

Clamidias y patología respiratoria

S. Bello Dronda

Servicio de Neumología. Hospital Miguel Servet. Zaragoza.

Las clamidias son bacterias gramnegativas descritas por primera vez hace más de 50 años por Bedson, por lo que inicialmente el género fue llamado *Bedsodia*. Hoy es universalmente conocido como *Chlamydia*. En el momento actual han sido reconocidas 4 especies dentro de este género, aunque estudios preliminares sugieren que puede haber sido descubierta una quinta¹. De las cuatro conocidas, la más recientemente descrita, *C. pecorum*, infecta ovejas y vacas², no habiéndose hasta ahora relacionado con enfermedad humana alguna. *C. trachomatis*, por el contrario, sólo ha sido identificada en humanos, en los que puede causar tracoma (que sigue siendo la primera causa de ceguera susceptible de prevención en el mundo), enfermedades de transmisión sexual, linfogranuloma venéreo y uretritis. También produce una neumonía en el recién nacido. *Chlamydia psittaci* infecta principalmente a pájaros, pero también causa una infección sistémica en el hombre en la que predominan las manifestaciones respiratorias, incluida una neumonía, y también otras alteraciones, fundamentalmente cardiovasculares. Por último, *Chlamydia pneumoniae*, especie individualizada definitivamente en 1989³, se considera hoy un importante patógeno para el hombre, siendo uno de los agentes más frecuentemente productores de infecciones respiratorias, incluyendo bronquitis y neumonías de la comunidad. Además, existen evidencias cada vez más claras que la involucran en la patogenia de enfermedades tan importantes como la cardiopatía isquémica y el asma bronquial, entre otras. Por todo ello, *C. pneumoniae* será objeto de la mayor parte de la presente revisión.

Microbiología e inmunología

Uno de los aspectos fundamentales del género *Chlamydia* estriba en su condición, como los virus, de patógenos intracelulares obligados. Se diferencian de éstos en que contienen ADN y ARN, sintetizan proteínas independientemente, contienen ribosomas y son sensibles a los antibióticos. Tienen tropismo por las células epiteliales escamocolumnares de las mucosas⁴.

Para comprender mejor la patogenia de las enfermedades producidas por las clamidias, hemos de repasar

brevemente algunos hechos de su biología y, sobre todo, de su relación con el sistema inmunocompetente del huésped. Su ciclo biológico es único entre los patógenos intracelulares en el hombre e incluye dos formas: el cuerpo elemental (CE) y el cuerpo reticulado (CR). El CE es la unidad infectante que penetra, al igual que los virus, en las células huésped por endocitosis mediante receptores específicos. Una vez dentro, inhibirá la formación del fagolisosoma para garantizar su supervivencia intracelular, y se transformará en CR, forma vegetativa del germen que utiliza el ATP de la célula huésped para su desarrollo y división binaria. Tras producirse ésta, los CR se vuelven a transformar en CE, que podrán ser observados al microscopio como "cuerpos de inclusión", y que son distintos de unas especies a otras. Por último, tras causar la lisis de la célula huésped, se liberará un número variable de CE con capacidad infectante^{4,5}.

Otro de los aspectos a destacar es la capacidad de las clamidias en su tropismo por las células epiteliales, monocitos, macrófagos y endotelio vascular y, sobre todo, su habilidad para multiplicarse y sobrevivir largo tiempo en estas células dando lugar a infecciones crónicas. De este modo, los componentes estructurales bacterianos pueden propiciar una respuesta inmune prolongada capaz de mantener reacciones inflamatorias que desencadenen manifestaciones incluso años después de la infección inicial. Así, mientras que la mayoría de infecciones agudas leves por *Chlamydia trachomatis* se resuelven sin secuelas, otras pueden progresar hacia inflamaciones crónicas severas que pueden llevar a la ceguera (tracoma) incluso 50 años después de la infección inicial, así como a infertilidad, embarazos ectópicos o artritis. Un mecanismo semejante estaría involucrado en la relación infección por *C. pneumoniae* con cardiopatía isquémica, asma de comienzo en el adulto, sarcoidosis y otras enfermedades con las que ha sido asociada⁶.

Aunque los mecanismos inmunopatológicos concretos de todas estas situaciones no son conocidos con precisión en el momento actual, parecen tener un importante papel las reacciones de hipersensibilidad mediada por células desencadenadas en respuesta a determinadas proteínas clamidiales, especialmente en las infecciones crónicas y reinfecciones. Esta respuesta se dirigiría de forma poco selectiva por una amplia reactividad cruzada entre bacterias y células eucarióticas⁷, de manera que actuaría como una reacción autoinmune, dando lugar a lesiones en los tejidos del huésped. De hecho, se ha ais-

Correspondencia: Dr. S. Bello Dronda.

P.º Sagasta, 32. 50006 Zaragoza

Recibido: 4-2-97; aceptado para su publicación: 12-2-97.

Arch Bronconeumol 1997; 33: 527-540

lado una proteína de *C. trachomatis* capaz de producir una reacción de hipersensibilidad retardada en los ojos del cobaya sensibilizado por infección previa por el germen, siendo los hallazgos histopatológicos semejantes a los encontrados en el tracoma⁸. También se ha encontrado en *C. pneumoniae* una proteína (*heat shock protein*), similar a este antígeno de hipersensibilidad retardada⁹ que explicaría el daño tisular a distancia relacionado con enfermedades que han sido asociadas a infecciones crónicas o reinfecciones por este germen, como arteriosclerosis, asma bronquial y otras.

Infección respiratoria por *C. trachomatis*: neumonía clamidial del recién nacido

Alrededor del 10-20% de los hijos de madres infectadas por *C. trachomatis* desarrollan entre las semanas 3 y 11 (más frecuentemente alrededor de la octava) una neumonía que típicamente se acompaña de conjuntivitis. De forma ocasional, pueden existir manifestaciones de vías aéreas superiores y otitis. Clínicamente la neumonía se presenta en forma de tos pertusoide característica (fue inicialmente descrita como "neumonía eosinofílica pertusoide neonatal"), acompañada de taquipnea y con fiebre escasa o ausente. La auscultación es habitualmente anodina y, aunque a veces pueden oírse crepitantes bilaterales, no suele haber sibilantes. La radiografía muestra infiltrados intersticiales bilaterales habitualmente simétricos y perihiliares, pudiendo aparecer en ocasiones infiltrados focales en forma de cuña característica¹⁰⁻¹². La presencia de eosinofilia en sangre periférica es otra de las claves del diagnóstico de presunción, lo mismo que la eosinofilia en las secreciones traqueales. La hipoxemia es variable y puede persistir tras la fase aguda.

El diagnóstico definitivo puede hacerse mediante cultivo o fluorescencia directa (DFA) de secreciones conjuntivales, nasofaríngeas o traqueales. También mediante un título de IgM específica $\geq 1:32$ por microinmunofluorescencia (MIF)^{13,14}. El diagnóstico diferencial debe hacerse con otras enfermedades que produzcan tos de esas características, incluyendo infecciones por adenovirus, parainfluenza y, especialmente, virus respiratorio sincitial (VSR). Sin embargo, el VSR se da con mayor frecuencia en los meses de invierno y frecuentemente cursa con sibilancias, mientras que la neumonía clamidial no tiene distribución estacional, se asocia con conjuntivitis y eosinofilia periférica y en cambio no cursa con sibilancias espiratorias. En caso de niños inmunodeprimidos hay que incluir el diagnóstico diferencial con la neumonía por *P. carinii* y citomegalovirus^{4,10-14}.

Aunque suele ser una enfermedad autolimitada, existen casos que requieren ventilación mecánica, y en los niños no tratados el cuadro puede persistir semanas o meses. El tratamiento incluye macrólidos o sulfonamidas durante 2-3 semanas, y debe administrarse medicación tópica suplementaria para la conjuntivitis. Por último, es de destacar una mayor incidencia de asma bronquial en la infancia de estos pacientes^{15,16}, como ocurre en otras infecciones tempranas más conocidas y estudiadas, como la bronquiolitis por VRS¹⁷.

Psitacosis

La infección en el hombre por *Chlamydia psittaci* causa una enfermedad sistémica dominada por manifestaciones respiratorias, que se conoce también con el nombre de ornitosis. Tras el descubrimiento de *C. pneumoniae*, la psitacosis se considera, al contrario que en el caso del mencionado germen, una causa poco frecuente de neumonía de la comunidad tanto en España¹⁸, como en los EE.UU., donde son declarados a los CDC menos de 200 casos anuales¹⁹. Como es bien sabido, se adquiere tras contacto con determinados pájaros que también pueden padecerla, habiéndose aislado el germen en sus secreciones nasales, sangre, tejidos, plumas y, especialmente, en excretas. Aunque también se conocen una variedad ovina que causa abortos²⁰, y otra felina, que da lugar a neumonías en estos animales²¹, no existe ninguna evidencia de que produzcan enfermedad en el hombre, que se ve afectado sólo por la variedad aviar. Las aves más contagiantes son las que muestran signos de enfermedad, aunque las que no mueren pueden pasar al estado de portador, eliminando largo tiempo el germen²². Se ha descrito recientemente contagio de pájaro a otro animal (gato)²³. Los sujetos más expuestos son los que trabajan o manipulan estos animales o sus productos. Aunque se ha asociado con más de 90 especies de aves de todo el mundo, los transmisores más frecuentes son los canarios, periquitos, cacatúas, loros y palomas. No hay que olvidar que se incluyen en la población de riesgo aquellos que trabajan con aves de corral, en particular con pavos²⁴, y especialmente en el proceso de manufacturación de sus productos^{22,24}. El mecanismo de transmisión más frecuente es la vía inhalatoria sobre todo a partir de excrementos, pero se cree que puede darse el contagio por manos al tocar plumas o tejidos contaminados. Aunque son más frecuentes las formas esporádicas, también existen epidemias tanto en pájaros como en hombres^{25,26}. La transmisión hombre a hombre ha sido descrita²⁶, aunque parece ser excepcional. Probablemente debería ser demostrada utilizando los modernos métodos diagnósticos capaces de distinguir la psitacosis de la infección por *C. pneumoniae*, dada la existencia de reacciones cruzadas en la detección de anticuerpos frente a ambos microorganismos por la técnica clásica de fijación de complemento para *C. psittaci*.

Tras un período de incubación de 1-2 semanas, y aunque puede manifestarse como un cuadro leve tipo viral, la presentación más frecuente es en forma de enfermedad respiratoria aguda con afectación pulmonar (neumonitis), incluyendo fiebre alta que dura varios días, y una característica tos no productiva que va acompañada de intensa cefalea y fuertes mialgias. La aparición de epistaxis y fotofobia, frecuentes en la fase precoz, puede ser clave para el diagnóstico¹³. Se han descrito casos ocasionales con clínica que recuerda a la neumonía neumocócica. Algunos pacientes refieren también dolor de garganta, náuseas, vómitos y diarrea. Es bien conocida la posible presencia de encefalopatía, con confusión, desorientación o signos meníngeos, así como la de un exantema facial (mancha de Horden), similar al de la fiebre tifoidea. Sin embargo, una de las claves de alta sospecha de psitacosis es la observación

de bradicardia relativa y esplenomegalia (10-70%) en un paciente con neumonía atípica. Las alteraciones cardíacas y el resto de manifestaciones extrapulmonares, recogidas en una excelente revisión de neumonías atípicas publicada en esta revista²⁷, se resumen en la tabla I²².

Aunque el pronóstico de la enfermedad es habitualmente bueno, habiéndose estimado una mortalidad con antibióticos adecuados del 1%²⁸, existen casos de presentación grave²⁹ y evolución fulminante³⁰, con fallo ventilatorio severo precisando ventilación mecánica. En una serie de 11 pacientes que requirieron ventilación mecánica, se produjeron 8 muertes, estableciéndose la hipoxemia severa y el fracaso renal como factores de mal pronóstico³¹. Junto a éstos, hay casos de psitacosis sin neumonitis, con tan sólo la enfermedad aguda de vías superiores, y otros que se presentan como endocarditis con hemocultivos negativos, brote reumático, o incluso como una fiebre de origen desconocido³².

No existen alteraciones analíticas ni radiológicas características de psitacosis. El recuento y la fórmula leucocitaria es habitualmente normal, lo mismo que la velocidad de sedimentación^{4,22}. Las enzimas hepáticas pueden estar ligeramente elevadas, y el esputo, con predominio de células mononucleares, no proporciona datos relevantes. La radiografía de tórax puede mostrar infiltrados intersticiales uni o bilaterales, más frecuentemente perihiliares y en las bases pulmonares, pero es posible encontrar focos de condensación parenquimatosa, o ausencia de anomalías en el 28% de los casos en una serie³³.

El diagnóstico debe basarse en primer lugar en la búsqueda de antecedentes de exposición a pájaros en las 2 semanas previas. Aunque puede confirmarse mediante aislamiento de *C. psittaci* en esputo, exudados o tejidos, la complejidad técnica del cultivo hace que los tests serológicos sean los habitualmente utilizados, en especial la fijación del complemento, que detecta anticuerpos frente a un antígeno género-específico estable al calor extraído de *C. psittaci*¹³. Los anticuerpos tardan unas 3 semanas en aparecer a partir del inicio de los síntomas, debiendo documentarse un título cuatro veces superior en la convalecencia respecto a la fase aguda para el diagnóstico definitivo, si bien un título aislado de 1:16 o superior en presencia de enfermedad neumónica aguda proporciona una alta probabilidad diagnóstica²². Sin embargo, la fijación de complemento muestra problemas de especificidad, ya que presenta reactividad cruzada con *C. pneumoniae* y *C. trachomatis*, e incluso con *Coxiella burnetii* y *Brucella* sp., por lo que pueden aparecer falsos positivos. A ello se han debido un gran número de falsos diagnósticos de psitacosis en ausencia de contacto con aves registrados antes del descubrimiento de *C. pneumoniae*, patógeno mucho más frecuente para el hombre y que era el verdadero agente causal, como pudo comprobarse, en los casos descritos en escolares ingleses en 1983³⁴, o en una gran epidemia de "ornitosis" que afectó al norte de Europa en los años ochenta³⁵. La microinmunofluorescencia (MIF) produce muchas menos reacciones cruzadas género-específicas, por lo que es preferible su uso. A pesar de ello, el incremento del título de MIF para *C. psittaci* debería ser cla-

TABLA I
Manifestaciones extrapulmonares de la psitacosis²²

Cardíacas	Miocarditis, pericarditis, endocarditis, valvulopatías
Neurológicas	Encefalitis, signos neurológicos focales, meningitis linfocíticas
Hematológicas	Anemia severa, anemia hemolítica, Coombs (+), coagulación intravascular diseminada
Gastrointestinales	Hepatitis, pancreatitis
Renales	Proteinuria, oliguria, insuficiencia renal aguda, nefritis
Miscelánea	Esplenomegalia, amigdalitis, tiroiditis, fiebre de origen desconocido

ramente superior al de *C. pneumoniae* o *C. trachomatis* para permitir una nítida diferenciación⁴.

La esplenomegalia en una neumonía atípica sugiere fuertemente psitacosis. La presencia de faringitis prácticamente limita el diagnóstico diferencial, al margen de los virus, a la neumonía por *Mycoplasma* o por una clamidia. La presencia de sinusitis, bronquitis o laringitis asociados a una neumonía atípica, raras en psitacosis, orienta claramente hacia *Chlamydia pneumoniae*⁴. En definitiva, el diagnóstico de psitacosis debe basarse en una historia clínica buscando exposición a aves, en un cuadro de neumonía atípica con fiebre alta, cefalea intensa y bradicardia relativa, confirmándose mediante serología, preferiblemente MIF.

Chlamydia psittaci es sensible a las tetraciclinas, que se consideran el tratamiento de elección. Puede emplearse tetraciclina a dosis de 3-4 g al día, o bien doxiciclina 100 mg cada 12 h^{4,22,28,36}. También se han publicado buenos resultados con macrólidos³⁶, pero sólo se dispone de experiencia clínica limitada. La terapia debe mantenerse entre 10 días y 4 semanas, y se ha recomendado continuarla hasta 1-2 semanas tras la desaparición de la fiebre^{22,28}. Aunque son posibles las recaídas, los antibióticos han permitido pasar de una mortalidad del 20-40% al 1% actual con fármacos adecuados³⁷. La prevención de la psitacosis en el hombre se centra en el control de la enfermedad en la población aviar, incluyendo medidas como cuarentena de todos los pájaros importados, diagnóstico y tratamiento precoz de las aves enfermas, y uso de alimentos conteniendo tetraciclinas²⁸.

Chlamydia pneumoniae

No sólo se trata del patógeno respiratorio más frecuente del género, sino que es uno de los patógenos para el hombre más ampliamente extendidos, siendo objeto de gran interés en los últimos años. *Chlamydia pneumoniae* es causa común de infecciones agudas, como faringitis, sinusitis, bronquitis y neumonía^{5,38-41}, otitis^{42,43} y exacerbaciones de la EPOC^{44,45}. También se ha asociado con enfermedades extrapulmonares como artritis reactivas⁴⁶, síndrome de Guillain-Barré⁴⁷, meningoencefalitis⁴⁸, eritema nudoso y tiroiditis^{5,49}. Además,

existen evidencias cada vez más importantes que relacionan la infección crónica o reinfecciones por este germen con la patogenia de diversas enfermedades como la cardiopatía isquémica y la aterosclerosis⁵⁰, el asma bronquial⁵¹ y la sarcoidosis⁵².

Historia

Hasta 1989, en que *C. pneumoniae* fue reconocida como especie separada del género *Chlamydia*³, los casos de neumonía por este germen no podían, lógicamente, ser diagnosticados. Sin embargo, algunos de éstos, y dada la reactividad cruzada conocida hoy día de la fijación de complemento utilizada para *C. psittaci*, eran catalogados erróneamente de psitacosis. En 1943, Smadel⁵³ ya describió algunos casos de psitacosis demostrada serológicamente en pacientes que no habían estado en contacto con pájaros, e intuyó que podría tratarse de una cepa de *C. psittaci* capaz de transmitirse de persona a persona. En 1965, durante una campaña de vacunación contra el tracoma en Taiwan, se aisló en el exudado conjuntival de un niño una cepa atípica de clamidia que recibió el nombre de cepa TW-183 (TW por Taiwan)⁵⁴. En 1983 se aisló otra cepa inusual a partir de lavado faríngeo de un estudiante de Seattle que presentaba una faringitis aguda, y se llamó AR-39 (AR por *acute respiratory*), observándose que era antigénicamente similar a la anterior. Dos años más tarde se describió una epidemia de neumonías leves en dos comunidades de adultos jóvenes en Finlandia, producidas por una "cepa inusual de *C. psittaci*"⁵⁵, y un año después el grupo de Grayston publicó el aislamiento en una población de estudiantes con infección respiratoria aguda, de "*C. psittaci* variedad TWAR", conjugando los términos TW y AR previamente utilizados⁵⁶. Finalmente, en 1989, tras estudios de homología del ADN, se demostró que existía menos del 10% de homología entre la cepa TWAR y las otras 2 clamidias conocidas hasta el momento (*C. trachomatis* y *C. psittaci*), y que había más del 90% de coincidencia en las secuencias de nucleótidos en todas las cepas aisladas de TWAR hasta el momento^{40,57}. También se encontraron diferencias ultraestructurales con las otras 2 especies conocidas^{58,59}. Finalmente, se ha observado que la secuencia de determinadas proteínas del germen examinadas por análisis molecular resultaron idénticas en cepas aisladas en países de tres continentes⁶⁰. Era evidente que se estaba ante una nueva especie que recibió el nombre de *Chlamydia pneumoniae*³ y que, por lo que sabemos hasta ahora, es un patógeno de primer orden para el hombre, y es muy probable que de ésta queden aún muchos aspectos interesantes por descubrir.

Epidemiología

Chlamydia pneumoniae se considera un patógeno humano primario⁶¹, creyéndose hasta hace poco que el hombre era el único reservorio⁶². Sin embargo, se ha aislado una cepa de secreciones respiratorias de un caballo⁵⁷. Se cree que la transmisión se produce de persona a persona por aerosoles⁶³, aunque no parece ser una

transmisión excesivamente fácil ni eficaz⁶⁴. Parecen importantes en la cadena epidemiológica los portadores asintomáticos, habiéndose aislado el germen en la vía aérea superior del 4,7% de individuos sanos en una serie⁶⁵. Estos individuos pueden haber sufrido una infección previa, la mayor parte de las veces asintomática⁶⁶, y permanecen luego contagiantes durante largo tiempo⁵. De hecho, se ha demostrado que el germen puede eliminarse durante períodos superiores a un año⁶⁷. Se ha propuesto que los llamados *portadores* son el reservorio de *C. pneumoniae* en la comunidad⁶⁶, y su existencia contribuiría a explicar la aparición de epidemias muy prolongadas en el tiempo⁶⁸. A diferencia de *C. trachomatis*, no hay ninguna evidencia de transmisión sexual de *C. pneumoniae*⁶⁹. Se ha demostrado su viabilidad de 12-30 h sobre distintas superficies, lo que sugiere que también podría transmitirse por fomites⁷⁰.

El período de incubación es largo, de alrededor de 3 semanas⁷¹. La infección puede ser tanto endémica como epidémica, habiéndose objetivado brotes de incidencia incrementada de 2-3 años de duración junto a otros de pocos meses, y fases de incidencia baja de unos 3 años, de forma cíclica⁴⁰. No existe preferencia estacional, y se han observado grandes epidemias en el norte de Europa cada 5-7 años⁷².

Hoy se sabe que *C. pneumoniae* es la responsable de la mayoría de las infecciones clamidiales en el hombre; por ejemplo, se calcula que produce 2.000 veces más neumonías que *C. psittaci*⁷³. Los datos serológicos, a pesar de sus limitaciones de precisión por la variabilidad de las respuestas de anticuerpos específicos, indican que *C. pneumoniae* es uno de los agentes infecciosos más prevalentes en todo el mundo. Su presencia no parece ser muy alta en los niños de 2-5 años, aunque en un estudio de Montes et al⁷⁴ se observó que ya a estas edades había alrededor de un 12% de niños españoles con infección previa. Se trata de una prevalencia alta, similar a la de otra serie japonesa⁷⁵, pero superior a la observada en los EE.UU.⁶⁴ y Dinamarca⁷⁶. La seroconversión se dispara a partir de la edad escolar con tasas anuales de 6 al 9%⁶⁰, de modo que en la tercera década de la vida el 50% de la población del hemisferio norte y el 60-70% de la de los países tropicales tiene anticuerpos detectables^{40,73}. A partir de entonces, la seroprevalencia aumenta muy lentamente. Dado que la respuesta de anticuerpos a la primera infección es limitada en el tiempo (3-5 años), puede deducirse que la mayor parte de la población se infecta y se reinfecta durante la vida⁷⁷. La proporción de seropositivos es superior en un 25% en el sexo masculino, sin conocerse los motivos^{78,79}.

Chlamydia pneumoniae e infección respiratoria

Aunque parece que la forma más frecuente de infección por *C. pneumoniae*, hasta en un 90% de los casos, es asintomática⁶⁶, los síndromes respiratorios agudos más asiduamente asociados a ésta son la bronquitis y la neumonía^{61,78}. La primoinfección típica en escolares y adultos jóvenes parece producir bronquitis prolongada o neumonía habitualmente no grave. Aunque hay datos

que indican que la reinfección en adultos mayores produce un cuadro más leve⁸⁰, el espectro clínico de ambas es muy variable, incluyendo formas bronconeumónicas graves, con o sin enfermedad subyacente⁸¹.

No existen signos ni síntomas específicos de la neumonía por *C. pneumoniae*. Se trata de un cuadro parecido al producido por *Mycoplasma pneumoniae*, aunque algunos rasgos pueden ayudarnos a distinguirla del resto de las neumonías atípicas de otras etiologías, como la presencia de faringitis, sinusitis, laringitis y otitis media^{37,73,78}. Suele tener un comienzo subagudo, con faringitis y disfonía inicial, siendo este síntoma muy orientador. Puede haber un patrón bifásico, con resolución previa de la faringitis al desarrollo de la neumonía, que puede aparecer hasta un mes después del comienzo de la enfermedad⁸¹. La tos es muy frecuente y prolongada (incluso semanas o meses), y la fiebre es baja o ausente. Pueden aparecer mialgias, particularmente en el tórax. La diarrea y la otitis son menos frecuentes que en la neumonía por *Mycoplasma*. En definitiva, ante un paciente con neumonía atípica, antecedentes de ronquera, tos persistente, afebril y que ha tardado en consultar desde el inicio de su enfermedad, deberemos pensar en la presencia de *Chlamydia pneumoniae*⁵. La analítica y la radiología no aportan datos importantes. La leucocitosis es escasa, la auscultación no llamativa, y la radiografía muestra habitualmente una condensación pequeña y subsegmentaria⁷⁹ que desaparece con rapidez, incluso sin tratamiento antibiótico⁸². El derrame pleural es raro y de existir, escaso; no obstante, se ha conseguido aislar *C. pneumoniae* de líquido pleural⁸³.

La forma más frecuente de neumonía es, como se ha dicho, leve y de características atípicas que habitualmente no necesita ingreso. Sin embargo, existen situaciones lo suficientemente graves para requerir tratamiento hospitalario, incluso en población joven, con cuadro clínico muy similar al de la neumonía neumocócica, aunque algo más leve. En los casos en los que existe una infección mixta, con participación generalmente neumocócica, se produce una infección más grave que la de ambos gérmenes por separado, y que requiere una hospitalización más prolongada⁸⁴. El hecho de que el tratamiento para el neumococo puede no ser eficaz para *C. pneumoniae* subraya la importancia de que intentemos un diagnóstico lo más precoz posible y de que creamos que la identificación de un germen no excluye la presencia del otro. Esta asociación con *S. pneumoniae* y también con *H. influenzae*, aún más frecuente en determinados sujetos como ancianos, malnutridos, alcohólicos, bronquíticos crónicos^{79,85}, y en las raras formas nosocomiales⁷⁸, da lugar a cuadros clinicoradiológicos más prominentes que la neumonía atípica antes descrita, e implica un peor pronóstico. De hecho, la mayoría de las muertes conocidas en relación con neumonía por *C. pneumoniae* se han dado en pacientes con enfermedades subyacentes y por complicaciones como bacteriemia neumocócica⁸⁵⁻⁸⁷. Además de las bacterias mencionadas, se han descrito infecciones mixtas con *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae*, virus respiratorio sincitial, adenovirus, y parainfluenza, entre otros. La proporción de infecciones duales es alta, y se ha estimado en torno al

40%^{79,87}. Aunque parecen ser excepcionales, se han descrito formas de diseminación sistémica de *C. pneumoniae* de evolución fulminante⁶⁰. Por último, está perfectamente documentada la infección por el microorganismo en inmunodeprimidos VIH+, la mayor parte de las veces en asociación con otros patógenos como *P. carinii* y *M. tuberculosis*⁸⁸, y en otros tipos de inmunodeficiencia⁸⁹, sin conocerse por el momento el papel de *C. pneumoniae* en los inmunocomprometidos.

Es comprensible que el diagnóstico diferencial sea difícil, especialmente en las infecciones mixtas. En el cuadro de neumonía atípica más frecuente, se plantea fundamentalmente con *Mycoplasma pneumoniae*. La presencia concomitante de sinusitis o bronquitis y, especialmente la ronquera, apuntan a favor de clamidia. Por el contrario, la otitis y la diarrea son mucho más habituales en la neumonía por *Mycoplasma*, que además responde mejor al tratamiento con eritromicina. *C. pneumoniae* no produce títulos elevados de crioglobulinas⁴.

La importancia de *Chlamydia pneumoniae* como productor de neumonías de la comunidad (NAC) está hoy fuera de toda duda. Es la responsable de al menos el 10% de todas las NAC^{84,90}. El hecho de que la mayoría sean tratadas fuera del hospital puede infravalorar su real incidencia. Almirall et al⁸⁷ en el Maresme (Barcelona) estudiaron 105 episodios de NAC en mayores de 13 años; 53 fueron ingresados y, el resto, tratados ambulatoriamente. En 46 casos pudo ser identificado el agente causal por técnicas de alta fiabilidad, siendo *Chlamydia pneumoniae* el más frecuente (16 pacientes, 35%), por delante de *Streptococcus pneumoniae* y *Mycoplasma pneumoniae* (13 y 8 casos, respectivamente). En un reciente estudio en pacientes hospitalizados con bronquitis aguda o neumonía, encontraron *C. pneumoniae* en el BAL del 16% de los 57 casos, así como en el 13% de otro grupo de 47 VIH+⁹¹.

Se ha sugerido que la infección por *C. pneumoniae* es más frecuente en los pacientes con EPOC que en controles, pero hay resultados contradictorios^{44,92}. Si hay datos que sugieren que el germen es responsable de alrededor del 5% de sus exacerbaciones agudas^{44,45}.

Diagnóstico

El diagnóstico específico de infección por *Chlamydia pneumoniae* es dificultoso, y se han ensayado cuatro tipos de técnicas diferentes: la detección serológica de anticuerpos, la detección de antígeno, el cultivo en líneas celulares, y la identificación de secuencias de ADN específico mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Serología. El test de fijación de complemento (FC) utilizado para el diagnóstico de infección por *C. psittaci* usa el antígeno lipopolisacárido género-específico y, por tanto, no es capaz de discernir entre las distintas especies de clamidias. Además de estos problemas de especificidad, la sensibilidad de la FC para *C. pneumoniae* es inferior al 33%⁷⁹. Los tests de inmunofluorescencia (MIF) para anticuerpos tipo-específicos son sensibles para la detección de infección por *C. pneumoniae* y pue-

den diferenciar entre especies, y entre las fracciones séricas IgM, IgG e IgA, útiles para distinguir primoinfecciones de reinfecciones, o incluso, infecciones crónicas (IgA se considera marcador de infección crónica). La MIF es el test serológico más ampliamente utilizado. Sus criterios serológicos de infección son resumidos en la tabla II⁹³. Se ha aconsejado que el intervalo entre la toma de las 2 muestras de sueros pareados sea de al menos 3 o 4 semanas, debido a que este es el tiempo que tardan en aparecer las IgM en las primoinfecciones. En las reinfecciones, las IgM no suelen detectarse o hacerse a títulos bajos, mientras que las IgG aparecen en 1-2 semanas. La determinación única puede dar problemas de interpretación, ya que un título alto de IgG puede también corresponder a la persistencia de anticuerpos de una infección previa⁷⁸. Aunque la MIF es hoy día el método serológico de elección y parece tener una buena sensibilidad y especificidad, éstas dependen en parte de la experiencia de quien la interpreta⁸¹. Además, se han descrito falsos negativos por respuesta inmune pobre o por tratamiento antibiótico adecuado precoz⁹⁴, o falsos positivos por interferencia con el factor reumatoide⁹⁵ como ocurre con otros tests para IgM⁹⁶, o por reacciones cruzadas con *C. trachomatis*⁶¹. También se ha criticado a la MIF que la proteína mayor de la membrana externa sea el principal antígeno involucrado en el test, cuando ésta no parece ser la inmunodominante en la infección por *C. pneumoniae*⁹⁷. Todo ello, además de la existencia de portadores asintomáticos, produce discrepancias entre los resultados de la serología y el cultivo y la PCR en la infección aguda.

Detección de antígeno. Se han utilizado anticuerpos monoclonales especie-específicos marcados con fluoresceína (DFA) para detectar *C. pneumoniae* en cultivo en líneas celulares con buenos resultados, pero no tienen la suficiente sensibilidad para detectar el germen directamente en muestras clínicas. La sensibilidad de la detección de antígeno en lavado de boca llega sólo al 50% del cultivo⁵⁶. En cuanto al ELISA, el anticuerpo usado es género-específico, produciendo reacciones cruzadas con *C. trachomatis*, además de tener una baja sensibilidad⁷⁸.

Cultivo en líneas celulares. Su condición de patógeno intracelular obligado hace necesario este tipo de cultivo. Se han utilizado varias líneas, siendo las más adecuadas la Hep 2⁹⁸ y la HL⁹⁹. Se trata de técnicas complejas, no al alcance de todos los laboratorios. Se utiliza tras el cultivo la identificación con anticuerpos marcados con fluoresceína para mejorar su sensibilidad. La muestra clínica más comúnmente usada es el lavado orofaríngeo, aunque también pueden emplearse otras, como el BAL o el líquido pleural. El esputo y el aspirado bronquial ofrecen mayores dificultades técnicas por toxicidad para el cultivo celular y no son habitualmente testados⁶⁰. Así como para el diagnóstico de infección por *C. trachomatis* el cultivo se considera el "patrón oro", para *C. pneumoniae* presenta una sensibilidad inferior y su aislamiento puede además proceder de portadores sanos. A pesar de ello, es considerada por la mayoría la técnica diagnóstica de más valor⁴⁹.

Reacción en cadena de la polimerasa. Existen técnicas de PCR disponibles para detectar a partir de 10⁻¹⁶ g de ADN de *C. pneumoniae*^{38,60}. Es aproximadamente un 25% más sensible que el cultivo⁶⁰, y se ha utilizado con éxito en una gran variedad de muestras, incluyendo lavados orales, faríngeos, BAL, esputo, y tejidos en fresco, fijados con formol o tratados con parafina⁷⁸. Detecta el genoma del microorganismo de una forma muy rápida en pacientes infectados y también, como ocurría en el cultivo, en portadores asintomáticos. Sin embargo, debe recordarse que la demostración de ADN clamidial no es igual a infección activa: por ejemplo, el huésped puede no eliminar todo el ADN tras una infección, o bien el germen puede evadir las defensas inmunológicas del huésped y persistir en una forma latente^{38,73}. La principal ventaja del cultivo sobre la PCR es que demuestra en todos los aislamientos gérmenes vivos y viables. Recientemente se ha descrito una combinación de PCR y enzimoimmunoanálisis (PCR-EIA) que ha mostrado una alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de infección por *C. pneumoniae*, tomando como referencia el cultivo y/o demostración de antígeno por DFA¹⁰⁰.

Tratamiento

Chlamydia pneumoniae es, in vitro, sensible a las tetraciclinas y a los macrólidos como lo es *C. trachomatis*; pero, a diferencia de ésta y como ocurre también con *C. psittaci*, es resistente a las sulfamidas¹⁰¹. In vitro, estos antibióticos son más activos que las quinolonas, mientras que claritromicina ha mostrado ser el fármaco con MIC más bajo^{102,103}. Sin embargo, azitromicina parece tener un mayor efecto antibacteriano frente a *C. pneumoniae* en cultivo celular. Aunque no se han publicado grandes estudios clínicos, datos preliminares sugieren que estos dos nuevos macrólidos se están mostrando tan efectivos como la eritromicina⁶⁰.

Es importante destacar aquí la marcada tendencia de las infecciones por *C. pneumoniae* a la recurrencia y a la cronicidad, por lo que los tratamientos antimicrobianos deben ser prolongados. El tratamiento con una tetraciclina o un macrólido debe continuarse al menos dos o, preferiblemente, 3 semanas⁵⁶. Para los adultos se ha recomendado una pauta de tetraciclina o eritromicina de 2 g al día, de doxiciclina de 200 mg diarios, de claritromicina de 500 mg/día, todos durante 3 semanas, y de azitromicina de al menos 1,5 g durante más de 5 días^{5,104}. En niños, en los que deben evitarse las tetraciclinas, se puede administrar eritromicina o claritromicina en suspensión durante 10 días a 2 semanas¹⁰⁴, o azitromicina a las dosis equivalentes. A pesar de las investigaciones en marcha, todavía no existe una vacuna contra *Chlamydia pneumoniae*⁷³.

Infección crónica por *Chlamydia pneumoniae*

Las formas crónicas son las infecciones más importantes producidas por clamidias, y cuanto más larga sea la vida del sujeto más frecuentes pueden ser dichas infecciones y más graves sus secuelas⁵. Un ejemplo típico es el ya aludido de la ceguera por tracoma que puede

aparecer décadas después de comenzar la infección por *C. trachomatis*. Se ha dicho que el tropismo de *C. pneumoniae* por órganos como el pulmón y el endotelio vascular facilita su fácil diseminación a la sangre, produciendo efectos a distancia. Sin embargo, parece que la presencia de agente infectante en estas formas crónicas es escasa, con la consiguiente dificultad para la identificación del germen, y que los mecanismos patogénicos están en relación, como se ha mencionado al comienzo de la presente revisión, con reacciones inmunológicas frente a determinadas proteínas del germen que persisten y hacen que progrese la enfermedad incluso tras la desaparición del agente inductor⁹² (tabla III). La infección crónica por *C. pneumoniae* se ha asociado con enfermedades tan importantes y frecuentes como la aterosclerosis, la sarcoidosis y el asma bronquial.

Arteriosclerosis y enfermedad coronaria

A finales de la pasada década, un estudio finlandés puso de manifiesto que los pacientes con cardiopatía isquémica tenían una probabilidad significativamente superior a la de los controles de presentar evidencias serológicas de infección por *C. pneumoniae*, y que los pacientes con infarto agudo de miocardio sufrían una seroconversión frente a un lipopolisacárido clamidial¹⁰⁵, que correspondía a *C. pneumoniae* y no a otra clamidia¹⁰⁶. Esto fue interpretado como una exacerbación de una infección crónica por este microorganismo. Resultados en la misma dirección fueron aportados por cuatro estudios americanos¹⁰⁷⁻¹¹⁰, uno sueco¹¹¹, y otro inglés¹¹². Un análisis de más de 4.000 sueros de varones hipercolesterémicos incluidos de forma prospectiva durante más de 5 años en el Helsinki Heart Study¹¹³ estableció que títulos elevados y/o presencia de complejos inmunes en relación con el microorganismo representaban un factor de riesgo independiente de los clásicos para tener un infarto⁵⁰, aunque parecía tener efectos aditivos con la edad y el tabaquismo, lo que permitió descartar la posibilidad de que un paciente con cardiopatía isquémica resultara más vulnerable al germen, y de que un IAM fuera capaz de activar una infección latente. Se han observado en el suero de estos pacientes anticuerpos frente a las proteínas específicas (*heat shock proteins*) de 42, 52 kDa¹¹⁰ y de 65 kDa¹¹⁴ de *C. pneumoniae*, que han sido considerados marcadores de infección crónica¹¹⁰. Estas proteínas se han encontrado en altas concentraciones en las lesiones ateroscleróticas¹¹⁵. Se ha postulado que algunas proteínas del germen pueden unirse a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y, tras ligarse a anticuerpos, provoquen la acumulación de colesterol en los macrófagos (células espumosas) característico de la arteriosclerosis^{61,73}.

Además de estos datos serológicos, se han encontrado evidencias de la presencia de *C. pneumoniae* en lesiones ateromatosas en diversas localizaciones mediante microscopía electrónica, inmunohistoquímica y PCR¹¹⁶⁻¹¹⁹, sin objetivarse en zonas arteriales sanas¹¹⁹. Se ha observado recientemente en lesiones coronarias que el microorganismo se localiza en el interior de los macrófagos y no se ha encontrado relación entre la de-

TABLA II
Criterios serológicos de infección por *C. pneumoniae*
mediante MICRO-IF⁹²

Infección aguda	Infección pasada
Incremento del título de cuatro veces el inicial	IgG ≥ 1:16 < 1:512 IgA ≥ 1:16 < 1:256
IgM ≥ 1:16 IgG ≥ 1:512 IgA ≥ 1:256	

tección del mismo y los títulos serológicos¹²⁰. En otro estudio en necropsias de pacientes entre 15-35 años, en los 31 sin ateromas no se pudo detectar *C. pneumoniae* por inmunohistoquímica ni por PCR, pero sí se demostró en 2 de los 11 sujetos con lesiones precoces y en 6 de las 7 muestras con placas de ateroma desarrolladas¹²¹. Finalmente, se ha logrado cultivar *Chlamydia pneumoniae* a partir de placas de ateroma de coronarias de un paciente de 56 años sometido a trasplante cardíaco por cardiopatía isquémica grave, confirmandose posteriormente que se trataba de este germen mediante anticuerpos monoclonales y test de homología de ADN¹²². Este hallazgo demuestra que el organismo existe, no depositado e inactivo, sino vivo y viable en el interior de las placas de ateroma, lo que hace prácticamente imposible dudar del papel del microorganismo en la patogenia de al menos algunos casos de arteriosclerosis. Aunque no se conoce aún el mecanismo patogénico preciso, estos datos pueden provocar una profunda modificación de los actuales esquemas profilácticos y terapéuticos de la aterosclerosis y de la enfermedad coronaria.

Sarcoidosis

No existen datos tan contundentes respecto a una posible relación clamidias-sarcoidosis. Hace 20 años se publicó una serie de 178 pacientes diagnosticados de sarcoidosis que tenían títulos de FC para "ornitosis" significativamente elevados respecto a los de 88 controles sanos¹²³. Más adelante se observaron anticuerpos específicos frente a *C. pneumoniae* elevados de forma persistente en sarcoidosis⁹², habiéndose encontrado una correlación positiva de dichos títulos con las concentraciones de ECA y lisozima⁵². También se han descrito lesiones granulomatosas en el hígado¹²⁴, un incremento de linfocitos T recuperados en el BAL y un aumento de la captación de galio en los tejidos afectados por infección por clamidias¹²⁵. Otras evidencias indirectas incluyen el caso de 2 hermanos que presentaron simultáneamente una sarcoidosis coincidiendo con la infección demostrada en uno de ellos y en el periquito de ambos por *C. psittaci*, curando aquél su sarcoidosis coincidiendo con tratamiento con tetraciclinas¹²⁶, o el de una embarazada que tras infectarse por la variedad ovina de *C. psittaci* sufrió un aborto y presentó lesiones radiológicas y anatomopatológicas compatibles con sarcoidosis¹²⁷. La posibilidad de que las clamidias puedan estar involucradas en la patogenia de la sarcoidosis es una hipótesis atractiva ya que, además de poder vivir y replicarse en el interior de los macrófagos, *encajarían* muy bien

como el antígeno desencadenante de los mecanismos ya conocidos de la patogenia de la sarcoidosis, dadas las respuestas inmunológicas que pueden inducir. Según esto, las clamidias se comportarían de forma similar al berilio como agente inductor de la beriliosis crónica, enfermedad clínica, radiológica y anatomopatológicamente similar a la sarcoidosis⁵.

Chlamydia pneumoniae y asma bronquial

El asma bronquial es considerada hoy día una enfermedad de origen inflamatorio, no infeccioso. Sin embargo, cada vez existen mayores evidencias que sugieren que un grupo de patógenos intracelulares obligados virales (VSR, rinovirus, parainfluenza, adenovirus, etc.) y no virales, como *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* y *Mycoplasma pneumoniae* (intracelular no obligado), no sólo son capaces de producir exacerbaciones en el asma establecido, sino que pueden estar involucrados en el inicio e incluso en la progresión del mismo¹²⁸.

Aunque, especialmente en el asma de comienzo precoz, los alérgenos y el ejercicio son los principales inductores de la reacción asmática, es de todos conocido el papel de las infecciones como desencadenantes de exacerbaciones de un asma bronquial previo. Todos los virus respiratorios pueden producirlas, aunque la importancia de cada uno está relacionada con su prevalencia en cada grupo de edad. Así, en los niños destacarán el VSR y el parainfluenza, mientras que en jóvenes a partir de la edad escolar y adultos los rinovirus, productores de la mayoría de episodios de catarro común, serán los más relevantes. Recientes estudios por PCR señalan que los rinovirus son una de las causas más importantes de agudizaciones leves y graves del asma, tanto en niños como en adultos, y son los responsables de hasta dos de cada tres exacerbaciones virales¹²⁹.

Lo dicho hasta ahora respecto de los virus y el asma puede ser aplicado a *C. pneumoniae*, puesto que se trata también de un patógeno intracelular obligado, capaz de inducir respuestas inmunológicas semejantes, de sobrevivir además largo tiempo en el interior de las células, incluyendo las bronquiales, y de producir infecciones crónicas cuya patogenia está en relación con mecanismos inmunitarios. *Mycoplasma pneumoniae* ha sido también reconocido como destacado agente desencadenante de crisis de disnea sibilante¹³⁰⁻¹³². Fryden et al³⁵ fueron los primeros que describieron un caso de infección aguda por *C. pneumoniae* que produjo una reacción asmática. Poco tiempo después, en 1991, fue publicado un estudio prospectivo de 365 pacientes adultos con infección respiratoria aguda, de los que 19 (5%) tenían criterios serológicos de infección aguda por *C. pneumoniae*. Nueve (47%) presentaron broncospasmo, cuatro correspondieron a exacerbación de un asma previo, y cuatro fueron diagnosticados por primera vez de asma bronquial después del episodio agudo⁵¹. En el seguimiento a que fueron sometidos todos los pacientes, se pudo observar cómo la aparición posterior de sibilancias, dentro de los primeros 6 meses tras su inclusión, estaba fuertemente relacionada con la magnitud del títu-

lo de anticuerpos frente a *C. pneumoniae*. Estudios posteriores han demostrado que este germen es una causa común de exacerbación del asma, tanto en adultos¹³³ como en niños¹³⁴, y puede afirmarse que está perfectamente establecido que *Chlamydia pneumoniae* es un agente capaz de desencadenar hiperreactividad bronquial y de exacerbar un asma bronquial preexistente, y su frecuencia al respecto no parece muy inferior a la de los virus ni a la de *M. pneumoniae*^{128,133}. Thom et al⁸⁰ encontraron que el 19% de un grupo de 21 adultos con infección por *C. pneumoniae* presentó disnea sibilante, y esta proporción fue similar en las infecciones por *M. pneumoniae* y virus influenza A. Otro estudio¹³⁵ ha aportado nuevos datos respecto a la relación del germen con el inicio de un asma crónica. Uno de cada cuatro de 131 pacientes con infección respiratoria aguda presentó signos y síntomas de hiperreactividad bronquial; 12 (9,2%) cumplían los criterios de asma bronquial de la ATS, y cinco desarrollaron un asma bronquial crónica "nueva" tras la infección aguda. Dos de estos cinco mostraron seroconversión para *C. pneumoniae*, y uno para *Mycoplasma pneumoniae*. Es posible que, de haberse empleado técnicas de cultivo, el número de infectados por *C. pneumoniae* hubiera sido aún mayor, por la existencia de casos cultivo-positivos y serología-negativos¹³⁴. *Mycoplasma pneumoniae*, que al contrario de los virus y de *Chlamydia pneumoniae* no es un patógeno intracelular obligado, no parece tener capacidad de desarrollar un asma crónica^{128,132}. Otros datos serológicos incluyen una serie de 104 asmáticos (criterios de la ATS) que fueron clasificados en un grupo de asma "no infecciosa" (alérgica, ocupacional e inducida por el ejercicio), y en otro de "asma infecciosa" (asma que comenzó tras infección respiratoria aguda). Se comprobó que 2 de cada 3 sujetos de este último grupo presentaron un perfil serológico elevado frente a *Chlamydia pneumoniae* (IgG \geq 128/IgA \geq 16), que implicaba además un valor predictivo positivo del 87% para "asma infecciosa", mientras que la mayoría de los del otro grupo tuvieron perfil serológico bajo¹³⁶.

Los estudios precedentes podrían ser criticados por apoyarse en criterios serológicos, que presentan limitaciones de sensibilidad y especificidad, ya comentadas, y proporcionan evidencias sólo indirectas de infección por *Chlamydia pneumoniae*. Sin embargo, existen también estudios relacionando al microorganismo con la producción de sibilantes, la exacerbación o el inicio de un asma crónica, en los que se ha demostrado la presencia de genoma o antígenos del germen, o en los que éste ha podido ser aislado por cultivo. Se han publicado casos de asma exacerbado con serología positiva e identificación de *C. pneumoniae* por DFA en lavados de boca¹³³, así como hallazgos en cultivo en sujetos con bronquitis aguda con sibilantes¹³⁷, agudizaciones del asma en adultos¹³⁸, y evento inicial de un asma bronquial en niños¹³⁴ y adultos^{80,139}. En un estudio de niños ingleses con asma¹⁴⁰, se identificó por PCR el genoma de *C. pneumoniae* en el 46,9% de los casos, pero no fueron observadas diferencias entre exacerbaciones (24%) y fases asintomáticas (27,7%). Estos resultados podrían explicarse, además de por su alta prevalencia en

la población general, por la capacidad del germen en permanecer largo tiempo en el organismo tras una infección, por su tendencia a la cronicación, por la existencia de portadores asintomáticos, y por la alta sensibilidad de la PCR y su imposibilidad de discernir entre microorganismos vivos y no viables. Sin embargo, y a la luz de lo comentado antes, no sería descabellado interpretar los resultados de este estudio como una consecuencia de una infección crónica en un número sorprendentemente elevado de niños con asma.

Sin embargo, y para intentar despejar alguna de estas incógnitas, se echa de menos en la mayoría de los estudios la combinación de serología con procedimientos de aislamiento. Esta combinación sí fue abordada en una serie de Emre et al¹³⁴, en la que fueron controlados prospectivamente 118 niños entre 5 y 16 años con infección respiratoria aguda y episodios de disnea sibilante, y 41 controles asintomáticos de las mismas edades. Durante la fase aguda, se aisló *C. pneumoniae* en cultivos de lavados orofaríngeos en 12 pacientes (11%) y en 2 controles (4,9%). De los 12, se evidenció en seis la persistencia de cultivos positivos y sibilancias durante los siguientes 5 meses, hasta que fueron tratados eficazmente. La persistencia de cultivos positivos se asoció frecuentemente con recurrencias de disnea sibilante. Sorprendentemente, sólo en 3 de los 12 pacientes (25%) pudieron objetivarse criterios serológicos de infección. Esto fue explicado por una baja sensibilidad de las técnicas serológicas y/o una persistencia del germen largo tiempo después del comienzo de la infección, quizá en relación con una infección crónica. Por último, 9 de los 12 pacientes con cultivo positivo experimentaron una importante mejoría con antibióticos dirigidos contra *C. pneumoniae* de forma independiente de otras medidas terapéuticas. Como conclusiones de este interesante estudio, cabe destacar los siguientes puntos: 1) la asociación de *C. pneumoniae* y disnea sibilante es frecuente en niños; 2) la serología parece subestimar la prevalencia de la infección por *C. pneumoniae*, al menos en los niños; 3) la mitad de las infecciones por *C. pneumoniae* parecieron crónicas; 4) los cultivos positivos se asociaron con persistencia de sibilancias; 5) el tratamiento antibiótico prolongado puede ser eficaz *per se* en estos casos; 6) existen infecciones asintomáticas por *C. pneumoniae* en los niños (un 4,5% de controles) y 7) la infección crónica por *C. pneumoniae* puede producir inflamación crónica de las vías aéreas e hiperreactividad bronquial. En estas conclusiones subyace la duda de la existencia o no de verdaderos *portadores* asintomáticos o "infectados durante largo tiempo".

Otro de los fundamentos sobre el que se sustenta la relación *Chlamydia pneumoniae*-asma es la respuesta de la obstrucción bronquial a un tratamiento antibiótico. Además del estudio de Emre et al aquí mencionado, han sido publicados casos de mejoría del asma con terapia anticlamidial¹⁴¹, e incluso desaparición completa de los síntomas con remisiones prolongadas y normalización de los parámetros ventilatorios en casos de difícil control¹⁴². Hahn et al¹³⁹ trataron con doxiciclina, azitromicina o eritromicina a 46 adultos asmáticos con serología positiva a *C. pneumoniae* y encontraron remisión com-

pleta en siete, y mejoría significativa en 18, consiguiendo los mejores resultados en asma leve y de corta evolución, y con tratamientos largos (3-9 semanas). Se ha descrito el caso de un asmático que mejoró de su enfermedad tras tratamiento antibiótico, coincidiendo con la erradicación de *C. pneumoniae* de su faringe y la desaparición de su eosinofilia periférica¹⁴³. También se han publicado mejorías de asma corticodependientes y seropositivos con antibióticos anticlamidiales, que permitieron abandonar los esteroides orales¹²⁸. A pesar de todo, y en ausencia de estudios controlados en grandes series de pacientes, no está justificado hoy día, salvo excepciones, el tratamiento antibiótico en asmáticos con serología positiva. Al no contar con fármacos con acción exclusiva anticlamidial, esta actitud implicaría un uso demasiado temprano de medicamentos de espectro muy amplio y muy importantes en el tratamiento de otras infecciones.

Es conocida desde hace tiempo la influencia de las infecciones virales de la primera infancia, especialmente la bronquiolitis por VSR, en la incidencia futura de procesos obstructivos¹⁷, así como la existencia de respuestas IgE específicas frente al VSR¹⁴⁴ y parainfluenza¹⁴⁵, y su relación con la aparición de disnea sibilante¹⁴⁶. Pues bien, recientemente se ha demostrado la existencia de IgE específicas frente a *C. pneumoniae* en 12 de 14 (85,7%) niños asmáticos con exacerbación infecciosa con cultivo positivo del germen, mientras que sólo aparecieron IgE en el 9% de los niños con neumonía con cultivo positivo, en el 18% de los asmáticos con cultivo negativo y en el 22% de los asmáticos con cultivo negativo. Además, la presencia de IgE no se asoció a la de IgG ni IgM¹⁴⁷. Aunque tanto los virus como *Chlamydia pneumoniae* han demostrado, como los alérgenos, ser capaces de desarrollar mecanismos de hipersensibilidad tipo I, es muy posible que la aparición de respuestas IgE específicas frente a los virus y *C. pneumoniae* sea debida a una regulación del sistema inmune genéticamente controlada y similar a la de los pacientes atópicos. Dicha regulación implica el predominio en las vías aéreas de la subpoblación T helper 2 (Th2) que, convenientemente estimulada, da lugar a una respuesta de citocinas limitada a un "repertorio alérgico" que incluye interleucina 4 (IL-4) e interleucina 5 (IL-5). Una respuesta dominante T helper 1 (Th1), que es la habitual en las infecciones por microorganismos intracelulares y que se salda con su destrucción, sería mucho más ventajosa para el paciente y más desfavorable para el agente infectante (fig. 1). Esto explicaría que una infección pueda desencadenar una reacción asmática durante su evolución o algún tiempo después, pero no que un individuo con infección remota en el tiempo (p. ej., durante la primera infancia) tenga más posibilidades de desarrollar un asma bronquial en su vida futura. Puede perfectamente argumentarse que el asma futuro de individuos con respuestas IgE previas esté más en relación con su condición de atópicos que con la propia infección. En este sentido, estudios recientes han demostrado en infecciones experimentales por rinovirus en humanos que en la mucosa de los atópicos se producían fenómenos inflamatorios mucho mayores que en no atópicos, y que

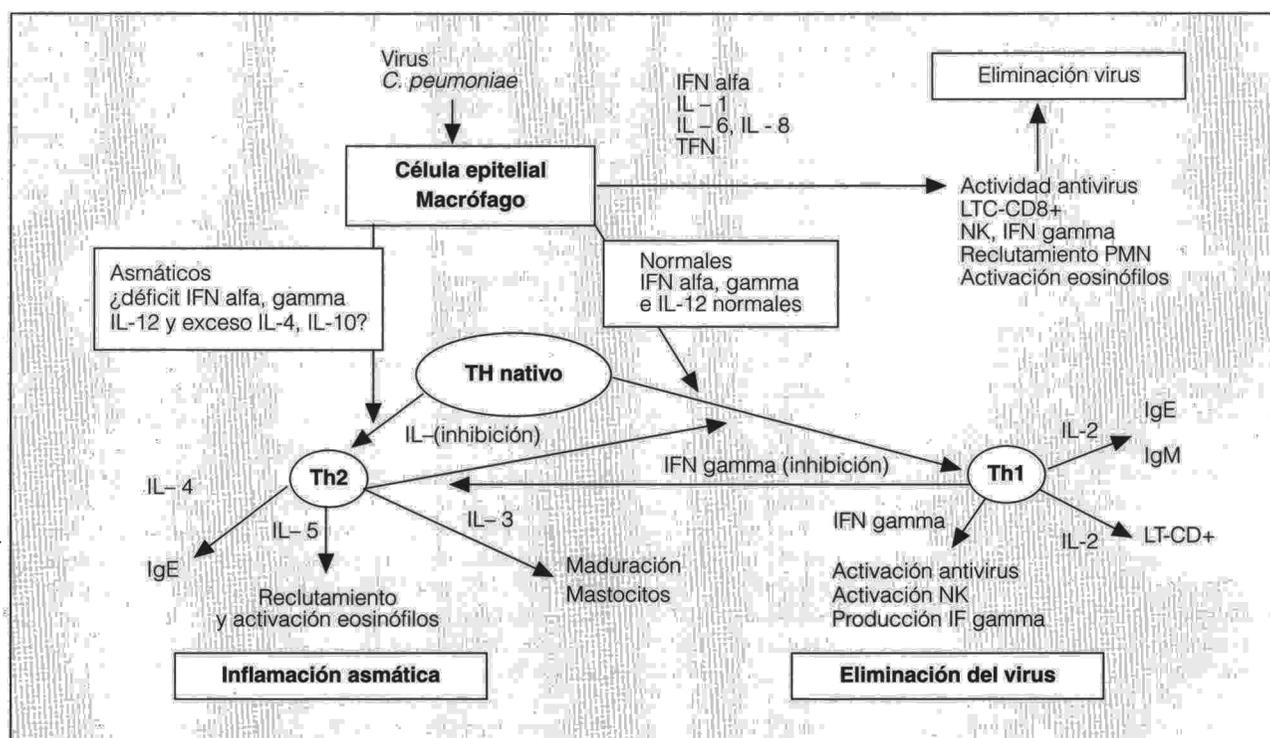


Fig. 1. Mecanismos inmunológicos implicados en la relación entre infección y asma. (Modificada de Johnston SL. *Am J Respir Crit Care Med* 1995.)

se daban en aquellos cambios en la actividad celular capaces de desencadenar una respuesta asmática¹²⁹. La posibilidad de que los virus y *C. pneumoniae* representen un "antígeno perdido" en sujetos considerados no atópicos ha sido sugerida^{148,149}, pero otros mecanismos inmunológicos resumidos en la tabla III^{128,150-153} podrían estar involucrados en la reacción infección-asma no alérgica.

Sin embargo, quedan preguntas en el aire, como: ¿por qué en sujetos no atópicos, fundamentalmente adultos, se puede iniciar un asma crónica tras una infección aguda? ¿Puede un germen provocar largo tiempo después de la enfermedad aguda reacciones asmáticas? ¿Puede un microorganismo modificar una respuesta inmune de tal forma que resulte más provechosa para éste? Aunque no conocemos las respuestas, sí podemos repasar algunos aspectos en relación con estas cuestiones. Recientemente se ha demostrado la persistencia durante largo tiempo en el aparato respiratorio de fragmentos de virus vivos y de fragmentos de virus (adenovirus) en pacientes con asma persistente que comenzó con una infección aguda viral¹⁵⁴⁻¹⁵⁶. Estos hechos sugieren que un asma bronquial persistente ha podido tener su origen en una bronquitis o bronquiolitis viral, y soportan la llamada teoría de los virus persistentes o residentes. Según ésta, virus enteros con bajo grado de replicación o fragmentos virales serían capaces de expresarse de forma continuada tras la infección aguda, dando lugar a una respuesta inflamatoria crónica equiparable a la que ocurre en la vía aérea de los asmáticos¹⁵⁴. Se ha demostrado en modelos animales¹⁵⁷ y en humanos¹³⁸ que *Chlamydia pneumoniae* puede producir infección persistente con inflamación de la vía aérea. También se ha evi-

denciado la aparición de asma bronquial tras episodios de infección por *C. pneumoniae*, cuya persistencia en la vía aérea se veía acompañada de la de obstrucción bronquial y en ausencia de serología "aguda", sugiriendo la existencia de infección crónica¹³⁹. Por último, se ha encontrado asociación de títulos de IgA específica, considerado marcador de infección crónica, con asma de reciente diagnóstico¹²⁸, y cada vez parece más claro que la infección crónica y la reinfección por *C. pneumoniae* puede producir una respuesta inmunológica hipotéticamente capaz de desencadenar un asma de larga evolución⁵¹ (tabla IV).

Es evidente que la respuesta inmunoinflamatoria frente a una infección aguda estará, como se ha comentado, condicionada por la dotación genética del paciente (p. ej., atopia) y por situaciones de predisposición individual, como infecciones previas o concurrentes, bronquiectasias, inhalación de irritantes, etc. Sin embargo, es muy posible que determinados microorganismos em-

TABLA III
Posibles mecanismos inmunopatológicos de la producción de asma por virus y *Chlamydia pneumoniae*^{128,150}

IgE específica frente a microorganismos
Modificación de la producción de mediadores en los monocitos infectados
Denudación del epitelio y ciliostasis, demostradas en <i>C. pneumoniae</i> ^{151,152}
Alteración del papel inhibitorio de los macrófagos infectados sobre las células T sensibilizadas
Posible papel de las proteínas <i>heat-shock</i> de <i>C. pneumoniae</i> en la respuesta inmunopatológica del asma ¹⁵³

TABLA IV
Relación *Chlamydia pneumoniae*-asma bronquial.
Estado actual

Es causa de agudizaciones del asma
Existen evidencias serológicas (indirectas) sugiriendo relación infección por *C. pneumoniae*-asma
Se han descrito infecciones por *C. pneumoniae* documentadas por PCR y cultivos, asociadas a asma bronquial crónico
No está demostrada una relación causa-efecto infección por *C. pneumoniae* inicio del asma bronquial crónico
No se ha cultivado *C. pneumoniae* de la mucosa bronquial de asmáticos, y no existen estudios suficientes para reconocer su posible papel en la etiología del asma

TABLA V
Hipótesis relación asma bronquial-
Chlamydia pneumoniae

Se han demostrado infecciones persistentes por *C. pneumoniae* (> 11 meses) tras infecciones agudas respiratorias
Una infección crónica (o reinfección) por *C. pneumoniae* es capaz de producir inmunopatología mediada por linfocitos T
Por tanto es, como los virus, hipotéticamente capaz de producir una inflamación asmática, y de larga evolución
Los antibióticos podrían reducir la carga de antígenos asociados a la infección y a los síntomas asmáticos

pleen complicadas estrategias de supervivencia capaces de modificar dicha respuesta. Ya se ha hablado de que la respuesta Th1 está característicamente inducida por patógenos intracelulares, como *C. pneumoniae* y virus, mientras que los patógenos extracelulares, como los helmintos, desencadenan respuestas predominantes Th2, que producen IL-4 (inductora de IgE) e IL-5 (quimiotáctica para eosinófilos). Cada una de estas líneas produce sustancias encaminadas a dominar la respuesta inflamatoria sobre la otra; así, las Th2 producen IL-10, que inhibe la activación de las Th1, y éstas hacen lo propio con las Th2 mediante el interferón gamma (fig. 1). Pues bien, se han identificado proteínas sintetizadas por ciertos virus (como la glucoproteína G del VRS) que son reconocidas como antígenos por los Th2 que, una vez activados, dominan una respuesta inflamatoria con importante aflujo de eosinófilos e inhiben a la vez una respuesta Th1, nociva para el virus. En cambio, la respuesta Th2, que incluye hipersecreción de moco, tos y el resto de eventos de la reacción asmática, contribuye mejor a la diseminación del germen. Otros virus sintetizan sustancias homólogas a la IL-10, y también un polipéptido que se une al receptor del interferón gamma, bloqueando ambos la respuesta antiviral Th1. Por otro lado, los virus más comunes, al contrario que otros nuevos y mal adaptados como el VIH, han podido desarrollar estos mecanismos y otros que les permitan convivir con el hombre sin dañarlo lo suficiente para impedirle una actividad social aceptable para su diseminación¹⁵⁸. Una vez más, aunque no contamos aún con datos concretos al respecto, cabría esperar fenómenos similares en *C. pneumoniae*, patógeno no nuevo, sino recientemente descubierto (tabla V). La posibilidad de que, al menos en algunos casos, el asma tenga su origen en una infección tratable (como ocurre con el úlcus gas-

troduodenal), abriría las puertas a un tratamiento etiológico potencialmente curativo en una enfermedad que por ahora cuenta con fármacos, aunque cada vez más efectivos, de acción únicamente paliativa.

BIBLIOGRAFÍA

- Kahane S, Gonen R, Sayada C, Elion J, Friedman MG. Description and partial characterisation of a new *Chlamydia*-like microorganism. FEMS Microbiol Lett 1993; 109: 329-334.
- Fukushi H, Hirai K. *Chlamydia pecorum* - the fourth species of genus *Chlamydia*. Microbiol Immunol 1993; 35: 515-522.
- Grayston JT, Kuo CC, Campbell LA, Wang SP. *Chlamydia pneumoniae* sp. nova for *Chlamydia* sp. strain TWAR. Int J Syst Bacteriol 1989; 39: 88-90.
- Cunha BA. The *Chlamydial* pneumonias. En: Chmel H, Bendi-nelli M, Friedman H, editores. Pulmonary infections and Immunity. Nueva York: Plenum Press, 1994; 183-196.
- Bello Dronda S. Infección respiratoria por *Chlamydia pneumo-niae*. En: Caminero Luna JA, Fernández Fau L, editores. Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica. Actualizaciones SEPAR. Vol 2. Barcelona: Prous Science, 1996; 141-172.
- Leinonen M, Laurila A, Laitinen K, Surcel HM. Immunology of *Chlamydia pneumoniae*. En: Allegra L, Blasi F, editores. *Chlamydia pneumoniae* infection. Milán: Springer-Verlag, 1995; 39-50.
- Lindquist S, Craig EA. The heat shock proteins. Ann Rev Genet 1988; 22: 631-677.
- Watkins NG, Hadlow WJ, Moos AB, Caldwell HD. Ocular delayed hypersensitivity: a pathogenetic mechanism of *Chlamydial* conjunctivitis in guinea pig. Proc Natl Acad Sci 1986; 83: 7.480-7.487.
- Kikuta LC, Poulakkainen M, Kuo CC, Campbell LA. Isolation and sequence analysis of the *Chlamydia pneumoniae* Gro EL operon. Infect Immun 1991; 59: 4.665-4.669.
- Tipple M, Beem MO, Saxon E. Clinical characteristics of the afebrile pneumonia associated with *Chlamydia trachomatis* infection in infants less than 6 months of age. Pediatrics 1979; 63: 192-197.
- Arth C, Von Schmidt B, Grossman M, Schachter J. Chlamydial pneumonitis. J Pediatr 1978; 93: 447-449.
- Harrison HR, English MG, Lee CK. *Chlamydia trachomatis* infant pneumonitis: comparison with matched controls and other infant pneumonitis. N Engl J Med 1978; 298: 702-708.
- Schachter J, Grossman M. Chlamydial infections. Annu Rev Med 1981; 32: 45-61.
- Fraiz J, Jones RB. Chlamydial infections. Annu Rev Med 1988; 39: 357-370.
- Ridgeway GL. Chlamydial infection in man. Postgrad Med 1986; 62: 249-253.
- Cunha BA. Chlamydial infections in man. Infect Dis Prac 1987; 10: 1-12.
- Panitch HB, Callahan CW, Schidlow DW. Bronchiolitis in children. Clin Chest Med 1993; 14: 715-731.
- Zalacaín R, Llorente JL, Gaztelurrutia L, Zenarruzabeitia E, Ure-sandi F, Sobradillo V. La punción transtorácica aspirativa con aguja ultrafina en las neumonías de alto riesgo adquiridas en la comunidad. Med Clin (Barc) 1993; 100: 567-570.
- Kirchner JT, Boyarsky SA. *Chlamydia psittaci*. An uncommon cause of community-acquired pneumonia. Arch Fam Med 1993; 2: 997-1.001.
- Amin JD, Wilmshire AJ. Detection of *Chlamydia psittaci* (ovis) antigen in tissue sections and McCoy cells using streptavidin-biotin and the IMAGEN staining method. Br Vet J 1994; 150: 555-560.
- Ts'ao YC, Magee WE. Monoclonal antibody to a major outer membrane protein of feline *Chlamydia psittaci*: antibody specificity and anti-idiotypic antibody production. Vet Microbiol 1994; 42: 1-13.
- Tuazon CU, Murray H. Atypical pneumonias. En: Pennington JE, editor. Respiratory infections. Diagnosis and management (3.ª ed.). Nueva York: Raven Press, 1994; 407-433.

23. Lipman NS, Yan LL, Murphy JC. Probable transmission of *Chlamydia psittaci* from a macaw to a cat. *J Am Vet Med Assoc* 1994; 204: 1.479-1.480.
24. Durfee PT, Pullen MM, Currier RW, Parker RL. Human psittacosis associated with commercial processing of turkeys. *J Am Vet Assoc* 1975; 167: 804-808.
25. Schlossberg D, Delgado J, Moore MM, Wishner A, Mohn J. An epidemic of avian and human psittacosis. *Arch Intern Med* 1993; 153: 2.594-2.596.
26. Olson BJ, Truling WL. An epidemic of severe pneumonitis in the Bayou region of Louisiana. *Public Health Report. J Epidemiol Study* 1944; 59: 1.299-1.311.
27. Irigaray R, Dorca J. Neumonías atípicas. *Arch Bronconeumol* 1996; 32: 187-195.
28. Johnson CC, Finegold SM. Pyogenic bacterial pneumonia, lung abscess, and empyema. En: Murray JF, Nadel JA, editores. *Textbook of respiratory medicine* (2.^a ed.). Vol. 1. Filadelfia: W.B. Saunders Company, 1994; 1.036-1.093.
29. Viciana P, Bozada JM, Martín Sanz V, Martínez Marcos F, Martín A, Pachon J. Psitacosis de origen aviar como etiología de neumonías extrahospitalarias de presentación grave. *Rev Clin Esp* 1993; 192: 28-30.
30. Bhandari S. Fulminant psittacosis. *Respir Med* 1995; 89: 155.
31. Verweij PE, Meis JF, Eijk R, Melchers WJ, Galama JM. Severe human psittacosis requiring artificial ventilation: case report and review. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 440-442.
32. Harding HB. The bacteria-like chlamydia of ornithosis and the diseases: they cause. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci* 1970; 1: 451-469.
33. Coutts H, MacKenzie S, White RJ. Clinical and radiographic features of psittacosis infections. *Thorax* 1985; 40: 530.
34. Pether JVS, Wang SP, Grayston JT. *Chlamydia pneumoniae*, strain TWAR, as the cause of an outbreak in a boys' school previously called psittacosis. *Epidemiol Infect* 1989; 103: 395-400.
35. Fryden A, Kihlström E, Maller R, Persson K, Romanus V, Ansehn S. A clinical and epidemiological study of "ornithosis" caused by *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia pneumoniae* (strain TWAR). *Scand J Infect Dis* 1989; 21: 681-691.
36. Yung AP, Grayston ML. Psittacosis: a review of 135 cases. *Med J Aust* 1988; 148: 228-233.
37. Schaffner W. TWAR. En: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, editores. *Principles and practice of infectious diseases* (3.^a ed.). Nueva York: Churchill Livingstone, 1990; 1.443-1.444.
38. Cook PJ, Honeybourne D. Clinical aspects of *Chlamydia pneumoniae* infection. *Presse Med* 1995; 24: 278-282.
39. Thom D. Lower respiratory infection with *Chlamydia pneumoniae*. *Arch Fam Med* 1994; 3: 828-832.
40. Grayston JT. Infections caused by *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 757-763.
41. Marrie TJ. *Chlamydia pneumoniae*. *Thorax* 1993; 48: 1-4.
42. Ogawa H, Fujisawa T, Kazuyama Y. Isolation of *Chlamydia pneumoniae* from the middle ear aspirates of otitis media with effusion. *Case report. J Infect Dis* 1990; 162: 1.000-1.001.
43. Ogawa H, Hashiguchi K, Kazuyama Y. Recovery of *Chlamydia pneumoniae* in six patients of otitis media with effusion. *J Laryngol Otol* 1992; 106: 490-492.
44. Beaty CD, Grayston JT, Wang SP, Kuo CC, Reto CS, Martin TR. *Chlamydia pneumoniae*, strain TWAR, infection in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144: 1.408-1.410.
45. Blasi F, Legnani D, Lombardo VM, Negretto GG, Magliano E, Pozzoli R et al. *Chlamydia pneumoniae* infection in acute exacerbations of COPD. *Eur Respir J* 1993; 6: 19-22.
46. Braun J, Laitkos S, Treharne J, Eggen U, Wu P, Distler A et al. *Chlamydia pneumoniae* - a new causative agent of reactive agent of reactive arthritis and undifferentiated oligoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1994; 53: 100-105.
47. Haidl S, Ivarsson S, Bjerre I, Persson K. Guillain Barré syndrome after *Chlamydia pneumoniae* infection. *N Engl J Med* 1992; 326: 576-577.
48. Socan M, Beovic B. *Chlamydia pneumoniae* and meningoencephalitis. *N Engl J Med* 1994; 331: 406.
49. Bourke SJ, Lightfoot NF. *Chlamydia pneumoniae*: defining the clinical spectrum of infection requires precise laboratory diagnosis. *Thorax* 1995; 50: 43-48.
50. Saikku P, Leinonen M, Tenkanen L, Linnanmaki E, Ekman MR, Manninen V et al. Chronic *Chlamydia pneumoniae* infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *Ann Intern Med* 1992; 116: 273-278.
51. Hahn DL, Dodge RW, Golubjatnikov R. Association of *Chlamydia pneumoniae* (strain TWAR) infection with wheezing, asthmatic bronchitis, and adult onset of asthma. *JAMA* 1991; 266: 225-230.
52. Grönhagen-Riska C, Saikku P, Riska H, Fröseth B, Grayston JT. Antibodies to TWAR - a novel type of *Chlamydia* - in sarcoidosis. En: Grassi C, editor. *Sarcoidosis and other granulomatous disorders*. Amsterdam: Elsevier Scientific Publ., 1988; 297-301.
53. Smadel JE. Atypical pneumonia and psittacosis. *J Clin Invest* 1943; 22: 88-90.
54. Kuo CC, Chen HH, Wang SP, Grayston JT. Characterization of TWAR strain, a new group of *Chlamydia psittaci*. En: Oriol D, Ridgway G, Schachter J, Taylor-Robinson Ward M, editores. *Chlamydial infections. Proceedings of the Sixth International Symposium on Human Chlamydial Infections*. Cambridge: Cambridge University Press, 1987; 321-324.
55. Saikku P, Wang SP, Kleemola M, Brander E, Rusanen E, Grayston JT. An epidemic of mild pneumonia due to an unusual strain of *Chlamydia psittaci*. *J Infect Dis* 1985; 151: 832-839.
56. Grayston JT, Kuo CC, Wang SP, Altman J. A new *Chlamydia psittaci*, strain TWAR, isolated in acute respiratory tract infections. *N Engl J Med* 1986; 315: 161-168.
57. Storey C, Lusher M, Yates P, Richmond S. Evidence for *Chlamydia pneumoniae* of non human origin. *J Gen Microbiol* 1993; 139: 2.621-2.626.
58. Chi EY, Kuo CC, Grayston JT. Unique ultrastructure in the elementary body of *Chlamydia* sp. strain TWAR. *J Bacteriol* 1987; 169: 3.757-3.763.
59. Hammerschlag MR. *Chlamydia pneumoniae*. A new respiratory pathogen. *Inf Dis News* 1992; 11: 1-4.
60. Grayston JT. *Chlamydia pneumoniae* (TWAR) infections in children. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13: 675-685.
61. Gobernado M, García de Lomas J. Actualidad de *Chlamydia pneumoniae*. *Forhos* 1994; 5: 3-9.
62. Grayston JT, Wang SP, Kuo CC, Campbell LA. Current knowledge on *Chlamydia pneumoniae*, strain TWAR, an important cause of pneumonia and other acute respiratory diseases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1989; 8: 191-202.
63. Yamazaki T, Nakada H, Sakurai N, Kuo CC, Wang SP, Grayston JT. Transmission of *Chlamydia pneumoniae* in young children in a Japanese family. *J Infect Dis* 1990; 162: 1.390-1.392.
64. Aldous MB, Grayston JT, Wang SP, Foy HM. Seroepidemiology of *Chlamydia pneumoniae* TWAR infection in Seattle families, 1966-1979. *J Infect Dis* 1992; 166: 646-649.
65. Gnarp J, Gnarp H, Sundelof B. Endemic prevalence of *Chlamydia pneumoniae* in healthy persons. *Scand J Infect Dis* 1991; 23: 387-388.
66. Hyman CL, Roblin PM, Gaydos CA, Quinn TC, Schachter J, Hammerschlag MR. Prevalence of asymptomatic nasopharyngeal carriage of *Chlamydia pneumoniae* in subjectively healthy adults: assessment by polymerase chain reaction-enzyme immunoassay and culture. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 1.174-1.178.
67. Chirgwin K, Roblin PM, Gelling M, Hammerschlag MR, Schachter J. Infection with *Chlamydia pneumoniae* in Brooklyn. *J Infect Dis* 1991; 163: 757-761.
68. Ekman MR, Grayston JT, Visakorpi R, Kleemola M, Kuo CC, Saikku P. An epidemic of infections due to *Chlamydia pneumoniae* in military conscripts. *Clin Infect Dis* 1993; 17: 420-425.
69. Li DK, Daling JR, Wang SP, Grayston JT. Evidence that *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR is not sexually transmitted. *J Infect Dis* 1989; 160: 328-331.
70. Falsey AR, Walsh EE. Transmission of *Chlamydia pneumoniae*. *J Infect Dis* 1993; 168: 493-496.
71. Mordhorst CH, Wang SP, Grayston JT. Transmission of *C. pneumoniae* (TWAR). En: Orfila J, Byrne GI, Cherneskey MA, Grayston JT, Jones RP, Ridgway GL et al, editores. *Chlamydial infections-1994*. Bologna: Societa Editrice Esculapio, 1994; 488-491.
72. Karvonen M, Toumiletto J, Pitkanieni J, Saikku P. The epidemic cycle of *Chlamydia pneumoniae* infection in eastern Finland, 1972-1987. *Epidemiol Infect* 1993; 110: 349-360.

73. Cook PJ, Honeybourne D. *Chlamydia pneumoniae*: a review. *J Antimicrob Chemother* 1994; 34: 859-873.
74. Montes M, Cilla G, Alcorta M, Pérez Trallero E. High prevalence of *Chlamydia pneumoniae* infection in children and young adults in Spain. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11: 972-973.
75. Kanamoto Y, Ouchi K, Mizui M, Ushio M, Usui T. Prevalence of antibody to *Chlamydia pneumoniae* TWAR in Japan. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 816-818.
76. Wang SP, Grayston JT. Population prevalence antibody to *Chlamydia pneumoniae*, strain TWAR. En: Bowie WR, Caldwell HD, Jones RP, Mardh PA, Ridgway GL, Schachter J et al, editores. *Chlamydial infections*. Cambridge: Cambridge University Press, 1990; 402-405.
77. Patnode D, Wang SP, Grayston JT. Persistence of *Chlamydia pneumoniae*, strain TWAR, micro-immunofluorescent antibody. En: Bowie WR, Caldwell HD, Jones RP, Mardh PA, Ridgway GL, Schachter J et al, editores. *Chlamydial Infections*. Cambridge: Cambridge University Press, 1990; 406-409.
78. Kuo CC, Jackson LA, Campbell LE, Grayston JT. *Chlamydia pneumoniae* (TWAR). *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 451-461.
79. Marrie TJ, Grayston JT, Wang SP, Kuo CC. Pneumonia associated with the TWAR strain of *Chlamydia*. *Ann Intern Med* 1987; 106: 507-511.
80. Thom DH, Grayston JT, Campbell LA, Kuo CC, Diwan VK, Wang SP. Respiratory infection with *Chlamydia pneumoniae* in middle-aged and older adult outpatients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13: 785-792.
81. Kauppinen M, Saikku P. Pneumonia due to *Chlamydia pneumoniae*: prevalence, clinical features, diagnosis, and treatment. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 244-252.
82. Torres A, El-Ebiari M. Relevance of *Chlamydia pneumoniae* in community-acquired respiratory infections. *Eur Respir J* 1993; 6: 7-8.
83. Augenbraun MH, Roblin PM, Mandel LJ, Hammerschlag MR, Schachter J. *Chlamydia pneumoniae* pneumonia with pleural effusion: diagnosis by culture. *Am J Med* 1991; 91: 437-438.
84. Kauppinen MT, Saikku P, Kujala P, Herva E, Syrjala H. Clinical picture of community-acquired *Chlamydia pneumoniae* pneumonia requiring hospital treatment: a comparison between chlamydial and pneumococcal pneumonia. *Thorax* 1996; 51: 185-189.
85. Grayston JT, Diwan VK, Cooney M, Wang SP. Community- and hospital-acquired pneumonia associated with *Chlamydia* TWAR infection demonstrated serologically. *Arch Intern Med* 1989; 149: 169-173.
86. Cosentini R, Blasi F, Rossi S, Raccanelli R, Rinaldi A, Tarsia P et al. *Chlamydia pneumoniae* and severe community-acquired pneumonia. En: Orfila J, Byrne GI, Cherneskey MA, Grayston JT, Jones RP, Ridgway GL et al, editores. *Chlamydial infections-1994*. Bologna: Società Editrice Esculapio, 1994; 453-456.
87. Almirall J, Morató I, Riera F, Verdager A, Priu R, Coll P et al. Incidence of community-acquired pneumonia and *Chlamydia pneumoniae* infection: a prospective multicentre study. *Eur Respir J* 1993; 6: 14-18.
88. Augenbraun MH, Roblin PM, Chirgwin K, Landman D, Hammerschlag MR. Isolation of *Chlamydia pneumoniae* from the lungs of patients infected with the human immunodeficiency virus. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 401-402.
89. Gaydos CA, Fowler CL, Gill VJ, Eiden JJ, Quinn TC. Detection of *Chlamydia pneumoniae* by polymerase chain reaction-enzyme immunoassay in an immunocompromised population. *Clin Infect Dis* 1993; 17: 718-723.
90. Grayston JT, Campbell LA, Kuo CC, Mordhorst CH, Saikku P, Thom DH et al. A new respiratory tract pathogen, *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. *J Infect Dis* 1990; 161: 618-625.
91. Dalhoff K, Maass M. *Chlamydia pneumoniae* pneumonia in hospitalized patients. Clinical characteristics and diagnostic value of polymerase chain reaction detection in BAL. *Chest* 1996; 110: 351-356.
92. Saikku P. Chronic *Chlamydia pneumoniae* infections. En: Allegra L, Blasi F, editores. *Chlamydia pneumoniae* infection. Milán: Springer-Verlag, 1995; 51-64.
93. Blasi F, Cosentini R. Laboratory Diagnosis. En: Allegra L, Blasi F, editores. *Chlamydia pneumoniae* infection. Milán: Springer-Verlag, 1995; 10-14.
94. Kleemola M, Saikku P, Visakorpi R, Wang SP, Grayston JT. Epidemics of pneumonia caused by TWAR, a new *Chlamydia* organism, in military trainees in Finland. *J Infect Dis* 1988; 157: 230-236.
95. Verkooyen RP, Hazenberg MA, Van Haasen GH, Van den Bosch JM, Snijder RJ, Van Helden HP et al. Age-related interferences with *Chlamydia pneumoniae* microimmunofluorescence serology due to circulating rheumatoid factor. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 1.289-1.290.
96. Bello S, Chacón E, Omeñaca M, Esteban A, Gascón M, Senar A et al. Diagnóstico precoz de la neumonía por *Mycoplasma pneumoniae* mediante la detección de IgM: estudio de dos técnicas serológicas. *Arch Bronconeumol* 1993; 29: 373-378.
97. Emre U, Hammerschlag M. In reply to: Hahn DL. Antichlamydial antimicrobial therapy for asthma. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1995; 149: 219-221.
98. Roblin PM, Dumornay W, Hammerschlag MR. Use of Hep-2 cells for improved isolation and passage of *Chlamydia pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 1.968-1.971.
99. Cles LD, Stamm WE. Use of HL cells for improved isolation and passage of *Chlamydia pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 938-940.
100. Gaydos CA, Roblin PM, Hammerschlag MR, Human CL, Eiden JJ, Schachter J et al. Diagnostic utility of PCR-enzyme immunoassay, culture and serology for detection of *Chlamydia pneumoniae* in symptomatic and asymptomatic patients. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 903-905.
101. Kuo CC, Grayston JT. In vitro drug susceptibility of *Chlamydia* sp. strain TWAR. *Antimicrob Agents Chemother* 1988; 32: 257-258.
102. Fenelon LE, Mumtaz G, Ridgway GL. The in-vitro susceptibility of *Chlamydia pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 1990; 2: 763-767.
103. Roblin PM, Montalban G, Hammerschlag MR. Susceptibilities to clarithromycin and erythromycin of isolates of *Chlamydia pneumoniae* from children with pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 1.588-1.589.
104. Hammerschlag MR. Antimicrobial susceptibility and therapy of infections caused by *Chlamydia pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 1.873-1.878.
105. Saikku P, Mattila K, Nieminen MS, Makela PH, Huttunen JK, Valtonen V. Serological evidence of an association of a novel *Chlamydia* TWAR, with chronic coronary artery disease and acute myocardial infarction. *Lancet* 1988; 2: 983-986.
106. Linnanmäki E, Leinonen M, Ekman MR, Mattila K, Nieminen MS, Valtonen V et al. *Chlamydia pneumoniae* specific circulating immune complexes in chronic heart disease. *Circulation* 1993; 87: 1.130-1.134.
107. Melnick SL, Shahar E, Folsom AR, Grayston JT, Sorlie PD, Wang SP et al. Past infection by *C. pneumoniae* strain TWAR and asymptomatic carotid atherosclerosis. *Am J Med* 1993; 95: 499-504.
108. Thom DH, Wang SP, Grayston JT, Siscovick DS, Stewart DK, Konmal RA et al. *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR antibody and angiographically demonstrated coronary artery disease. *Arterioscler Thromb* 1991; 11: 547-551.
109. Thom DH, Grayston JT, Siscovick DS, Wang SP, Weiss NS, Daling JR. Association of prior infection with *Chlamydia pneumoniae* and angiographically demonstrated coronary artery disease. *JAMA* 1992; 268: 68-72.
110. Poulakkainen M, Parker J, Kuo CC, Shor A, Wang SP, Grayston JT et al. Serological response to *Chlamydia pneumoniae* in adults with coronary arterial fatty streaks and fibrolipid plaques. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2.212-2.214.
111. Haidl ST, Müller J, Israelsson B, Persson K. Ischemic heart disease and antibodies to *Chlamydia pneumoniae* (TWAR). En: Mardh PA, La Placa M, Ward M, editores. Second proceeding of the European Society for Chlamydia Research. Bologna: Società Editrice Esculapio, 1992; 174.
112. Mendall MA, Carrington D, Strachan D, Patel P, Molineaux N, Levi J et al. *Chlamydia pneumoniae*: risk factors for seropositivity and association with coronary heart disease. *J Infect* 1995; 30: 121-128.
113. Frick MH, Elo O, Haapa K, Heinonen OP, Heinsalmi P, Helo P et al. Helsinki Heart Study: primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipemia. Safety of treatment, changes in risk factors, and incidence of coronary heart disease. *N Engl J Med* 1987; 317: 1.237-1.245.
114. Xu Q, Willeit J, Marosi M, Kleindienst R, Oberhollenzer F, Kiechl S et al. Association of serum antibodies to heat-shock protein 65 with carotid atherosclerosis. *Lancet* 1993; 341: 255-259.

115. Xu Q, Luef G, Weimann S, Gupta RS, Wolf H, Wick G. Staining of endothelial cells and macrophages in atherosclerotic lesions with human heat-shock protein-reactive antisera. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1.763-1.769.
116. Chi EY, Kuo CC, Grayston JT. Unique ultrastructure in the elementary bodies of *Chlamydia* sp. strain TWAR. *J Bacteriol* 1987; 169: 2.757-2.763.
117. Kuo CC, Shor A, Campbell LA, Fukushi H, Patton DL, Grayston JT. Demonstration of *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerotic lesions of coronary arteries. *J Infect Dis* 1993; 167: 841-849.
118. Sor A, Kuo CC, Patton DL. Detection of *Chlamydia pneumoniae* in the coronary artery atheroma plaque. *South Afr Med J* 1992; 82: 158-161.
119. Kuo CC, Gown AM, Benditt EP, Grayston JT. Detection of *Chlamydia pneumoniae* in aortic lesions of atherosclerosis by immunocytochemical stain. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1.501-1.504.
120. Campbell LA, O'Brien ER, Cappuccio AL, Kuo CC, Wang SP, Stewart D et al. Detection of *Chlamydia pneumoniae* TWAR in human coronary atherectomy tissues. *J Infect Dis* 1995; 172: 585-588.
121. Kuo CC, Grayston JT, Campbell LA, Goo YA, Wissler RW, Benditt E. *Chlamydia pneumoniae* (TWAR) in coronary arteries of young adults (15-35 years old). *Proc Natl Acad Sci* 1995; 92: 6.911-6.914.
122. Ramírez J, Ahkee S, Ganzel B, Ogden L, Gaydos C, Quinn T et al. Isolation of *Chlamydia pneumoniae* (Cp) from the coronary artery of a patient with coronary atherosclerosis [resumen]. En: Program and abstracts of the 35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC). San Francisco: American Society for Microbiology, 1995; 36.
123. Refvem O, Bjornstad RT, Loe K. The ornithosis complement fixation test in sarcoidosis. *Ann NY Acad Sci* 1976; 278: 225-228.
124. Cornog JL, Hanson CW. Psittacosis as a cause of military of infiltration of the lung and hepatic granulomas. *Am Rev Respir Dis* 1968; 98: 1.033-1.039.
125. Thomas PD, Hunninghake GW. Current concepts of the pathogenesis in sarcoidosis. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 747-760.
126. Harris AA, Pottage JC, Kessler HA, Zeihen M, Levin S. Psittacosis bacteremia in a patient with sarcoidosis. *Ann Intern Med* 1984; 502-503.
127. Crosse BA, Gomes P, Muers MM. Ovine psittacosis and sarcoidosis in a pregnant woman. *Thorax* 1991; 46: 604-606.
128. Hahn DL. Intracellular pathogens and their role in asthma: *Chlamydia pneumoniae* in adults patients. *Eur Respir Rev* 1996; 6: 224-230.
129. Johnston SL. Natural and experimental rhinovirus infection of the lower respiratory tract. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 46-52.
130. Yano T, Ichikawa Y, Komatu S, Arai S, Oizumi K. Association of *Mycoplasma pneumoniae* agent with initial onset of bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 1.348-1.353.
131. Gil JC, Cedillo RL, Mayagoitia BG, Paz MD. Isolation of *Mycoplasma pneumoniae* from asthmatic patients. *Ann Allergy* 1993; 70: 23-25.
132. Gendrel D. Intracellular pathogens and asthma: *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in paediatric patients. *Eur Respir Rev* 1996; 6: 231-234.
133. Allegra L, Blasi F, Centanni S, Cosentini R, Denti F, Raccanelli R et al. Acute exacerbations of asthma in adults: role of *Chlamydia pneumoniae* infection. *Eur Respir J* 1994; 7: 2.165-2.168.
134. Emre U, Roblin PM, Gelling M, Dumornay W, Rao M, Hammerschlag MR et al. The association of *Chlamydia pneumoniae* infection and reactive airway disease in children. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1994; 148: 727-732.
135. Hahn DL, Golubjatnikov R. Asthma and chlamydial infection: a case series. *J Fam Pract* 1994; 38: 589-595.
136. Hahn DL. Evidende for *Chlamydia pneumoniae* infection in asthma. En: Allegra L, Blasi F, editores. *Chlamydia pneumoniae* Infection. Milán: Springer-Verlag, 1995: 65-75.
137. Grayston JT, Aldous MB, Easton A, Wang SP, Kuo CC, Campbell LA et al. Evidence that *Chlamydia pneumoniae* causes pneumonia and bronchitis. *J Infect Dis* 1993; 168: 1.231-1.235.
138. Hammerschlag MR, Chirgwin K, Roblin PM, Gelling M, Dumornay W, Mandel L et al. Persistent infection with *Chlamydia pneumoniae* following acute respiratory illness. *Clin Invest Dis* 1992; 14: 178-182.
139. Hahn DL. Treatment of *Chlamydia pneumoniae* infection in adult asthma: a before-after trial. *J Fam Pract* 1995; 41: 345-351.
140. Cunningham A, Johnston S, Julious S, Sillis M, Ward ME. The role of *Chlamydia pneumoniae* and other pathogens in acute episodes of asthma in children. En: Orfila J, Byrne JJ, Chernesky MA, Grayston JT, Jones RB, Ridgeway GL et al, editores. Proceedings of the Eighth International Symposium on Human Chlamydial Infections. Chantilly, France. Bolonia: Società Editrice Esculapio 1994; 185-188.
141. Hahn DL. Clinical experience with anti-chlamydial therapy for adult-onset asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 297.
142. Hahn DL. *Chlamydia pneumoniae* infection and asthma. *Lancet* 1992; 339: 1.173-1.174.
143. Hahn DL, Smith JM. Infection as a cause of asthma. *Ann Allergy* 1994; 73: 276.
144. Welliver RC, Kaul TN, Ogra PL. The appearance of cell-bound IgE in respiratory tract epithelium after respiratory syncytial virus infection. *N Engl J Med* 1980; 303: 1.198-1.202.
145. Welliver RC, Wong DT, Middleton E, Sun M, McCarthy N, Ogra PL. Role of parainfluenza virus-specific IgE in pathogenesis of croup and wheezing subsequent to infection. *J Pediatr* 1982; 101: 889-896.
146. Mito K, Chiba Y, Suga K, Nakao T. Cellular immune response to infection with respiratory syncytial virus and the influence of breast-feeding on the response. *J Med Virol* 1984; 14: 323-332.
147. Emre U, Sokolovskaya N, Roblin PM, Schachter J, Hammerschlag MR. Detection of anti-*Chlamydia pneumoniae* IgE in children with reactive airway disease. *J Infect Dis* 1995; 172: 265-267.
148. Burrows B, Martínez F, Halonen M, Barbee RA, Cline MG. Association of asthma with serum IgE levels and skin-test reactivity to allergens. *N Engl J Med* 1989; 320: 271-277.
149. Kroegel C, Virchow JC, Walker C. Asthma. *N Engl J Med* 1993; 328: 1.639-1.640.
150. Busse WW. Role and contribution of viral respiratory infections to asthma. *Allergy* 1993; 48: 57-64.
151. Shemer-Avni Y, Lieberman D. *Chlamydia pneumoniae*-induced ciliostasis in ciliated bronchial epithelial cells. *J Infect Dis* 1995; 171: 1.274-1.278.
152. Yang ZP, Cummings PK, Patton DL, Kuo CC. Ultrastructural lung pathology of experimental *Chlamydia pneumoniae* pneumonitis in mice. *J Infect Dis* 1994; 170: 464-467.
153. Polla BS, Kantengwa S. Heat shock proteins and inflammation. En: Kaumann SHE, editor. Heat shock proteins and immune response. Berlín: Springer-Verlag (Current Topics in Microbiology and Immunology), 1991; 93-108.
154. Hogg JC. Adenoviral infection and childhood asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 2-3.
155. Hogg JC. Persistent and latent viral infections in the pathology of asthma. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 7-9.
156. Maceck V, Sorli J, Kopriva S, Marin J. Persistent adenoviral infection and chronic airway obstruction in children. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 7-10.
157. Kimura M. Experimental study on the mechanisms of *Chlamydia pneumoniae* infection in mice with former chlamydial exposure. *Kansenshogaku Zasshi J Jpn Assoc Infect Dis* 1994; 68: 50-58.
158. Openshaw PJM, O'Donnell DR. Asthma and the common cold: can viruses imitate worms? *Thorax* 1994; 49: 101-103.