P. (1970). Electron microscopic observations on the fine structure of cell walls of *Chlamydia psittaci*. *Journal of Bacteriology*, 104(3), 1332-1337. <https://doi.org/10.1128/jb.104.3.1332-1337.1970>
- Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (2024). *Enfermedades de animales de notificación obligatoria*. <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/datos-y-estadisticas/datos/lista-enfermedades-animales-notificacion-obligatoria>
- Ministerio de Salud de Argentina. (2025). *Boletín Epidemiológico Nacional*, 42(779). [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2025/01/ben\\_779\\_se\\_42\\_vf.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2025/01/ben_779_se_42_vf.pdf)

- Ministerio de Salud Pública (2018). *Prevención de la psitacosis*. <https://www.gub.uy/ministerio-salud-publica/comunicacion/comunicados/prevencion-de-la-psitacosis>
- Monsalve, S., Miranda, J., & Mattar, S. (2011). Primera evidencia de circulación de *Chlamydia psittaci* en Colombia: posible riesgo de salud pública. *Revista de Salud Pública*, 13, 314-326. <https://doi.org/10.1590/S0124-00642011000200013>
- Nieuwenhuizen, A. A., Dijkstra, F., Notermans, D. W., & van der Hoek, W. (2018). Laboratory methods for case finding in human psittacosis outbreaks: a systematic review. *BMC Infectious Diseases*, 18(1), 442. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3317-0>
- Organización Mundial de Sanidad Animal (2018). Clamidirosis aviar. En *Manual de Pruebas de Diagnóstico y Vacunas para los Animales Terrestres* (cap. 3.3.1). [https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health\\_standards/tahm/3.03.01\\_Clamidirosis\\_aviar.pdf](https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.03.01_Clamidirosis_aviar.pdf)
- Origlia, J. A., Cadario, M. E., Frutos, M. C., Lopez, N. F., Corva, S., Unzaga, M. F., Piscopo, M. V., Cuffini, C., & Petruccelli, M. A. (2019). Detection and molecular characterization of *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia abortus* in psittacine pet birds in Buenos Aires province, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(2), 130–135. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.04.003>
- Page, L. A. (1966). Revision of the family Chlamydiaceae Rake (Rickettsiales): Unification of the Psittacosis-Lymphogranuloma venereum-Trachoma group of organisms in the genus *Chlamydia* Jones, Rahe and Stearns 1945. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 16, 223–252.
- Page, L. A. (1968). Proposal for the recognition of two species in the genus *Chlamydia* Jones, Rake, and Stearns, 1945. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 18(1), 51-66.
- Panigrahy, B., Grimes, J. E., & Brown, C. D. (1978). Recent increase in incidence of chlamydiosis (psittacosis) in psittacine birds in Texas. *Avian Diseases*, 22(4), 806–808.
- Pannekoek, Y., Dickx, V., Beeckman, D. S., Jolley, K. A., Keijzers, W. C., Vretou, E., Maiden, M. C., Vanrompay, D., & van der Ende, A. (2010). Multi locus sequence typing of *Chlamydia* reveals an association between *Chlamydia psittaci* genotypes and host species. *PLoS one*, 5(12), e14179. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014179>
- Piasecki, T., Chrzęstek, K., & Wieliczko, A. (2012). Detection and identification of *Chlamydia psittaci* in asymptomatic parrots in Poland. *BMC Veterinary Research*, 8, 233. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-233>
- Popelin-Wedlarski, F., Roux, A., Aaziz, R., Vorimore, F., Lagourette, P., Crispo, M., Borel, N., & Laroucau, K. (2020). Captive Psittacines with *Chlamydia avium* Infection. *Avian Diseases*, 64(4), 542–546. <https://doi.org/10.1637/aviandiseases-D20-00043>
- Ravichandran, K., Anbazhagan, S., Karthik, K., Angappan, M., & Dhayananth, B. (2021). A comprehensive review on avian chlamydiosis: a neglected zoonotic

- disease. *Tropical Animal Health and Production*, 53(4), 414. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02859-0>
- Rehn, M., Ringberg, H., Runehagen, A., Herrmann, B., Olsen, B., Petersson, A. C., Hjertqvist, M., Kühlmann-Berenzon, S., & Wallensten, A. (2013). Unusual increase of psittacosis in southern Sweden linked to wild bird exposure. *Euro Surveillance : Bulletin Europeen sur les Maladies Transmissibles*, 18(19), 20478.
- Rodríguez-Leo, C., Hernández, V., Abou Orm, S., Díaz, Y., Camacho, D., Arraiz, N., & Useche, E. (2017). Chlamydia psittaci en aves psitácidas en dos parques zoológicos de Venezuela. *Acta Biológica Colombiana*, 22(3), 394–397. <https://doi.org/10.15446/abc.v22n3.64742>.
- Ruiz-Laiton, A. (2020). Prevalencia de Chlamydia psittaci en aves psitácidas en el centro de recepción de fauna temporal del Convenio de asociación n° 131 IDPYBA–UDCA. [Tesis de grado, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales UDCA]. Sidre. <https://repository.udca.edu.co/entities/publication/ceae514a-80b0-4acf-9783-0b9d5e6890da>
- Ruiz-Laiton, A., Molano-Ayala, N., García-Castiblanco, S., Puentes-Orozco, A. M., Falla, A. C., Camargo, M., Roa, L., Rodríguez-López, A., Patarroyo, M. A., & Avendaño, C. (2022). The prevalence of Chlamydia psittaci in confiscated Psittacidae in Colombia. *Preventive Veterinary Medicine*, 200, 105591. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105591>
- Rybarczyk, J., Versteede, C., Lernout, T., & Vanrompay, D. (2020). Human psittacosis: a review with emphasis on surveillance in Belgium. *Acta Clinica Belgica*, 75(1), 42–48. <https://doi.org/10.1080/17843286.2019.1590889>
- Sachse, K., Bavoil, P. M., Kaltenboeck, B., Stephens, R. S., Kuo, C. C., Rosselló-Móra, R., & Horn, M. (2015). Emendation of the family Chlamydiaceae: proposal of a single genus, Chlamydia, to include all currently recognized species. *Systematic and Applied Microbiology*, 38(2), 99–103. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2014.12.004>
- Sachse, K., Laroucau, K., Hotzel, H., Schubert, E., Ehricht, R., & Slickers, P. (2008). Genotyping of Chlamydophila psittaci using a new DNA microarray assay based on sequence analysis of ompA genes. *BMC Microbiology*, 8, 63. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-63>
- Sachse, K., Laroucau, K., Riege, K., Wehner, S., Dilcher, M., Creasy, H. H., Weidmann, M., Myers, G., Vorimore, F., Vicari, N., Magnino, S., Liebler-Tenorio, E., Ruetzger, A., Bavoil, P. M., Hufert, F. T., Rosselló-Móra, R., & Marz, M. (2014). Evidence for the existence of two new members of the family Chlamydiaceae and proposal of Chlamydia avium sp. nov. and Chlamydia gallinacea sp. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 37(2), 79–88. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2013.12.004>
- Sachse, K., Laroucau, K., & Vanrompay, D. (2015). Avian chlamydiosis. *Current Clinical Microbiology Reports*, 2(1), 10–21. <https://doi.org/10.1007/s40588-014-0010-y>

- Sachse, K., Vretou, E., Livingstone, M., Borel, N., Pospischil, A., & Longbottom, D. (2009). Recent developments in the laboratory diagnosis of chlamydial infections. *Veterinary Microbiology*, 135(1-2), 2–21. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.040>
- Santos, B. M., de Antonio, E. S., Pereira, D. C., Silva Dourado, A. T. T., da Silva, M. B., Fraga, R. E., & Tomazi, L. (2023). Determining the Prevalence of Avian Chlamydiosis in Wild *Amazona* Species From Brazil Using Molecular Testing and Clinical Signs. *Journal of avian medicine and surgery*, 37(1), 32–40. <https://doi.org/10.1647/21-00075>
- Santos, F., Leal, D. C., Raso, T. F., Souza, B. M. P. S., Cunha, R. M., Martinez, V. H. R., Barrouin-Melo, S. M., & Franke, C. R. (2014). Risk factors associated with *Chlamydia psittaci* infection in psittacine birds. *Journal of Medical Microbiology*, 63(3), 458–463. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.060632-0>
- Sareyyupoglu, B., Cantekin, Z., & Bas, B. (2007). *Chlamydia psittaci* DNA detection in the faeces of cage birds. *Zoonoses and Public Health*, 54(6-7), 237–242. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2007.01060.x>
- Schachter, J., Stephens, R. S., Timms, P., Kuo, C., Bavoil, P. M., Birkelund, S., Boman, J., Caldwell, H., Campbell, L. A., Chernesky, M., Christiansen, G., Clarke, I. N., Gaydos, C., Grayston, J. T., Hackstadt, T., Hsia, R., Kaltenboeck, B., Leinonen, M., Ojcius, D., ... Wyrick, P. B. (2001). Radical changes to chlamydial taxonomy are not necessary just yet. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(1), 249. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-1-249>
- Schwartz, J. C., & Fraser, W. (1982). *Chlamydia psittaci* infection in companion birds examined in Florida. *Avian Diseases*, 26(1), 211–213.
- Senn, L., & Greub, G. (2008). Local newspaper as a diagnostic aid for psittacosis: a case report. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 46(12), 1931–1932. <https://doi.org/10.1086/588562>
- Sheleby-Elías, J., Solórzano-Morales, A., Romero-Zuñiga, J. J., & Dolz, G. (2013). Molecular Detection and Genotyping of *Chlamydia psittaci* in Captive Psittacines from Costa Rica. *Veterinary Medicine International*, 2013, 142962. <https://doi.org/10.1155/2013/142962>
- Shi, Y., Chen, J., Shi, X., Hu, J., Li, H., Li, X., Wang, Y., & Wu, B. (2021). A case of *Chlamydia psittaci* caused severe pneumonia and meningitis diagnosed by metagenome next-generation sequencing and clinical analysis: a case report and literature review. *BMC Infectious Diseases*, 21(1), 621. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06205-5>
- Smith, K. A., Campbell, C. T., Murphy, J., Stobierski, M. G., & Tengelsen, L. A. (2011). Compendium of measures to control *Chlamydia psittaci* infection among humans (psittacosis) and pet birds (avian chlamydiosis), 2010 National Association of State Public Health Veterinarians (NASPHV). *Journal of Exotic Pet Medicine*, 20(1), 32–45. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2010.11.007>

- Soon, X. Q., Gedye, K., Benschop, J., & Gartrell, B. (2025). Molecular detection of *Chlamydia psittaci* in birds: a systematic review. *Avian Pathology*, *54*(3), 279–298. <https://doi.org/10.1080/03079457.2024.2443952>
- Spalatin, J., Iversen, J. O., & Hanson, R. P. (1971). Properties of a *Chlamydia psittaci* isolated from muskrats and snowshoe hares in Canada. *Canadian Journal of Microbiology*, *17*(7), 935–942. <https://doi.org/10.1139/m71-149>
- Stalder, S., Marti, H., Borel, N., Sachse, K., Albin, S., & Vogler, B. R. (2020). Occurrence of Chlamydiaceae in Raptors and Crows in Switzerland. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, *9*(9), 724. <https://doi.org/10.3390/pathogens9090724>
- Stephens, R. S., Myers, G., Eppinger, M., & Bavoil, P. M. (2009). Divergence without difference: phylogenetics and taxonomy of *Chlamydia* resolved. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, *55*(2), 115–119. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2008.00516.x>
- Stewardson, A. J., & Grayson, M. L. (2010). Psittacosis. *Infectious Disease Clinics of North America*, *24*(1), 7–25. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2009.10.003>
- Stokes, H. S., Berg, M. L., & Bennett, A. T. D. (2021). A Review of Chlamydial Infections in Wild Birds. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, *10*(8), 948. <https://doi.org/10.3390/pathogens10080948>
- Stokes, H. S., Martens, J. M., Walder, K., Segal, Y., Berg, M. L., & Bennett, A. T. D. (2020). Species, sex and geographic variation in chlamydial prevalence in abundant wild Australian parrots. *Scientific Reports*, *10*(1), 20478. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77500-5>
- Sukon, P., Nam, N. H., Kittipreeya, P., Sara-In, A., Wawilai, P., Inchuai, R., & Weerakhun, S. (2021). Global prevalence of chlamydial infections in birds: A systematic review and meta-analysis. *Preventive Veterinary Medicine*, *192*, 105370. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2021.105370>
- Tolba, H. M. N., Abou Elez, R. M. M., & Elsohaby, I. (2019). Risk factors associated with *Chlamydia psittaci* infections in psittacine birds and bird handlers. *Journal of Applied Microbiology*, *126*(2), 402–410. <https://doi.org/10.1111/jam.14136>
- Van Droogenbroeck, C., Beeckman, D. S., Verminnen, K., Marien, M., Nauwynck, H., Boesinghe, L.deT., & Vanrompay, D. (2009). Simultaneous zoonotic transmission of *Chlamydophila psittaci* genotypes D, F and E/B to a veterinary scientist. *Veterinary Microbiology*, *135*(1-2), 78–81. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.047>
- Van Loock, M., Geens, T., De Smit, L., Nauwynck, H., Van Empel, P., Naylor, C., Hafez, H. M., Goddeeris, B. M., & Vanrompay, D. (2005). Key role of *Chlamydophila psittaci* on Belgian turkey farms in association with other respiratory pathogens. *Veterinary Microbiology*, *107*(1-2), 91–101. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.01.009>
- Vanrompay, D. (2020). Avian chlamydiosis. En D. E. Swayne, M. Boulianne, C. M. Logue, L. R. McDougald, V. Nair, D. L. Suarez, S. Wit, T. Grimes, D. Johnson, M. Kromm, T. Y. Prajitno, I. Rubinoff, & G. Zavala (Eds.), *Diseases of poultry* (14<sup>th</sup> ed., pp. 1086–1107). Wiley-Blackwell

- Vanrompay, D., Butaye, P., Sayada, C., Ducatelle, R., & Haesebrouck, F. (1997). Characterization of avian *Chlamydia psittaci* strains using omp1 restriction mapping and serovar-specific monoclonal antibodies. *Research in Microbiology*, 148(4), 327–333. [https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(97\)81588-4](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(97)81588-4)
- Vanrompay, D., Harkinezhad, T., van de Walle, M., Beeckman, D., van Droogenbroeck, C., Verminnen, K., Leten, R., Martel, A., & Cauwerts, K. (2007). *Chlamydophila psittaci* transmission from pet birds to humans. *Emerging Infectious Diseases*, 13(7), 1108–1110. <https://doi.org/10.3201/eid1307.070074>
- Vanrompay, D., Van Nerom, A., Ducatelle, R., & Haesebrouck, F. (1994). Evaluation of five immunoassays for detection of *Chlamydia psittaci* in cloacal and conjunctival specimens from turkeys. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(6), 1470–1474. <https://doi.org/10.1128/jcm.32.6.1470-1474.1994>
- Van Wettere, A. J. (2025). *Avian chlamydiosis*. Merck Veterinary Manual. <https://www.merckvetmanual.com/poultry/avian-chlamydiosis/avian-chlamydiosis>
- Verminnen, K., Duquenne, B., De Keukeleire, D., Duim, B., Pannekoek, Y., Braeckman, L., & Vanrompay, D. (2008). Evaluation of a *Chlamydophila psittaci* infection diagnostic platform for zoonotic risk assessment. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(1), 281–285. <https://doi.org/10.1128/JCM.01153-07>
- Vilela, D. A. R., Marin, S. Y., Resende, M., Coelho, H. L. G., Resende, J. S., Ferreira-Junior, F. C., Ortiz, M. C., Araujo, A. V., Raso, T. F., & Martins, N. R. S. (2019). Phylogenetic analyses of *Chlamydia psittaci* ompA gene sequences from captive blue-fronted Amazon parrots (*Amazona aestiva*) with hepatic disease in Brazil. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 38(3), 711–719. <https://doi.org/10.20506/rst.38.3.3020>
- Vorimore, F., Hsia, R. C., Huot-Creasy, H., Bastian, S., Deruyter, L., Passet, A., Sachse, K., Bavoil, P., Myers, G., & Laroucau, K. (2013). Isolation of a New *Chlamydia* species from the Feral Sacred Ibis (*Threskiornis aethiopicus*): *Chlamydia ibidis*. *PloS One*, 8(9), e74823. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074823>
- Wallensten, A., Fredlund, H., & Runeheggen, A. (2014). Multiple human-to-human transmission from a severe case of psittacosis, Sweden, January-February 2013. *Euro Surveillance*, 19(42), 20937. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2014.19.42.20937>
- Wang, J., Wang, B., Xiao, J., Chen, Y., & Wang, C. (2024). *Chlamydia psittaci*: A zoonotic pathogen causing avian chlamydiosis and psittacosis. *Virulence*, 15(1), 2428411. <https://doi.org/10.1080/21505594.2024.2428411>
- West, A. (2011). A brief review of *Chlamydophila psittaci* in birds and humans. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 20(1), 18-20. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2010.11.006>
- Wong, K. H., Skelton, S. K., & Daugharty, H. (1994). Utility of complement fixation and microimmunofluorescence assays for detecting serologic responses in patients with clinically diagnosed psittacosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(10), 2417–2421. <https://doi.org/10.1128/jcm.32.10.2417-2421.1994>

Zhang, Z., Zhou, H., Cao, H., Ji, J., Zhang, R., Li, W., Guo, H., Chen, L., Ma, C., Cui, M., Wang, J., Chen, H., Ding, G., Yan, C., Dong, L., Holmes, E. C., Meng, L., Hou, P., & Shi, W. (2022). Human-to-human transmission of *Chlamydia psittaci* in China, 2020: an epidemiological and aetiological investigation. *The Lancet. Microbe*, 3(7), e512–e520. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(22\)00064-7](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(22)00064-7)

## ANEXOS

### Anexo I. Secuencias de referencia del gen *ompA* obtenidas de la base de datos de GenBank

Locus	Genotipo/ Especie	Muestra	País	Año	Huésped	Referencia
OR227491.1	A	HC	Argentina	2014	<i>A. aestiva</i>	Madariaga et al., 2024
OR227492.1	A	HC	Argentina	2014	<i>A. aestiva</i>	Madariaga et al., 2024
OR227523.1	A	HC	Argentina	2015	<i>M. monachus</i>	Madariaga et al., 2024
OR227495.1	A	HC	Argentina	2014	<i>A. aestiva</i>	Madariaga et al., 2024
OR227488.1	A	Órganos	Argentina	2013	<i>M. monachus</i>	Madariaga et al., 2024
OR227483.1	B	HC	Argentina	2013	<i>C.livia</i>	Madariaga et al., 2024
OR227496.1	B	HC	Argentina	2014	<i>M. monachus</i>	Madariaga et al., 2024
KU258190.1	B	HC	Argentina	SD	<i>A. aestiva</i>	Origlia et al., 2019
AF269261.1	C	Huevos	SD	SD	Pato	Everett et al., 2000
AF269266.1	D	Músculo	Nueva Jersey	1954	Pavo	Bush & Everett, 2001
AY762611.1	E	SD	SD	SD	SD	Geens et al., 2005
OR227500.1	E	HC	Argentina	2014	<i>C. livia</i>	Madariaga et al., 2024
AF269269.1	WC	Órgano	SD	SD	Bovino	Bush & Everett, 2001
EU837071.1	C. <i>pecorum</i> E58	SD	SD	SD	SD	Mohamad et al., 2008
GQ398033.1	C. <i>gallinacea</i> 08-1274/3	HC	SD	SD	Gallina	Laroucau et al., 2009
AF269282.1	<i>C. caviae</i>	Conjuntiva	USA	SD	<i>Cavia porcellus</i>	Zhang, Y.X. et al., 1989
AF269259.1	<i>Chlamydia psittaci</i>	Hisopado	USA	1991	<i>Aratinga canicularis</i>	Everett et al., 2000

AY762612.1	F	SD	SD	SD	SD	Geens et al., 2005
AY762610.1	D	SD	SD	SD	SD	Geens et al., 2005
AF269268.1	M56	SD	SD	1961	Liebre y rata almizclera	Bush, R.M. & Everett, K.D., 2001
AY762608.1	A	SD	SD	SD	SD	Geens et al., 2005
AY762613.1	E/B	SD	SD	SD	SD	Geens et al., 2005
AY762609.1	B	SD	SD	SD	SD	Geens et al., 2005
AF269265.1	B	Sacos aéreos	USA	1958	Paloma	Bush, R.M. & Everett K.D., 2001

**Nota.** SD= Sin dato; HC = Hisopado cloacal

## Anexo II. Actividades académicas realizadas durante la tesis de grado

1. **Fernández, M. , Picún, T. ,** Eliopulos, N. , Puentes, R. , Iribarnegaray, V. Estandarización de la reacción en cadena de la polimerasa para la identificación de *Chlamydia psittaci* en aves de Uruguay. XV Congreso Nacional de Microbiología y V Encuentro Nacional de Jóvenes Investigadores en la Microbiología, Montevideo, Uruguay 2024.
2. Eliopulos, N, **Fernández, M , Picún, T**, Ferreira, K , Leyzagoyen, C , Graziol, I , Iribarnegaray, V. Diagnóstico de *Chlamydia psittaci* en aves traficadas en Uruguay: implicaciones para la conservación y la salud pública. XXVII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias "UNA SALUD: Una voz desde todas las áreas de la profesión. Montevideo, Uruguay 2024
3. Iribarnegaray V; **Picún T; Fernández M**; Eliopulos N; Verdes JM; Puentes R. Vigilancia molecular de *Chlamydia psittaci* en fauna silvestre y doméstica de Uruguay: evaluación del riesgo zoonótico en la interfaz humano-animal-ambiente. Congreso Uruguayo en Una Salud - I Jornada Académica del Instituto de Investigación Una Salud, Salto, Uruguay 2025