

GENERO *CHLAMYDIA*: BIOLOGÍA
BÁSICA _ PROPIEDADES ANTIGÉNICAS
Y POTENCIAL PATOGENICO

JORGE A. PÉREZ MARTÍNEZ

*Departamento de Bacteriología
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad Nacional Autónoma de México
C. Universitaria, México 04510, D. F.*

JOHANES STORZ

*Department of Veterinary Microbiology and Parasitology
School of Veterinary Medicine
Louisiana State University
Baton Rouge, LA. 70809*

I. Propiedades biológicas básicas del género <i>Chlamidia</i>	37
II. Potencial patogénico	41
III. Interacción clamidia-célula huésped en cultivos celulares.....	42
IV. Propiedades antigénicas de las clamidias	44
1. Antígenos específicos del género	45
2. Antígenos específicos de especie.....	46
3. Antígenos específicos de serotipo.....	47
Referencias	49

I. Propiedades biológicas básicas del género *Chlamydia*

El género *Chlamydia* está compuesto por un grupo grande de microorganismos que sólo pueden replicarse en el citoplasma de células animales vivas, propiedad que semeja al parasitismo intracelular obligado de los virus (1, 2). Otras

propiedades de las clamidias que semejan propiedades virales son su tamaño relativamente pequeño (2 μm) y su inhabilidad para replicarse en células tratadas con lincocinas (3, 4, 5, 6, 7, 8). Sin embargo, a diferencia de los virus, las clamidias son organismos procarióticos y su entidad celular se mantiene durante su ciclo de replicación (2, 9).

En virtud de su naturaleza procariótica las clamidias poseen algunas de las propiedades básicas de las eubacterias; contienen ADN y ARN; se dividen por fisión binaria; contienen ribosomas 70S; poseen actividades enzimáticas y capacidad de síntesis macromolecular; contienen una pared celular rígida con una membrana externa similar a la envoltura de las bacterias Gram negativas; poseen plásmidos; son susceptibles a la infección por un fago, y son susceptibles a la acción de algunos antibióticos incluyendo a las tetraciclinas, cloranfenicol, eritromicina y penicilina (9, 10, 11, 12, 13, 14, 15,16,17).

A pesar de las similitudes con las bacterias de vida libre, las clamidias tienen importantes propiedades biológicas que permiten distinguirlas de cualquier otro microorganismo. Su pared celular rígida no posee ácido murámico (18, 19, 20), componente esencial de la pared celular bacteriana típica. En su ausencia, la rigidez y fuerza de la pared celular de las clamidias parecen ser conferidas por proteínas de la membrana externa que se encuentran entrelazadas por puentes de disulfuro (21, 22, 23, 24).

Además, la envoltura de las clamidias posee características morfológicas únicas, demostradas mediante técnicas especiales de microscopía electrónica y fracturas en congelación (25, 26, 27, 28, 29).

Las clamidias no son capaces de producir eficientemente compuestos de alta energía como el ATP y por lo tanto necesitan obtener su energía metabólica a partir de la célula huésped (30, 31). Esta propiedad parece ser la razón principal por la cual las clamidias no pueden multiplicarse extracelularmente.

Durante su multiplicación intracelular las clamidias realizan un complejo ciclo "evolutivo" que no tiene paralelo en otros microorganismos (2, 32, 33). Las inclusiones citoplásmicas presentes en las células infectadas representan micro-

colonias de clamidias en las cuales están presentes las diferentes formas de replicación. El ciclo evolutivo se inicia cuando la forma extracelular del microorganismo, el cuerpo elemental (CE), infecta a una célula susceptible induciendo su propia internación por endocitosis (34, 35). Se han realizado estudios preliminares que sugieren la presencia de sitios receptores específicos para las diferentes cepas de clamidias en la superficie de las células huéspedes (36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45). Una vez internado el CE, este permanece en el fagosoma por el resto del ciclo evolutivo. Para esto, la fusión fagolisosomal es inhibida mediante un mecanismo desconocido, en el cual se requiere que los antígenos de superficie de la clamidia se encuentren intactos (32, 46, 47, 48, 49, 50). El CE se reorganiza en unas cuantas horas en una forma no infectante denominada cuerpo reticulado (CR), el cual se multiplica activamente mediante fisión binaria (2, 33, 51, 52). Las bases moleculares de este proceso de diferenciación no han sido completamente elucidadas. Sin embargo, coincide con la reducción de los enlaces disulfuro que entrelazan a la proteína principal de la membrana externa (PPME) y a otras tres proteínas menos abundantes de la membrana externa que son ricas en cisteína (22,53).

Después de varios ciclos de fisión binaria, los CRs se reorganizan nuevamente en la nueva progenie de CEs. Los monómeros de proteínas de la membrana externa se vuelven a entrelazar mediante puentes disulfuro para formar complejos poliméricos, y la progenie infecciosa es liberada durante la lisis de la célula huésped (54, 55, 56).

Las clamidias liberadas al medio ambiente por células de animales infectados resisten la acción proteolítica de algunas enzimas y son capaces de sobrevivir en materias fecales secas durante algunos meses (57). Sin embargo, el alto contenido de lípidos de su pared celular las hace susceptibles a la acción microbicida de los detergentes, de solventes orgánicos y de otros desinfectantes de uso común como el formaldehído y el fenol (57, 58). Las clamidias también son susceptibles a la inactivación por medio del calor.

En el pasado las clamidias se denominaban con base a las enfermedades que causan en los humanos; por ejemplo el

grupo tracoma-conjuntivitis de inclusiones (TRIC), o el grupo linfogranuloma venéreo (LGV); o con nombres genéricos como *Miyagawanella*, *Bedsonia*, *Rakeia* u otros (57, 59). Actualmente, con fines taxonómicos, todas las cepas de clamidias están agrupadas en el género *Chlamydia* y la familia *Chlamydiaceae* que han sido colocados en un orden separado, el orden Chlamydiales (42, 60).

Todos los miembros del género *Chlamydia* comparten la misma morfología y un antígeno lipopolisacárido común puesto de manifiesto generalmente mediante pruebas de fijación de complemento, de anticuerpos fluorescentes en células infectadas, o más recientemente mediante una prueba de ELISA que utiliza un anticuerpo monoclonal (61, 62, 63, 64, 65, 66).

Las características enlistadas en el cuadro 1 permiten diferenciar dos especies del género *Chlamydia*: *C. trachomatis* y *C. psittaci*.

CUADRO 1

CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES DEL GÉNERO
CHLAMYDIA

<i>Característica</i>	<i>C. trachomatis</i>	<i>C. psittaci</i>
Huésped natural	Hombre (ratón)	Aves, mamíferos en general
Morfología de las inclusiones citoplasmáticas	Vacuolar, difusas	Variable, generalmente compactas
Acumulación de glucógeno en las inclusiones	Sí	No
Susceptibilidad a la Inhibición por sulfas	Sí	No
Serotipos	15	Por lo menos 9
Biotipos	8	Por lo menos 8

Modificado de: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, p. 735, Baltimore, Md., 1984.

II. Potencial patogénico

Las infecciones por *C. trachomatis* ocurren en forma natural únicamente en el humano y el ratón, y todas las cepas que se conocen han sido subdivididas en 3 biotipos que se distinguen por su hospedador natural, su comportamiento en cultivos celulares y su potencial patogénico (59, 67, 68, 69). El biotipo tracoma de *C. trachomatis* está asociado con la enfermedad denominada tracoma, y en países industrializados se reporta como una causa importante de uretritis, cervicitis, salpingitis e infertilidad en adultos sexualmente activos, y como causa común de conjuntivitis y neumonía en neonatos de madres infectadas (70, 71, 72, 73, 74, 75). El biotipo LGV de *C. trachomatis* es el agente etiológico de una enfermedad sistémica transmitida por contacto sexual, denominada linfogranuloma venéreo. El biotipo de la neumonitis del ratón esta representado por cepas de *C. trachomatis* que se asocian con infecciones respiratorias en ratones. Los biotipos tracoma y LGV exhiben un alto grado de homología de ADN mediante pruebas de hibridación ADN-ADN. Sin embargo, su homología con el biotipo de la neumonitis del ratón esta muy por debajo del límite mínimo de 60% esperado para miembros de la misma especie (69, 76, 77). Esta evidencia, aunada a análisis antigénicos y estructurales recientes sugiere que el biotipo de la neumonitis del ratón está distantesamente relacionado a los otros dos biotipos y quizá debiera ser reclasificado como una tercera especie del género (42, 69, 78).

La segunda especie reconocida del género *Chlamidia* es *C. psittaci*. Esta exhibe un espectro mucho mayor en cuanto a hospedadores animales naturalmente susceptibles. *C. psittaci* puede infectar a un gran número de mamíferos domésticos y salvajes (57, 79, 80, 81,82, 83, 84, 85, 86, 87, 88), a un gran número de aves (89, 90, 91, 92, 93, 94) y al hombre (95, 96, 97, 98, 99, 100). Además, reportes recientes implican a esta especie como causa de infección natural en ranas (101) y posiblemente algunos animales invertebrados (14, 102, 103). Como regla general, *C. psittaci* tiende a producir infecciones subclínicas persistentes, sin embargo, dependiendo de factores como son la virulencia de la cepa,

Género *Chlamydia*

edad, sexo y estado fisiológico del huésped, factores ambientales y estrés, la infección por *C. psittaci* puede dar lugar a uno o más de los siguientes síndromes: poliartritis, gastroenteritis, conjuntivitis, encefalomiелitis, neumonía, hepatitis, infertilidad y aborto (57, 86, 101, 104, 105, 106).

Como entidades clínicas específicas, *C. psittaci* produce la psitacosis y la ornitosis en aves psitacinas y no psitacinas, respectivamente; el aborto enzoótico ovino; la meningoencefalomiелitis esporádica de los bovinos; la neumonitis felina en gatos domésticos; y la conjuntivitis con inclusiones de los cuyos (86, 88).

No han sido identificados factores de virulencia para diferentes cepas de *C. psittaci*, a pesar de varios esfuerzos para subdividir este grupo heterogéneo de microorganismos. Con base en la morfología de las inclusiones citoplásmicas y a su comportamiento en cultivos celulares ha sido posible distinguir por lo menos 8 diferentes biotipos (107). Sin embargo, la reproducibilidad de este método de biotipificación requiere de experiencia, y es muy laborioso.

III. Interacción clamidia-célula huésped en cultivos celulares

Todas las cepas de clamidias pueden multiplicarse en las células trofoblásticas del saco vitelino de embriones de pollo. Sin embargo, cuando se utilizan embriones de pollo, es difícil analizar la interacción clamidia-huésped a nivel celular, y la purificación del microorganismo es tediosa (06, 31, 59). Además, cuando se intenta el aislamiento en embriones de pollo a partir de ciertas muestras clínicas (como materias fecales, placenta, etc.), el sobrecrecimiento de bacterias contaminantes es difícil de controlar (31).

Durante los últimos años, las condiciones para el cultivo *in vitro* de clamidias en cultivos celulares se han mejorado significativamente. Mientras que el crecimiento de *C. trachomatis* en vivo está generalmente restringido a unos cuantos tipos celulares en el humano, una gran variedad de líneas celulares tanto de origen humano como de origen animal, permiten el crecimiento *in vitro* de este agente infeccioso (57, 59, 108, 109). De las líneas celulares evalua-

das, las células McCoy (fibroblastos de ratón) y una sublínea de las células Hela (Hela 229 de cérvix humano) han demostrado ser las más uniformemente susceptibles. De manera similar, en el caso de *C. psittaci* una gran cantidad de líneas celulares de origen mamífero o aviar han sido utilizadas para el cultivo *in vitro*, pero las células L (clonas 929 y 5b, fibroblastos de ratón) son las más utilizadas (46, 57, 110).

En general, las cepas del biotipo LGV de *C. Trachomatis* y cepas de origen aviar de *C. psittaci*. se multiplican relativamente bien en cultivos celulares. Sin embargo, las cepas de *C. trachomatis* correspondientes a los biotipos tracoma y neumonitis del ratón. y la mayoría de las cepas de *C. psittaci* aisladas de mamíferos. se adhieren en forma ineficiente a los cultivos celulares (99, 107, 111). Por lo tanto, la búsqueda de métodos óptimos para el cultivo *in vitro* de estas cepas fastidiosas continúa en forma activa.

La infectividad de cepas fastidiosas de clamidias en cultivos celulares, puede incrementarse auxiliando a las fases iniciales del proceso de infección, como son la fase de adherencia de los CEs a la membrana citoplásmica de la célula huésped y la endocitosis de los CEs una vez adheridos; y creando un ambiente intracelular más favorable para la multiplicación del parásito. El método más eficiente consiste en la centrifugación del inóculo sobre el monoestrato celular (111, 112, 113, 114). El mecanismo por medio del cual funciona este método es incierto. La máxima infectividad se obtiene utilizando fuerzas centrífugas lo suficientemente grandes como para ocasionar la sedimentación de los CEs presentes en el inóculo 10000 x g). aunque también fuerzas centrífugas mucho menores (como 70 x g) aumentan la infectividad de las clamidias significativamente (115, 116), lo cual sugiere que la sedimentación de los CEs sobre el monoestrato celular no es un factor esencial para el aumento de la infectividad *in vitro*. Los autores Allan y Pierce (112, 115) han sugerido que la centrifugación induce cambios morfológicos tanto en la membrana citoplásmica como en el citoesqueleto de las células huéspedes y que estos cambios hacen que los receptores ocultos sean expresados en la superficie celular, promoviendo así la adherencia y la endocitosis de las

clamidias. Sin embargo, los estudios realizados por otros autores (117) sugieren que durante la centrifugación, la primera fase del proceso de infección, la fase de adherencia, no se lleva a cabo.

Muchos procedimientos han sido también utilizados para aumentar la entrada y la multiplicación de las clamidias en cultivos celulares (107, 108, 116, 118, 119, 120). De éstos, el uso de dietilamino etil dextrano (DEAE dextrano) y la cicloheximida han sido los mejor caracterizados.

El DEAE-dextrano es un polielectrolito que se utiliza para neutralizar cargas negativas en la superficie de la célula huésped con el fin de aumentar la infectividad de cepas de clamidia del biotipo tracoma, (68, 108) y de muchas cepas de *C. psittaci* de origen mamífero (107). Este procedimiento no tiene ningún efecto sobre la infectividad de cepas del biotipo LGV o sobre cepas de *C. psittaci* de origen aviar. El uso del DEAE-dextrano aunque menos eficiente, representa una alternativa a los laboriosos procedimientos de centrifugación antes descritas (121).

La cicloheximida es un antibiótico glutarimídico que inhibe la síntesis de proteínas en células eucarióticas pero que no afecta el metabolismo de organismos procarióticos (122). La adición de cicloheximida a cultivos celulares infectados con clamidias, aumenta consistentemente la formación de inclusiones citoplásmicas por cepas de ambas especies de *Chlamydia* (113, 116, 118, 123). Se piensa que la cicloheximida aumenta la infectividad de las clamidias aumentando la disponibilidad de aminoácidos en el citoplasma de la célula huésped y reduciendo la competencia celular por las mismas (123, 124). El uso de la cicloheximida puede combinarse con los procedimientos de centrifugación o con el uso del DEAE-dextrano para aumentar en forma sinérgica la infectividad de las clamidias *in vitro*. (118, 125, 126).

IV. Propiedades antigénicas de las clamidias

Las clamidias son organismos antigénicamente complejos. Su genoma de 3.6 a 6.6 X 10⁸ daltones es relativamente pequeño comparado con el resto de los procariotes. De cual

quier manera, si la totalidad del genoma fuera expresado, tienen una capacidad para codificar teóricamente de 4 a 8×10^7 proteínas de un peso molecular promedio de 40,000 daltones, cada una de las cuales es potencialmente antigénica (42). A pesar de esta complejidad algunos antígenos han sido caracterizados en detalle.

1. Antígenos específicos del género

Todos los miembros del género *Chlamydia* comparten un antígeno común termoestable, cuya naturaleza química es la de un glicolípido con peso molecular de 10000 daltones. Este antígeno, está asociado con la membrana externa de la pared celular y está presente durante todo el ciclo evolutivo (61,62, 64, 65, 127, 128). Puede ser extraído a partir de CE's mediante el tratamiento con duodecil sulfato de sodio, desoxicolato de sodio, ácidos y álcalis, éter, cloroformo o fenol (65,127,128).

La estructura y actividad biológica del glicolípido de *Chlamydia* son muy similares a las de la porción más interna del lipopolisacárido (LPS) de las enterobacterias (64). Es activo en la prueba del lisado de amebocito *Limulus* y en la prueba de pirógeno en ratones, pruebas que detectan la porción lípido A del LPS (64). También se han descrito reacciones antigénicas cruzadas entre el glicolípido del género *Chlamydia* y el LPS de cepas de *Acinetobacter calcoaceticus* var *anitratus* y de *Salmonella* spp. del quemotipo rugoso Re (64,129,130).

Los análisis químicos recientes del glicolípido de *Chlamydia* así como los estudios antigénicos utilizando anticuerpos monoclonales, han revelado la presencia de constituyentes típicos de LPS (D-glucosamina, ácidos grasos hidroxílicos de cadena larga, ácido 2-ceto-3-desoxioctónico (KDO) y fosfato) y la presencia de 2 epítopes uno de los cuales reacciona en forma cruzada con el LPS de las bacterias gram negativas antes mencionadas y otro que es específico del género *Chlamydia* (64, 131, 132, 133, 134). Además también se ha demostrado recientemente que el glicolípido de las clamidias posee un tercer componente antigénico el cual reacciona en

forma cruzada con el lípido A purificado de enterobacterias. Sin embargo, al igual que en el LPS de las enterobacterias, la antigenicidad del lípido A de las clamidias es críptica y solo es expuesta después de una hidrólisis ácida. En base a todas estas evidencias, se ha sugerido que el glicolípido de las clamidias es un LPS integrado por un lípido A similar al del LPS de las enterobacterias y de 3 residuos de KDO (133).

Las funciones biológicas del LPS de las clamidias, no han sido determinadas, pero la naturaleza conservada del epítotope específico del género, sugiere una función esencial para la existencia intracelular de este parásito y al mismo tiempo es posible que tenga un papel importante en los mecanismos patogénicos a nivel molecular del género *Chlamydia* (69, 135, 136).

También se ha descrito otro antígeno termolábil específico del género *Chlamydia*. sin embargo este no ha sido bien caracterizado (65).

2. Antígenos específicos de especie

Además de los antígenos específicos del género, las clamidias poseen también antígenos específicos de especie.

Caldwell y colaboradores (78, 137), aplicando la técnica de inmunoelectroforesis cruzada a extractos de clamidias solubilizados con triton x-100, resolvieron 19 y 16 antígenos a partir de una cepa de *C. trachomatis* (cepa LGV-434) y una cepa de *C. psittaci* (cepa meningoneumonitis) respectivamente. Estos antígenos fueron distintos puesto que solo un componente presentó reacción recíproca cruzada. Este antígeno es el segundo antígeno específico del género, mencionado anteriormente.

Como los 18 antígenos restantes obtenidos a partir de la cepa LGV 434, mostraron reacciones cruzadas extensas con un antisuero obtenido mediante una cepa del biotipo tracoma, se asumió que estos antígenos son específicos de la especie *C. trachomatis*. La aparente naturaleza proteínica y su dependencia en detergentes no iónicos para mantener la solubilidad, sugiere que estos antígenos son predominantemente

antígenos membranales (65).

Estudios posteriores mostraron que uno de los 18 antígenos de *C. trachomatis* era precipitado consistentemente por el suero de pacientes que padecían infecciones causadas por *C. trachomatis* (138). Este antígeno inmunodominante específico de *C. trachomatis*, fue purificado e identificado inicialmente como una proteína monomérica termolábil, con un peso molecular aproximado de 155000 daltones. Sin embargo, estudios recientes utilizando anticuerpos monoclonales sugieren que este antígeno es un agregado tetramérico de la proteína principal de la membrana externa (PPME) de las clamidias, cuyo peso molecular es de 40000 daltones (139).

3. Antígenos específicos de serotipo

Los antígenos específicos de serotipo son compartidos sólo por cepas cercanamente relacionadas y de la misma especie de *Chlamydia*. Estos antígenos son generalmente detectados por microinmunofluorescencia, prueba que ha sido adoptada como procedimiento estándar para la serotipificación de *C. trachomatis*, permitiendo la diferenciación de 15 serotipos (59, 65, 140, 141, 142). Con este método, las cepas desconocidas son tipificadas en una prueba de inmunofluorescencia indirecta, probándolas con antisueros preparados mediante inmunización intravenosa de ratones con cepas prototipo, o mediante un panel de anticuerpos monoclonales (141, 143).

Los serotipos pertenecientes al biovar tracoma, son designados con las letras A a la K, incluyendo al serotipo Ba. Estos serotipos tienden a agruparse de acuerdo a su distribución geográfica y a su potencial patogénico (59). Así pues, los aislamientos de conjuntiva ocular en áreas donde el tracoma es endémico, corresponden principalmente a los serotipos A, B, Ba y C; mientras que, los aislamientos de conjuntiva ocular y aislamientos del tracto genital no pertenecientes al biotipo LGV en áreas libres de tracoma, corresponden principalmente a los serotipos D, E, F y G. Los serotipos pertenecientes al biotipo LGV son designados L1, -L2 y L3.

Los antígenos específicos de serotipo forman un espectro

continuo de reactividad antigénica cruzada, que abarca tanto al biotipo tracoma como al biotipo LGV, pero los títulos máximos son obtenidos con los antígenos homólogos, y el patrón de reacciones cruzadas heterólogas es definitivo para cada serotipo (59, 142).

La actividad inmunológica específica de serotipo reside principalmente, pero no exclusivamente, en las porciones expuestas de la PPME de la pared de las clamidias (144, 145, 146).

Un análisis estructural y antigénico mediante mapeo peptídico de la PPME de una cepa de *C. psittaci* y de 5 cepas de *C. trachomatis*, mostró que la PPME de las dos especies de *Chlamydia*, son antigénicamente distintas (144, 147). Aún más, anticuerpos monoclonales y sueros policlonales inducidos con moléculas de PPME desnaturalizadas mediante duodecil sulfato de sodio, permitieron la identificación de epitopes específicos de especie, específicos de subespecie y específicos de serotipo, indicando que la PPME de las clamidias es un antígeno complejo, el cual posee porciones constantes y porciones variables (139, 141, 144, 148).

Se han descrito otras proteínas de membrana para los serotipos A, B y C de *C. trachomatis*, con especificidad de serotipo y con un peso molecular de 30000 daltones (149). La función biológica de los antígenos específicos de serotipos antes descritos es desconocida, pero parecen representar factores de virulencia que operan en las fases iniciales del proceso infeccioso. Estos antígenos parecen modular los eventos críticos de adherencia, endocitosis inducida, inhibición de la fusión fagolisosomal, toxicidad y las respuestas inmunes del huésped que contribuyen tanto a la inmunidad como a los procesos inmunopatológicos (65, 135, 150, 151, 152).

Aún no se han realizado con *C. psittaci*, análisis estructurales y antigénicos similares a los efectuados con *C. trachomatis*. Sin embargo, es de esperarse que la PPME de *C. psittaci* sea tan heterogénea antigénicamente como la de *C. trachomatis*.

En el caso de cepas de *C. psittaci* aisladas de bovinos y ovinos, la prueba de reducción de placas arrojó evidencia de que los antígenos específicos pudieran ser factores de virulencia específicos de enfermedad (153, 154). Con este mé-

todo, las diferentes cepas fueron subdivididas en dos amplios inmunotipos. El inmunotipo 1 incluyó a cepas asociadas con abortos, enteritis e infecciones intestinales subclínicas en ambas especies. El inmunotipo 2 fue representado por cepas asociadas a conjuntivitis, poliartritis y encefalomiелitis, también en ambas especies.

En un estudio más reciente (155), 25 cepas de *C. psittaci* aisladas de bovinos, ovinos, caprinos, felinos, equinos, porcinos y del cuyo, fueron estudiadas mediante una modificación de la prueba de microinmunofluorescencia utilizada para la serotipificación de *C. trachomatis*. Esta prueba permitió la diferenciación de las 25 cepas en 9 inmunotipos diferentes, cada uno de los cuales mostró cierto grado de especificidad en cuanto a huésped natural y potencial patogénico. El inmunotipo 1 fue representado principalmente por cepas aisladas de ovinos y bovinos afectados con abortos, vesiculitis seminal, neumonía o infecciones intestinales subclínicas. El inmunotipo 2 incluyó también cepas aisladas de ovinos y bovinos, pero con un potencial patogénico representado por problemas de poliartritis, encefalitis y enteritis (155).

Los inmunotipos 4, 5 y 6 incluyeron principalmente cepas porcinas, asociadas con poliartritis o infecciones generalizadas, con infecciones intestinales inaparentes, o con abortos y neumonías respectivamente.

El inmunotipo 7 incluyó a la cepa vacunal de la neumonitis felina y a otra cepa inciertamente asociada a neumonías en becerros.

Finalmente, el inmunotipo 8 fue representado por una cepa de la conjuntivitis de inclusión del cuyo.

Las bases moleculares de las relaciones antigénicas observadas en el estudio antes mencionado no fueron determinadas. Sin embargo, es aceptado que la prueba de microinmunofluorescencia, en donde se utilizan anticuerpos tempranos de ratón, detecta principalmente la actividad antigénica inmunodominante de la PPME de las clamidias.

REFERENCIAS

1. Becker, Y.: The Chlamydia: Molecular biology of procaryotic obligate parasites of eucaryocytes. *Microbiol. Rev.* 42:274-306, 1978.

2. Moulder, J. W.: The relation of the psittacosis group (*Chlamydiae*) to bacteria and viruses. *Ann. Rev. Microbiol.* 20:107-130, 196G.
3. Byrne, G. I. and Faubion, C. L.: Inhibition of *Chlamydia psittaci* in oxidatively active thioglycolate-elicited macrophages: distinction between lymphokine-mediated oxygen-dependent and oxygenindependent macrophage actiyation. *Infect. Immun.* 40 :464-471, 1984.
4. Byrne, G. I. and Kruegen, D. A.: Lymphokine-mediated inhibition of *Chlamydia* replication in mouse fibroblastes is neutralized by antigamma interferon immunoglobulin. *Infect immun* 42: 115:1158, 1983.
5. Maza, M. de la, Peterson, E. M., Goebel, J. M., Fennie C. \V. and Czarniechki, C. W.: Interferon-induced inhibition of *Chlamydia trachomatis*: Dissociation from antiviral and antiproliferative effects. *Infect. Immun.* 47:719-722, 1983.
6. Ruthermel, C. D., Byrne, G. I. and Havell, E. A.: Effect of interferon on the growth .of *Chlamydia trachomatis* in mouse fibroblasts (L-Cells). *Infect. Immun.* 39 :362-370, 1983.
7. Ruthermel, C. D., Rubin, B. Y. and Murray, H. W.: Gammainterferon is the factor in lymphokine that activates human macrophages to inhibit intracellular *Chlamydia psittaci* replication. *J. Immunol.* 131 :2542-2544, 1983.
8. Scemer, Y. and Sarov, I.: Inhibition of growth of *Chlamydia trachomatis* by human gamma interferon. *Tnfert. Immun.* 48: 592-596, 1984.
9. Moulder, J. W.: *The psittacosis #101# as bacteria*. Ciba lectures in Microbial biochemistry. Johl]. "Tiley & Sons., 1964.
10. Cevenini, R., Lan.dini; M .. P .. Donati, M. and Rumpianesi. F.: Antimicrobial drug susceptibility of H; strains of *Chlamydia trachomdtis* recently isolated from cases of non-gonococcal urethritis in Italy. *J. Antimicrob. Chemofher.* 6:285-300, 1980.
11. Hammerschlaq, M. R. and Gleyzer, A.: *Tn vitro* activity of a group of broad-spectrum cephalosporins and other B-lactam antibiotics against *Chlamydia trachomatis*. *Antimicrob. Agents Chem- other ..* 23 :493-494, 1983.
12. Johnson, F. W. A., Clarkson, M . .T. and Spencer, \V. N.: Surceptibility of *Chlamydia sittaci* (rvis-) to antimicrobial agents. *J. Antimicrob. Chemothe.* 11 :413-418. J083.
13. Joseph. T., Nano, F. E., Garon. C. F. and Caldwell, II. D.: Molecular characterization of *Chlamydia trachomatis*; and *ChlaInydia psittaci* plasmids. *Infect. immun.* 51 :699-703, 1086.
14. Page, L.: Obligately intracelular bacteria. The genus *Ch!amudia*. In: M. P. Starr *al* (eds) *the prokaryotes, Vol. II.* Pp.. 2210-222 Springer-Verlag. N. Yo, 1081.
15. Richmond, S. J;; Stirling,P. and-Ashley, -C: R.: Virus infecting the reticule bodies of an aviau strain of *Chlmnydia Sitacci*. *FEMS Microbiol. Lett.* 14:31-36, 1983.

16. Storz, J. and Spears, P.: *Chlamydiales*: Properties, cycle of development and effect on eukaryotic host cells. *Curro Topics Microbial. Immunol.* 76:167-214, 1977.
17. Tarizzo, M. L. and Nabli, B.: The effect of antibiotics on the growth of TRIC agents in embryonated eggs. *A.m. J. Ophthalmol.* 63:1150/520-1157/531, 1967.
18. Barbour, A. G., Amana, K. I., Hackstad, T., Perry, L. and Caldwell, H. D.: *Chlamydia trachomatis* has penicillin-binding proteins but not detectable muramic acid. *J. Bacteriol.* 151: 4'20428, 1982.
19. Caldwell, H. D, Kromhout, J. and Schachter, J.: Purification and partial characterization of the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*. *Infect. Immun.* 31:1161-1176, 1981.
20. Garret, A. J., Harrison, M. J: and Mamire, G. P.: A seatch for the bacterial mucopeptide component, muramic acid, in *Chlamydia*. *J. Gen. Microbial.* 80:315-318, 1974.
21. Baviol, P., Ohlin, A. and Schachter, J.: Role of disulfide bond· ing in outer membrane structure. and permeability in *Chlamydia trachomatis* *Infect. Immun.* • 44:479-485, 1984.
22. Hatch, T. P., Allan, I. and Pearce, J .H.: Structural and polypeptide differences between envelopes of infective and reproductive life cycle forms of *Chlamydia spp.* . *J. Bacteriol.* 157-1320, 1984.
23. Newhall, W. J. and Jones, R. B.: Disulfide-linked oligomers of the major outer membrane protein of *chlamydiae*. *J. Bacteriol.* 154 :998-1001, 1983.
24. Nurminen, M., Loundatmaa, K., Leinonen, M. and Wanlstrom, E.: The effect of mercaptoethanol on the solubilization of the 39.5 Kd major outer membrane protein of elementary bodies of *Chlamydia trachoma tis* and purification of the protein. *FEMS Microbial. Lett.* 24:185-191, 1984.
25. Gregory, W. W., Gardner, M., .Byrne, G. ~. and Moulder, J. W.: Arrays of *Chlamydia trachomatis* observed by scanning electron microscopy. *J. Bacteriol.* 138 :241-244, 1979.
26. Louis, C., Nicolas, G., Francois, E. B., Lefebvre, J. F. and OrfiIa, J.: Modifications of the envelope of *Chlamydia psittaci* during its developmental cycle: Freeze-fracture study of complementary replicas. *J. Bactericl.* 141 :868-87-5, 1980.
27. Matsumoto, A.: Electron microscopic observations of surface projections and related intracellular .structures of chlamydia organisms. *J. Electron Microsc.* 30 :315 ... 320, 1981.
28. Soloff, B. L., Ran~, R. G. and Barrpn, A. L.: Ultrastructural studies of chlamydial infections in guinea-pig urogenital tract. *J. Camp. Path.* 92:.547-558, 1982.
29. Matsumoto, A.: Isolationd and electron microscopic observations of intracytoplasmic inclusions containing *Chlamydia psittaci*. *J. Bacterial.* 145:605-612, 1981.
30. Hatch, T. P., AI-Hossainy, E. and Silverman, J. A.: Adenine

- nucleotide and lysine transport in *Chlamydia psittaci*. *J. Bacteriol.* 150:662-670, 1982.
31. Moulder, J. W.: A model for studying the biology of parasitism *Chlamydia psittaci* and mouse fibroblast (L-cells). *Bioscience.* 19 :875-881, 1969.
 32. Friis, R.: Interaction of L-cells and *Chlamydia psittaci*; Entry of the parasite and host responses to its development. *J. Bacteriol.* 110:706-721, 1972.
 33. Todd, W. J., Doughri, A. M. and Storz, J.: Ultrastructural changes in host cellular organelles in the course of the chlamydial developmental cycle. *Zbl. Bakt. Hyg, I. Abt. Orig. A.* 236 :359373, 1976.
 34. Byrne, G. I. and Moulder, J. W.: Parasite-specified phagocytosis of *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia trachomatis* by Land HeLa cells. *Infect. Immun.* 19 :598-606, 1978.
 35. Doughri, A. M., Storz, J. and Altera, K .P.: Mode of entry and release of chlamydiae in infections of intestinal epithelial *Infect. Dis.* 126:652-657, 1972. cells. J.
 36. Bard, J. and Levitt, D.: *Chlamydia trachomatis* (L2 serovar) binds to distinct subpopulations of human peripheral blood leukocytes. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 38:150-160, 1986.
 37. Bose, S. K. and Smith, G. B.: Positive cooperativity in the adherence between elementary bodies of *Chlamydia trachomatis* strain UW-31 and HeLa cells. *FEMS Microbiol. Lett.* 23:55-58, 1984.
 38. Heckstadt, T.: Identification and properties of Chlamydial polypeptides that bind eucaryotic surface components. *J. Bacteriol.* 165: 13-20, 1986.
 39. Hatch, T. P., Vance, D. W. and Alhossainy, E.: Attachment of *Chlamydia psittaci* to formaldehyde-fixed and unfixed L-Cells. *J. Gen. Microbiol.* 125 (part 2): 273-283, 1981.
 40. Levy, N. J.: Wheat germ agglutinin blockage of chlamydial attachment sites: Antagonism by N-Acetyl-D-Glucosamine. *Infect. Immun.* 25 :946-953, 1979.
 41. Levy, N. J. and Moulder, J. W.: Attachment of cell walls of *Chlamydia psittaci* to mouse fibroblast (L-cells). *Infect. Immun.* 37:1059-1065, 1982.
 42. Moulder, J. W., Hatch, T. P., Ruo, C-C, Schachter, J. and Storz, J.; Genus 1 Chlamydia. In: Noel R. Krieg and John G. Holt (eds). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 1:*229-239, Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland, 1984.
 43. Wenman, W. M. and Parachych, W.: *Chlamydia trachomatis* elementary bodies possess proteins which bind to eucaryotic cell membranes. *J. Bacteriol.* 165:602-607, 198G.
 44. Wolner-Hanssen, P. and Mardh, P. A.; *In vitro* tests of the adherence of *Chlamydia trachomatis* to human spermatozoa. *Fertility and Sterility.* 42; 102-107, 1984.
 45. Wenman, W. M. and Meuser, R. V.: *Chlamydia trachomatis*

- elementary bodies possess proteins which bind to eucaryotic cell membranes. *J. Bacteriol.* 165:602-607, 1986.
46. Byrne, G. I.: Requirements for ingestion of *Chlamydia psittaci* by mouse fibroblasts (L-cells). *Infect. Immun.* 14:645-651, 1976.
 47. Eissenberg, L. G. and Wyrick, P. B.: Inhibition of phagolysosome fusion is localized to *Chlamydia psittaci*-laden vacuoles. *Infect. Immun.* 32 :889-896, 1981.
 48. Eissenberg, L. G., Wyrick, P. B., Davis, D. H. and Rumpp, J. W.: *Chlamydia psittaci* elementary body envelopes: Ingestion and inhibition of phagosome-lysosome fusion. *Infect Immun.* 40: 741-751, 1983.
 49. Hanunerslag, M. R., Suntharalingam, K. and Fikrig, S.: The effect of *Chlamydia trachomatis* on luminol dependent chemiluminescence of human polymorphonuclear leukocytes: Requirements for opsonization. *J. Infect. Dis.* 151 :1045-1051, 1985.
 50. Zelchner, S. L.: Isolation and characterization of macrophage phagosomes containing infectious and heat-inactivated *Chlamydia psittaci*. Two phagosomes with different intracellular behaviors. *Infect. Immun.* 40:956-966, 1983.
 51. Brownridge, E. and Wyrick, P. B.: Interaction of *Chlamydia psittaci* reticulate bodies with mouse peritoneal macro phages. *Infect. Immun.* 24:697-700, 1979.
 52. Stokes, G. V.: *Chlamydia psittaci*: Inclusion vacuole ultrastructure. *Can. J. Microbiol.* 26:396-401, 1980.
 53. Hackstadt, T., Todd, W. J. and Caldwell, H. D.: Disulfide- mediated interactions of the chlamydial major outer membrane protein: Role in the differentiation of *Chlamydiae*. *J. Bacteriol.* 161 :25-31, 1985.
 54. Allan, I., Hatch, T. P. and Pearce, J. H.: Influence of Cysteine deprivation on chlamydial differentiation from reproductive to infective life-cycle forms. *J. Gen. Microbiol.* 131:3171-3177, 1985.
 55. Hatch, T. P., Miceli, M. and Sublett, J. E.: Synthesis of disulfide bonded outer membrane-proteins during the developmental cycle of *C. psittaci* and *C. trachomatis*. *J. Bacteriol.* 165 :379-385, 1986.
 56. Todd, W. J. and Storz, J.: Ultrastructural cytochemical evidence for the activation of lysosomes in the cytotoxic effect of *Chlamydia psittaci*. *Infect. Immun.* 12:638-646, 1975 .
 57. Storz, J.: *Chlamydia and chlamydia-induced diseases*. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1971.
 58. Thomas, D., Orfila, F. and Bissac, E.: Accion de differents antiseptiques sur *Chlamydia trachomatis*. *Path. Biol.* 32: 544-546, 1984.
 59. Grayston, J. T. and Wang S-P.: New knowledge of *chlamydiae* and the diseases the cause. *J. Infect. Dis.* 132 :87-105, 1975.
 60. Storz, J. and Page, L. A.: Taxonomy of the *Chlamydiae*: Reasons for classifying organisms of the genus *Chlamydia*, family *Chlamydiaceae*, in a separate order, *Chlamydiales* ord. novo into *J. Syst. Bacteriol.* 21 :332-224, 1971.

61. Dhill, S. P., Hakomori, S., Kenny, G. E. and Grayson, T.: Immunochemical studies on chlamydial group antigen (presence of a 2-keto-3-deoxycarbohidrate as immunodominant group). *J. Immunol.* 109:116-122, 1972.
62. Dhir, S. P., Kenny, G. E. and Graystone, J. T.: Characterization of the group antigen of *Chlamydia trachoma tis*. *Infect Immun.* 4:725-730, 1971.
63. Howard, L. V., Coleman, P. F., England, B. J. and Herrmann, J. E.: Evaluation of chlamydiazyme for the detection of genital infections caused by *Chlamydia trachomatis*. *J. Clin. Microbiol.* 23: 329-332, 1986.
64. Nurminen, M., Leinonen, M., Saikku, P. and Makela, P. H.: The genus specific antigen of *Chlamydiae*: Resemblance to the lipopolysaccharide of enteric bacteria. *Science.* 220:1279-1281, 1983.
65. Schachter, J. and Caldwell, H. D.: *Chlamydiae*. *Ann. Rev. Microbiol.* 34 :285-309, 1980.
66. Tjram, K. H., van Heijst, B. Y. M., van Zuuren, A., Wagenvoort, J. H. T., van Joost, T., Stolz, E. and Michel, M. F.: Evaluation of an enzyme immunoassay for the diagnosis of chlamydial infections in urogenital specimens. *J. Clin. Microbiol.* 23 :752-754, 1986.
67. Brunham, R. C., Kuo, C. C. and Chen, W-J.: Systemic *Chlamydia trachomatis* infection in mice: A comparison of lymphogranuloma venereum and trachoma biovars. *Infect. Immun.* 48 :78-82, 1985.
68. Kuo-C-C, Wang S-P and Grayston, J. T.: Differentiation of TRIC and LGV organisms based on enhancement of infectivity by DEAE-dextran in cell culture. *J. Infect. Dis.* 125:313-317, 1972.
69. Boulder, J. 'V.: A primer for *Chlamydiae*. In: P. A. Mardh *et al.* (eds), *Chlamydial infections*. Pp. 3-14. Elsevier Biomedical Press., 1982.
70. Johannisson, G.: Studies on *Chlamydia trachomatis* as a cause of lower urogenital tract infection. *Acta Dermato Venereologica Suppl.* 93:1-55, 1981.
71. Schachter, J.: Perinatal chlamydial infections. *Isr. J. Med. Sci.* 19 :936-939, 1983.
72. Schachter, J. and Dawson, C. R.: *Human chlamydial infections*. PSG Publishing Co., Littleton, Massachusetts, 1978.
73. Schachter, J. and Dawson, C. P.: Chlamydial infections. A worldwide problem: Epidemiology and implications for trachoma therapy. *Sexually Transmitted Dis.* 8:167, 1981.
74. Schachter, J. and Grossman, M.: Chlamydial infections. *Ann. Rev. Med.* 32:45-61, 1981.
75. Thompson, S. E. and Washington, A. E.: Epidemiology of sexually transmitted *Chlamydia trachomatis* infections. *Epidemiol. Rev.* 5:96-123, 1983.
76. Weisburg, W. G.: Eubacterial origin of chlamydia!. *J. Bacteriol.* 167 :570-574, 1986.
77. Weiss, E.: Evolution of *Chlamydia*. In: R. L. Nichols (ed).

Trachoma, . -and related disorders- fausec(by: chlamydial agents. pp. 3-12
Excerpta Medica, 1971.

78. Caldwell, H. D., Kuo, C. C. and Kenny, G. E.: Antigenic analysis of *Chlamydiae* by two-dimensional immunoelectrophoresis. II. A trachoma LGV-specific antigen. *J. Immunol.* 115:969-975, 1975.
79. Appleyard, W. T., Atken, I, D. and Anderson, I.: Outbreak of chlamydial abortion in goats. *Ve't. Rec.* 113:63, 1983.
80. Gunson, DE., Acland, H. M., Gillette, D. M: and Pearson, J. E.: Abortion and stillbirth associated with C: *PSittaci* in dahi goats with high titers to *Toxoplasma gondii*, -*J. Am. -Vet. Med. AS8n.* 183:1447-1450, 1983.
81. Hargis, A. M., Prieur, D. J: and Gaillard, T.: Chlamydial infection of the gastric mucosa lfl twelve· cats. *Vet. Pathol.* 20: 170-178, 1983.
82. Johnson, F. \V. A.: Isolation of *Chlamydia psittaci* from nasal and conjunctival exudate of a domestic cat. *Vet. Rec.* 114:342344, 1984.
83. McChesney, S. L., England,-J. J. and· McChesney, A. E.: *Chlamydia psittaci* induced pneumonia" in a horse. *Cornell Vet.* 72: 92-V7, 1982.
84. McColl, K. A., Martin, R. W., Gleeson, L,;J: Handasyde, K. A. and Lee, A. K.: Chlamydia infection and infertility in the female koala. *Vet. Rec.* 115:656, 1984 ..
85. Sarma, D. K, Tartiuli, M. K., Rahman, T., Boro, B. R., Deke, B. C. and Rajkonwar, C. K.: Isolation of Chlamydia from a pig with lesions in the urethra and prostate glandl. *Vet. Rec.* 112: 525, 1983.
86. Storz, J. and Krauss, H.: *Chlamydia*. In: H. Biobel and T. Schliesser (ed). *Handbok of Bacterial Infections in Animals*, pp. 447-531. Fischer Verlag, Jena, East Germany, 1985.
87. Wills, J., Gruffydd-Jones, Richmond, S. and Paul, I. D.: Isolation of *Chlamydia psitaci* from cases at conjunctivitis in a colony of cats. *Vet. Rec.* 114:344-346, ·1984 ..
88. Shewen, P. E.: Chlamydial infection in animals: A review. *Can. Vet. J.* 21:2-11, 1980.-·
89. Chlamers, W. S. K.: Incidence of chlamydial antibodies in commercial duck flocks. *Vet. Rec.* 11~:651-652, 1984.
90. Grimes, J. E.: Transmission, of, *Chlamydiae* from _ grackles to turkeys. *Avian Dis.* 22: 308-312, ~978.
91. Johnson, F. W. A., Lyon, D. G., Wilkinson, R., Bloomfield, P. and Philips, H. C.: Isolation of *Chlamydia psittac.i* from newly imported keas. *Vet. Rec.* 114:298-299, 1984 .
92. Page, L. A.: Chlamydiosis (orpithosis). In: -Hoftad et al (eds). *Diseases of Poultry*. pp. 414-447 6th ed. Iowa State Press., 1972.
93. Roberts, J. P. and Grimes, J. E.: *Chuiimyditr* shedding by four species of wild birds., *Avian Dis.* 22:698-706, 1978.
94. Ruppanner, Ro, Behymer, D. E., De Long 'III, W. J:; Franti, C.

- E and Schulz, T.: Enzyme immunoassay of *Chlamydia* in birds. *Avian Dis.* 28:608-615. 1984.
95. Becerra, V. M., Ata, F. A. and Storz, J.: Studies on the response of ewes to live *Chlamydiae* adapted to chicken embryo or tissue culture. *Can J. Compo Med.* 40 :46-52. 1976.
 96. Grimes, J. E. and Panigrahy, B.: Potential increase of Chlamydiosis (Psittacosis) in pet bird owners in Texas. *Texas Medicine.* 74 :74-77. 1978.
 97. Johnson, F. W. A., Matheson, B. A., Williams, H., Lains, A. G; Jandial, V., Davidson-Lamb, R., Halliday, G. J., Hobson, D., Wong, S. Y., Hadley, K. M., Moffat, M. A. J. and Postletwaite, R.: Abortion due to infection with *Chlamydia psittaci* in a sheep farmer's wife. *Br. Med. J.* 290 :592-594, 1985.
 98. Regan, R. J., Dathan, J. R. E. and Treharne, J. D.: Infective endocarditis with glomerulonephritis associated with cat *Chlamydia (C. psittaci)* infection. *Hr. Heart J.* 42:349-352. 1979.
 99. Schachter, J., Sugg, N., Sung, M.: Psittacosis: The reservoir persists. *J. Infect.Dis.,* 137:44-49. 1978.
 100. Wachendorfer, V. G. and Lohrback, W.: The present knowledge concerning pathogenicity of mammalian chlamydial strains. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift.* 93:248-251, 1980.
 101. Howerth, E.W.: Pathology of naturally occurring chlamydiosis on African clawed frogs (*Xenopus laevis*). *Vet. Pathol.* 21:2832. 1984.
 102. Moulder, J. W.: Looking at *Chlamydiae* without looking at their hosts. *American Society for Microbiology News.* 50-353-362, 1984.
 103. Shay, M. T., Bettica, A., Vernon, G. M. and Witkus, E. R.: *Chlamydia sipodii* spp. n., and obligate intracellular parasite of *cellio Bcaber*. *Expl. Cell Biol.* 53:115-120, 1985.
 104. Gaillard, E. R., Hargins, A. M., Prieur, D. J., Evermann, J. F. and Dhillon, A. S.: Pathogenesis of feline gastric chlamydial infection. *Am. J. Vet. Res.* 45:2314-2321, 1984.
 105. Perez-Martinez, J. A. and Storz, J.: *Chlamydial* infections in cattle Part 1 and Part 2. *Med. Vet. Pract.* 66:517-522; 603-608. 1985.
 106. Pienaar, J. G. and Schutte, A. P.: The occurrence and pathology of chlamydiosis in domestic and laboratory animals: A review. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 42:77-90, 1975.
 107. Spears, P. and Storz, J.: Biotyping of *Chlamydia psittaci* based on inclusion morphology and response to diethylaminoethyl-dextran and cycloheximide. *Infect. Immun.* 24:224-232, 1979.
 108. Kuo, C-C, Wang, S-P and Grayston, J. T.: Effect of polycations., polyanions and neuraminidase on the infectivity of trachomainclusion conjunctivitis and lymphogranuloma venereum organisms in BeLa cells: Sialic acid residues as possible receptors for trachoma inclusion conjunctivitis. *Infect. Immun.* 8:74-79, 1973.
 109. Moorman, D. R., Sixbey, J. W. and Wyrick, P. B.: Interaction

- of *Chlamydia trachomatis* with human genital epithelium in culture. *J. Gen. Microbiol.* 132:1055-1067, 1986.
- Pérez-Martínez, J. A. and Storz, J.: Persistent infection of L cells with ovine abortion strain of *Chlamydia psittaci*. *Infect. Immun.* 50 :453-458, 1985.
- Lee, C. K.: Interaction between a trachoma strain of *Chlamydia trachomatis* and mouse fibroblast (McCoy Cells) in the absence of centrifugation. *Infect. Immun.* 31 :584-591, 1981.
- Allan, I. and Pearce, J. H.: Modulation by centrifugation of cell susceptibility to chlamydial infection. *J. G. Microbiol.* 11 :87-92, 1978.
- Spears, P. and Storz, J.: *Chlamydia psittaci*: Growth characteristics and enumeration of serotypes 1 and 2 in cultured cells. *J. Infect. Dis.* 140 :959-967, 1979.
- Yang, D. C. T. and Paul, N. R.: Micro direct inoculation method for the isolation and identification of *Chlamydia trachomatis*. *J. Clin. Microbiol.* 23:536-538, 1986.
- Allan, I., Spragg, S. P. and Pearce, J. H.: Pressure and directional force components in centrifuge-assisted chlamydial infection of cell cultures. *FEMS. Microbiol. Lett.* 2 :79-82, 1977.
- Dennis, M. W. and Storz, J.: Infectivity of *Chlamydia psittaci* of bovine and ovine origins for cultured cells. *Am. J. Vet. Res.* 43 ;1897-1902, 1982.
- Moulder, J. W., Levy, N. J., Zeichner, S. L. and Lee, C. K.: Attachment defect in mouse fibroblasts (L-Cells) persistently infected with *Chlamydia psittaci*. *Infect. Immun.* 34 :285-291, 1981.
- Ripa, K. T. and Mardh, P-A.: Cultivation of *Chlamydia trachomatis* in cycloheximide-created McCoy cells. *J. Clin. Microbiol.* 6:328-331, 1977.
- Schachter, J., Dawson, C. R., Hoshiwara, I., Daghfous, T., and Banks.: The use of cycloheximide treated cells for isolation of trachoma agents under field conditions. *Bull. World HUh. Org.* 56 ;629-632, 1978.
120. Tessier, J.: Effects, of cortisones, cytochalasin B and cycloheximide on strains of *Chlamydia psittaci* in cell cultures. *Can. J. Camp. Med.* 47 ;352-357, 1983.
121. Kuo, C. C., Wang, S-P. Wentworth and Grayston, J. T.: Primary isolation of TRIC organisms in HeLa 229 cells treated with DEAE-dextrano. *J. Infect. Dis.* 125 ;665-668, 1972.
122. Ennis, H. L. and Lubin, M.: Cycloheximide: Aspects of inhibition of protein synthesis in mammalian cells. *Science.* 146:1474-1476, 1964.
123. Hatch, T. P.: Competition between *Chlamydia psittaci* and L-cells for host isoleucine pools: A limiting factor in chlamydial multiplication. *Infect. Immun.* 12:211-220, 1975.
124. Allan, I. and Pierce, H.: Amino acid requirements of strains of *Chlamydia trachomatis* and *C. psittaci* in McCoy cells: Relationship with clinical syndrome and host origin. *J. Gen. Microbiol.* 129:2001-2007, 1983.

Género Chlamydia

125. Clyde, Jr. W. A.; Keriny, G. E. and Schachter, J.: Laboratory diagnosis of chlamydial and mycoplasmal infections. *CUMITECH-19 -American Society Microbiology*, 1984
126. Storz, J.: Rickettsiae and Chlamydiae, In: G. R. Carter (ed). *Diagnostic procedures in veterinary Bacteriology and Mycology*, . pp .. 250. Fourth Ed. Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 1984.
127. Lamont, H. C. and Nichols, R L. N.: Immunology of chlamydial infections. In: Nanmias, A. J. ar,d O'Reilly, R. J. (eds). *Immunology of Human Infection, Part I* pp. 441-474 Plenum Pub., 1981.
128. Wahlstrom, E., Vaananen, P., Saikku, P. and Nurminen, M.: Processing of McCoy cell cultures infected with *Chlamydia trachomatis*: Sequential isolation of chlamydial elementary bodies and lipopolysaccharide. *FEMS Micro bioi. Lett.* 24:179-183, 1984.
130. 129. Brade, H. and Brunner, H.: Serological cross-reactions between *Acinetobacter calcoaceticus* and *Chlamydia*. *J. Clin. Microbiol.* 10 :819-822, 1979.
131. Brade, H. and Brunner, H.: Detection of chlamydial inclusion bodies with antisera to *Acinetobacter calcoaceticus* spp. *And Chlamydia*. *J. clin* by IFA. *Infeccion.* 8:215.-216, 1981:
132. Brade, L., Nuolinen, M., Makela, P. H. and Brade, H.: Antigenic properties of *Chlamydia trachomatis* lipopolysaccharide. *Infect. Immunol.* 48 :569-572, 1985.
133. Caldwell, H. D. and Hitchcock, P. J.: Monoclonal antibody against a genus-specific antigen of *Chlamydia* species: Localization of the epitope on chlamydial lipopolysaccharide. *Infect. Immun.* 44: 306-314, 1984.
134. Nurminen, M., Rietschel, E. T. and Brade, H.: Chemical characterization of *Chlamydia trachomatis* lipopolysaccharide. *Infect. Immunol.* 48 :573-575, 1985.
- Nurminen, M., Wahlstrom, E., Kleemole, M., Leinonen, M., Saikku, P. and Makela, P. H.: Immunologically related ketodeoxyoctonate-containing structures in *Chlamydia trachomatis*, Re mutants of *Salmonella* species, and *Acinetobacter calcoaceticus* var. anitratus. *Infect. Immunol.* 44 :609-613, 1984.
135. Nano, F. E., Barstad, P. A., Mayer, L. V., Coligan, J. E. and Caldwell, H. D.: Partial amino acid sequence and molecular cloning of the encoding gene for the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*. *Infect. Immunol.* 48:372-377, 1985.
136. Nano, F. E. and Caldwell, H. D.: Expression of the chlamydial genus-specific lipopolysaccharide epitope in *Escherichia coli*. *Science.* 228:142-744, 1985.
137. Caldwell, H. D., Kuo, C. C. and Kenny, G. E.: Antigenic analysis of *Chlamydiae* by two-dimensional immunoelectrophoresis. I. Antigenic heterogeneity between *C. trachomatis* and *C. psittaci*. *J. Immunol.* 115 :963-968, 1975.
138. Caldwell, H. D. and Kuo, C. C.: Purification of a *Chlamydia trachomatis* specific antigen by immunoadsorption with mono-

especific "antibody. *J. Immunol.* 118:431-441, 1977.

139. Stephens, R. J.; Tam, M. X., Kuo, C-C and Nowinski. R. C.: Monoclonal antibodies to *Chlamydia trachomatis*: antibody specificities and antigen characterisation. *J. Immunol.* 128 :1083-1089, 1982.
140. Coudron, P. E., Federko, D. P. ., Dowson, M. S., Kaplowitz; L. G., Brookman, R. R., Dalton, H. P. and Davis, H. A.: Detection of *Chlamydia trachomatis* in genital specimens by Microtrak direct specimen test. *Am. J. Pathol.* 85:89-91; 1986.
141. Newhall. W. J. ., Terho, P., Wilde, C. E., Batteiger, B. E. and Jones. R. B.: Serovar determination for *Chlamydia trachomatis* isolates by using type-specific monoclonal antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 23 :333-338, 1986.
142. Wang, S. P., Grayston, J. T., Alexander, E. R. and Holmes, K. K.: Simplified microimmunofluorescence test with trachoma-lymphogranuloma venereum (*Chlamydia trachomatis*) antigens for use as a screening test for antibody. *J. Clin. Microbiol.* 1: 250-255, 1975.
143. Wang, S-P.: A micro immunofluorescence method. Study of antibody response to TRIC organisms in mice. In: R. L. Nichols (ed). *Trachoma and related disorders by chlamydial agents.* p 273-288, Experta Medica, New York, 1971.
144. Caldwell, H. D. and Schachter, J.: Antigenic analysis of the major outer membrane protein of *Chlamydia spp.* *Infect. Immunol.* 35: 1024-1031. 1982.
145. Matikainen. M. T. and Terho. P.: Immunochemical analysis of antigenic determinants of *Chlamydia trachomatis* by monoclonal antibodies. *J. Gen. Microbiol.* 129 :2343-2350, 1983.
146. Schachter, J.: Overview of *Chlamydia trachomatis* infection and the requirements for a vaccine. *Rev. Infect. Dis.* 7:713-716, 1985.
147. Caldwell, H. D. and Judd, R. C.: Structural analysis of chlamydial major outer membrane proteins. *Infect Immun.* 38 :960968, 1982.
148. Clark, R. B., Nachamkin, I., Schatzki, P. R. and Dalton, H. P.: Localization of distinct surface antigens on *Chlamydia trachomatis* HAR-13 by immune electron microscopy with monoclonal antibodies. *Infect. Immun.* 38 :1273-1278, 1982.
149. Hourihan, J. T., Rota, T. R., MacDonald, A. B.: Isolation and purification of a type-specific antigen from *Chlamydia trachomatis* propagated in cell culture utilizing molecular shift chromatography. *J. Immunol.* 124 :2399-2404, 1980.
150. Caldwell, H. D. and Perry, L. J.: Neutralization of *Chlamydia trachomatis* infectivity with antibodies to the major outer membrane protein. *Infect. Immun.* 38:745-754, 1982.
151. Hackstadt, T. and Caldwell, H. D.: Effect of proteolytic cleavage on surface-exposed proteins on infectivity of *Chlamydia trachomatis*. *Infect. Immun.* 48:546-551, 1983.
152. Stephens, R. S., Kuo, C. C. ., Newport, G. and Agabain, N.:

- Molecular cloning and expression of *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein antigens in *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 47 :713-718, 1985.
153. Schachter, J., Banks, J., Sugg, N., Sung, M., Storz, J. and Meyer, K. F.: Serotyping of *Chlamydia*. I. Isolates of ovine origin. *Infect. Immun.* 9:92-94, 1974.
154. Schachter, J., Banks, J., Sugg, N., Sung, M., Storz, J. and Meyer, K. F.: Serotyping of *Chlamydia*: Isolates of bovine origin. *Infect. Immun.* 11 :904-907, 1975.
155. Pérez - Martínez, J. A. and Storz, J.: Antigenic diversity of *Chlamydia psittaci* of mammalian origin determined by microimmunofluorescence. *Infect. Immun.* 50:905-910, 1985.