

***Chlamydophila psittaci*에 감염된 앵무새의 임상병리학적 특징과 원인균의 *ompA* 유전자 비교분석**

김일환 · 장진욱 · 이수형 · 김대용 · 성원진 · 권혁준 · 김재홍*

서울대학교 수의과대학 및 수의과학연구소

(접수: 2012년 8월 22일, 수정: 2012년 9월 14일, 게재승인: 2012년 9월 20일)

Clinico-pathological Features of *Chlamydophila psittaci* Infection in Parrots and Genetic Characterization of the Isolates

Il-Hwan Kim, Jin-Wook Jang, Su-Hyung Lee, Dae-Yong Kim, Won-Jin Seong, Hyuk-Joon Kwon, Jae-Hong Kim*

College of Veterinary Medicine and Veterinary Research Institute, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

(Received: August 22, 2012; Revised: September 14, 2012; Accepted: September 20, 2012)

Abstract : Avian chlamydiosis is caused by *Chlamydophila psittaci* and considered as one of an important zoonotic disease throughout the world. Among more than 400 avian species including poultry and pet birds susceptible to the disease, psittacine birds were known to be mostly susceptible hosts. In Korea, no outbreak of the disease and genetic analysis of the agent in poultry and pet birds have been reported. With histopathological findings and genetic identification of a causative agent, avian chlamydiosis was identified in parrots submitted from the same pet bird farm in 2006 and 2009 for the diagnosis. Based on genetic sequences and phylogenetic analysis of *ompA* gene, the two isolates of *Chlamydophila psittaci* showed 100% of genetic similarity and belonged to genotype A, suggesting that the same agent might be continuously circulated in the farm. This result indicates that serological survey of the disease in pet bird farms and impact of the disease on significance in public health may be further studied.

Keywords : avian chlamydiosis, *Chlamydophila psittaci*, *ompA* gene, parrots

서 론

조류의 클라미디아균증(avian chlamydiosis)은 *Chlamydophila psittaci* 감염으로 발생하는 조류와 포유류의 급·慢성 전염병으로서 오리, 칠면조를 비롯한 가금류와 앵무새, 잉꼬, 비둘기 등의 야생 또는 관상조류는 물론 사람과 포유동물에 이르기까지 다양한 감염의 형태를 보인다. *Chlamydophila psittaci*는 Chlamydiaceae과에 속하며, 살아있는 세포 내에서 증식하는 그람 음성균으로서 과거에는 *Chlamydia psittaci*로 명명되었으나, 1999년 *Chlamydia* 및 *Chlamidophila* 2종의 genus와 9종의 species로 재분류 되면서 최종적으로 *Chlamydophila psittaci*로 명칭이 바뀌게 되었다 [4, 19]. 그러나 지금도 클라미디아균증 또는 클라미디아 감염증으로 불리고 있으며, 사람에서 나타나는 질병을 앵무병(psittacosis), 앵무새에서 나타나는 질병을 앵무열(parrot fever), 그 외 비둘기 등의 조류에서 가볍게 나타나는 질병을 ornithosis라고 구분하여 부르기도 한다 [3].

자연상태에서는 400종 이상의 야생조류에서 클라미디아균이나 이에 대한 항체가 검출되었으며, 통상적인 보균숙주는 오리 [6], 비둘기 [12], 칠면조 [26], 바다갈매기 등의 야생조류인 것으로 알려져 있다. 특히 바다갈매기와 해오라기 종류는 병원성이 높은 클라미디아균을 배출하거나 전파시키는 것으로 인식되고 있다 [3, 4, 25].

역학적으로는 주로 감염된 조류가 직접적 전염원의 역할을 하며, 무증상 감염에서부터 전신성 감염과 폐사까지 숙주의 종류와 연령, 감염균의 종류(strain)와 혈청형 등에 따라 임상증상이 다양하게 나타난다. 가금류에서는 칠면조와 비둘기, 관상조류 또는 애완조류에서는 앵무새와 잉꼬류에서 상대적으로 증상이 잘 나타나는 편이며, 대부분 비특이적이지만 무기력, 식욕결핍, 안루, 비루, 녹황색 설사가 나타나고, 늙은 앵무류에서는 무증상 감염의 형태를 많이 보인다 [3, 4, 11]. 숙주의 종류와 나이에 따라서는 증상과 병변이 없이 건강하게 보이면서도 간헐적으로 원인균을 체외로 배출하기도 한다 [19]. 병변으로는 맥관계통(vascular system)의 손상으로

*Corresponding author

Tel: +82-2-880-1250, Fax: +82-2-885-6614
E-mail: kimhong@snu.ac.kr

인하여 심장, 간 등과 같은 실질장기와 복강 내에서 섬유소성 삼출물이 관찰되고, 비장의 종대, 충혈 또는 반상출혈과 함께 폐렴, 기낭염 등이 나타난다 [3, 4].

클라미디아 감염은 가금류와 야생조류 및 애완조류에서 감염사례가 보고되고 있으며, 또한 감염된 오리, 칠면조 등의 가금류를 관리하는 관리인이나 이를 취급하는 도축장 종사자, 애완조류 사육자 등의 사람에게까지 감염사례가 보고되고 있다 [14]. 국내에서는 사람의 앵무병은 보고사례가 있으나, 조류의 클라미디아증은 연구나 보고된 것이 없는 실정이다. 따라서 2006년과 2009년에 국내 관상조류 농원의 앵무새 3종에서 확인된 조류 클라미디아균증의 발생과 함께 분리된 *Chlamydophila psittaci* 균의 유전자형 특성에 대하여 보고하고자 한다.

재료 및 방법

부검, 병리조직 검사 및 공시균주의 분리

2006년부터 2009년 사이에 애완조류 농원에서 사육 중이던 노랑머리아마존앵무(*Amazona oratrix*, Yellow-headed Amazon Parrot), 청머리앵무(*Amazona aestiva*, Blue-fronted Amazon Parrot)와 붉은이마아마존앵무(*Amazona autumnalis*, Red-lored Amazon Parrot) 등 총 3마리의 앵무새가 폐사되어 사인분석을 위해서 서울대학교 수의과대학 조류질병학실에 의뢰되었다. 사인분석을 위해서 부검을 실시하였으며, 부검 후 주요 실질장기는 병리조직학적 검사를 위해서 10% 중성 포르말린 용액에 고정하였다. 고정이 된 후 일반적인 조직처리 과정을 거쳐 파라핀에 포매한 다음 hematoxylin & eosin(H&E) 염색을 실시하였다. 또한 일부는 항생제가 첨가된 sucrose/phosphate/glutamate(SPG) 완충용액으로 20%로 유제하여 *ompA* 특이유전자를 확인하였고, 이 유제액을 6일령의 특정병원체 부재(specific pathogen free) 종란의 난황을 통하여 0.2 mL씩 접종한 뒤, 접종 2일 후부터 폐사한 종란으로부터 난황막을 회수한 다음 SPG 완충용액에 20%로 유제하여 -20°C에 보관한 채 *ompA*유전자 분석에 사용하였다. 2006년 분리주를 SNU6050, 2009년 분리주를 각각 SNU9038, SNU9039로 명명하였다.

중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)

PCR로 *Chlamydophila psittaci*의 *ompA* 특이유전자를 확인하기 위하여 GenBank database를 참고하여 1쌍의 primer를 제작하였다. Primer의 염기서열은 forward primer는 CPompA1-F, 5'-GACATTTCTGCACCTTAGG-3', reverse primer는 CPompA1-R, 5'-ACCTACGCTCCAAGAAAATG-3', PCR 산물의 크기는 195bp이었다.

앵무새 폐사체의 간과 비장으로부터 Viral Gene Spin Viral DNA/RNA Extraction kit(iNtRON biotechnology, Korea)를 이용하여 genomic DNA를 추출한 뒤, i-taq DNA polymerase(iNtRON biotechnology)를 이용하여 PCR을 실시하였다. PCR 혼합액은 10X PCR buffer 5 μL, 2.5 mM

dNTP mixture 5 μL, 10 pmol의 primer CpompA1-F, CpompA1-R 각각 2 μL, genomic DNA 5 μL, 그리고 i-taq DNA polymerase 1 μL를 혼합한 후 멸균된 증류수로 최종 volume을 50 μL로 만들었다. C1000 Thermal cycler(Bio-Rad Laboratories, USA)를 이용하여 94°C에서 5분간 반응 후, 94°C에서 30초간 denaturation, 50°C에서 30초간 annealing, 72°C에서 40초간 extension을 35 cycle 진행하였고, 마지막으로 72°C에서 5분간 반응시켰다. 증폭 산물을 RedSafe Nucleic Acid Staining Solution(iNtRON biotechnology)이 포함된 1.2% agarose gel에서 100 V, 30분간 전기영동한 다음, ultraviolet light transilluminator에서 증폭 산물을 확인하였다.

ompA 유전자 증폭과 정제

PCR로 *ompA* 특이유전자를 확인한 후, 유전자형(genotype)의 분류를 위하여 Geens 등 [9]과 Vanrompay 등 [24]이 발표한 *Chlamydophila psittaci* *ompA* gene의 염기서열 및 GenBank database를 참고하여 1쌍의 primer를 제작하였다. Primer의 염기서열은 forward primer는 CPompA-F, 5'-ATGAAACTCTGAAATCGG-3', reverse primer는 CPompA-R, 5'-CCTTGAATCTGAAWTGAGC-3', PCR product의 크기는 1211 bp이었다. 추출한 genomic DNA를 이용하여 94°C에서 5분간 반응 후, 94°C에서 30초간 denaturation, 50°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 1분간 extension을 35 cycle 진행하였고, 마지막으로 72°C에서 5분간 반응시켰다. RedSafe Nucleic Acid Staining Solution(iNtRON biotechnology)이 포함된 1.2% agarose gel에서 100 V, 30분간 전기영동한 다음, ultraviolet light transilluminator에서 증폭 산물을 확인하고, QIA quick Gel Extraction kit(QIAGEN, USA)을 이용하여 정제하였다.

Cloning 및 염기서열 분석

정화한 염기서열의 분석과 유전자형 분류를 위하여 gene cloning을 실시하였다. 즉, 정제한 증폭 PCR 산물을 TA Cloning Vector(Real Biotech Corporation, Taiwan)에 삽입한 후 DH5a competent cell(Yeastern Biotech, Taiwan)에 transformation하였다. Cloning 양성으로 판정되는 white colony만을 선택하여 LB broth에 증균시킨 후, DNA-spin Plasmid DNA Purification kit(iNtRON biotechnology)을 이용하여 plasmid DNA만을 순수하게 추출하였다. Plasmid DNA는 Macrogen(Korea)에 분석을 의뢰, ABI PRISM 3730XL Analyzer(Applied Biosystems, USA)를 사용하여 sequencing을 실시하였다.

DNA 염기서열은 BioEdit software(ver. 7.0.9; Tom Hall, USA)의 ClustalW Multiple alignment를 이용하여 align한 뒤, MEGA5 software [21]를 이용하여 Neighbor-joining method로 phylogenetic tree를 작성하였으며, bootstrap 분석은 2,000회 반복하였다.

Accession numbers

본 실험에서 증폭한 *Chlamydophila psittaci* *ompA* gene의 염기서열을 비교 분석하기 위해 GenBank database에서 확보한 염기서열은 다음과 같다: L04980(N352), AY762613 (WS/RT/E30), X12647(EAE A22/M), AF269264 (MN Ostriche), AY762611(3759/2), AF269263(MN Rhea), AF269262 (MN), AY762610(7344/2), AY762609(41A12), AY762612 (7778B15), AF269265(CP3), X56980(6BC), AF269281(MN Zhang), AY762608(90/1051), L25437(GV), AF269268(M56), AF269266(NJ1), AF269267(TT3), Y16562(92/1293), AF269259 (VS225), AJ310735(84/2334), AF269260(CT1), AF269261 (GD), L25436(Par1), AF269269(WC), AF269282(GPIC), EU856029(SP09) and HM450405(KMZ03).

결 과

임상증상 및 병리조직학적 소견

2006년도에 의뢰된 노랑머리아마존앵무와 2009년도에 의뢰된 붉은이마아마존앵무는 모두 간헐적 기면증상을 보이다가 갑자기 폐사한 병력을 가지고 있고, 기낭이 비후되고, 염증성 삼출물이 덮여있었으며 간의 종대가 관찰되었다(Fig. 1).

전체적으로, 기낭염, 간 및 비장의 종대, 다발성 장막염, 그리고 췌장과 선위에 다소성으로 점상 출혈이 나타났다. 청머리앵무는 간 종대와 심장과 간 등의 장막에 하얀 침사가 덮이는 등 통풍에 의한 병변이 확인되었다.

조직학적 소견으로는 간에서 나타난 다소성의 괴사소와 함께 그 주변에 경도 또는 중등도의 림프구, 혈질세포 및 대식구의 침윤이 동반되었다(Fig. 2A). 그리고, 비장에서도 한계가 명료한 괴사소가 다발성으로 관찰되었다(Fig. 2B).

원인체 분리 및 동정

SNU6050은 2006년 폐사한 노랑머리아마존앵무의 간과 장 내용물 시료에서, SNU9038 및 SNU9039는 청머리앵무와 붉은이마아마존앵무의 간과 비장 및 장 시료 유제액으로부터 *Chlamydophila psittaci*를 분리하였고, 전술한 PCR 방법으로 *Chlamydophila psittaci*에 특이적인 *ompA* 유전자를 확인하였다(Fig. 3). *ompA* gene에 대한 PCR 결과 195 bp의 양성 밴드를 확인할 수 있었는데, SNU6050의 경우, 간 조직에서 양성 반응을 나타내었다. 그리고, SNU9038와 SNU9039 모두 간/소장을 합친 시료에서 양성 반응을 확인할 수 있었다.

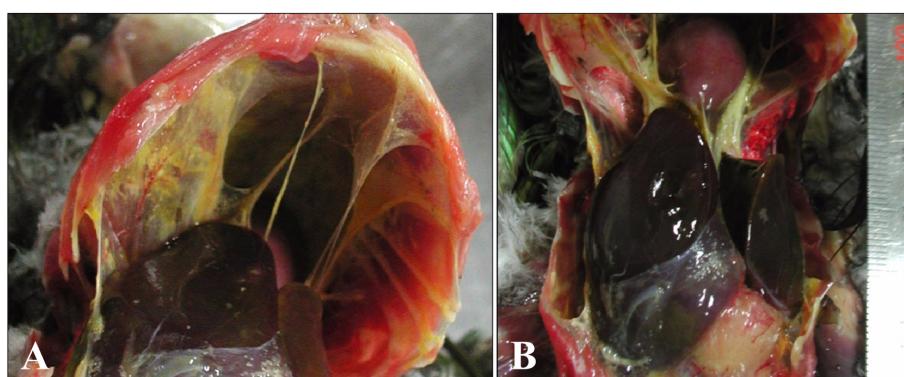


Fig. 1. Gross lesion of *Chlamydophila psittaci* (SNU6050) infection in Yellow-headed Amazon Parrot. (A) Thickened air sac covered with fibrin. (B) Hepatomegaly was present.

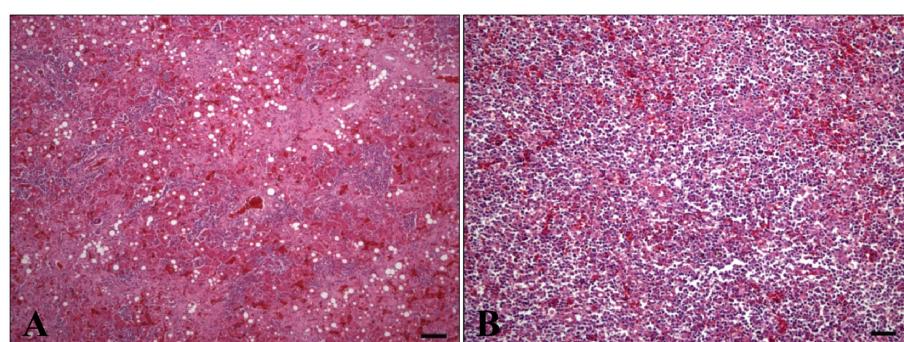


Fig. 2. Microscopic lesion of *Chlamydophila psittaci* (SNU6050) infection in Yellow-headed Amazon Parrot. (A) Liver: multifocal-random necrotic foci were surrounded mainly by macrophages, and a few lymphocytes and plasma cells. Multifocally, hepatocytes contained vacuoles. (B) Spleen: multifocal random necrotic foci and lymphoid depletion were present. H&E Stain, A: $\times 100$, B: $\times 200$.

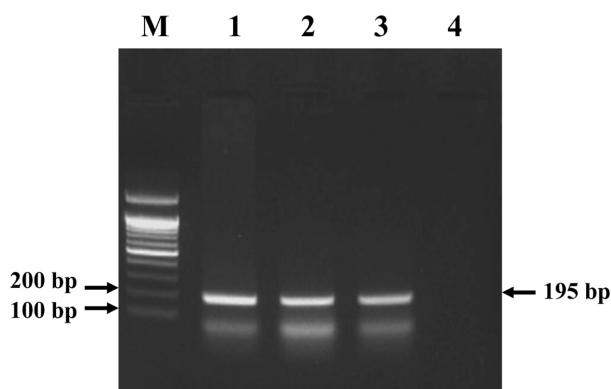


Fig. 3. Detection of *ompA* gene of *Chlamydophila psittaci* isolated from parrots using polymerase chain reaction and electrophoresis on a 1.2% agarose gel. The expected amplicon size was 195 bp. lane 1: liver/intestine-pooled sample of SNU9038; lane 2: liver/intestine-pooled sample of SNU9039; lane 3: liver sample of SNU6050; lane 4: negative control; lane M: 100 bp DNA ladder.

OmpA 유전자 서열 분석과 유전자형(genotype)

진단용 특이 primer로 *ompA* 특이 유전자가 확인된 분리 주는 정확한 염기서열의 분석과 유전자형 분류를 위하여 유전자 클로닝과 염기서열 분석을 실시하였다. SNU9038과 SNU9039는 앵무새 종류만 다를 뿐, 동일한 장소에서 동시에 분리된 균주이므로 분석은 SNU6050과 SNU9038만을 대상으로 하였으며, *ompA* 유전자 클로닝 후 염기서열 분석 결과 두 분리주의 유전자가 100% 일치함을 확인하였다. *Chlamydophila psittaci*의 *ompA* 전체 유전자 염기서열을 Neighbor-joining method로 유전자 근연관계를 비교해 본 결과, SNU6050과 SNU9038은 6BC, MN Zhang, 90/1051, GV, SP09, KMZ03 strain과 같이 genotype A에 속하는 것으로 나타났다(Fig. 4). 따라서 이 농원에서는 2006년과 2009년 앵무류에서 *Chlamydophila psittaci*의 감염이 있었음이 확인되었고, 분리주의 *ompA* genotype 100% 일치함을 확인하였다.

다른 유사 질병 원인체 감별

Newcastle disease, avian influenza, infectious bronchitis,

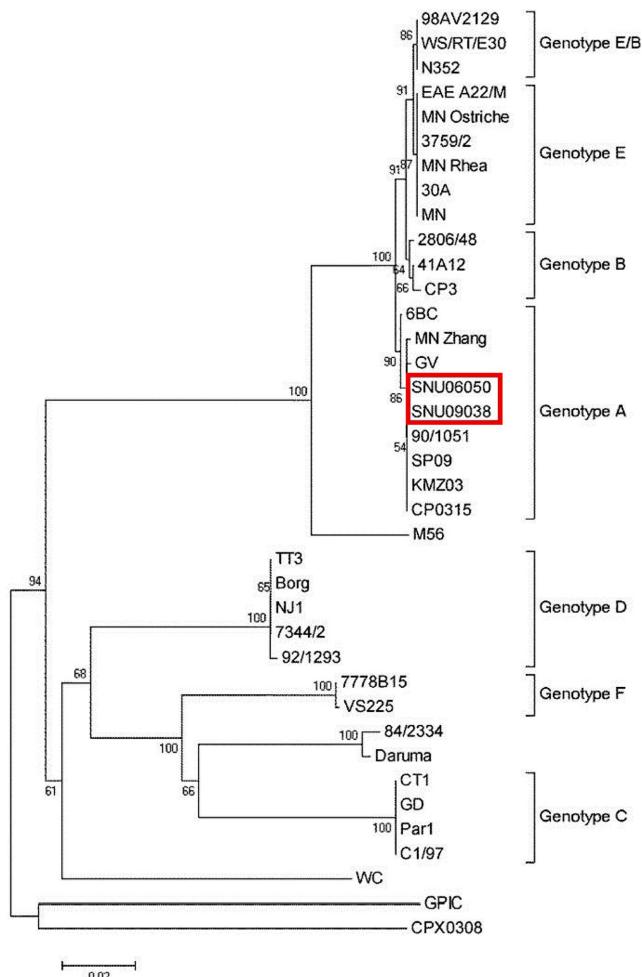


Fig. 4. Phylogenetic analysis of *ompA* gene of *Chlamydophila psittaci* isolated from parrots (nucleotides 61-1098). Nucleotides were analyzed using Clustal W and a phylogenetic tree was constructed by neighbor-joining method.

fowl adenovirus infection 등에 대한 PCR검사도 진행하였으나 모두 음성으로 나타났다. 세균 검사의 경우, SNU6050의 경우 간에서 대장균이 분리되어, 복합감염이 일어난 것을 확인할 수 있었다. 또한 부검 및 병리조직 소견과 PCR을 통한 유전자 검출 및 유전자 서열분석으로 *Chlamydophila psittaci*의 감염이 확인되었고, SNU6050은 대장균 감염이 복합되어 나타난 케이스임을 확인할 수 있었다.

고 찰

조류 클라미디아증은 *Chlamydophila psittaci*의 감염으로 나타나는 인수공통전염병으로서 상, 하부 호흡기 및 맥관계통의 손상을 통한 호흡기 증상과 황록색 설사 등을 특징으로 하는 질병이며, 사람에게는 애완조류 또는 관상조류나 오리, 칠면조 등의 가금류를 통하여 쉽게 감염이 일어날 수 있다. 숙주 종류 및 균종, 감염 연령 등에 따라 무증상 감염에서 폐사까지 다양한 질병 형태를 나타낸다 [4-6].

이 병은 난계대 전염은 되지 않지만, 감염조류는 분변으로 균을 배출하며, 오염된 분변이나 마른 분변의 비말에 의하여 어린 새끼의 흡입감염이 가능하다. 성숙한 조류는 감염 시 회복되더라도 carrier로 남으며 스트레스나 다른 유발인자가 가해질 때 재발하는 것으로 보고되어 있다 [3, 4].

앵무새의 임상증상으로는 원기부족, 사료 섭취량 감소, 호흡기증상 및 폐사 등이 나타날 수 있으며, 병변으로는 맥관계통(vascular system)의 손상으로 심장, 간 등과 같은 실질장기와 복강 내에 섬유소성 삼출물이 덮이고, 비장의 종대, 출혈 및 mottling, 폐렴과 기낭염 등이 나타날 수 있다 [3, 4, 17]. 의뢰된 가검물에서도 간헐적 기면증상과 갑작스러운 폐사, 기낭의 염증 및 비후와 염증성 삼출물, 간과 비장의 종대가 있었고, 조직학적으로도 간과 비장에서의 다소성(multifocal) 괴사소가 확인되었다.

클라미디아균은 배지에서 자라지 않는 세포 내 기생균(intracellular organism)이기 때문에 부화란이나 세포를 이용하여 균 분리가 이루어지므로 균, 분리 동정에는 상대적으로 까다로운 절차가 필요하다 [1, 2]. 이를 극복하기 위하여 최근에는 *Chlamydophila psittaci*의 특징적인 ribosomal DNA(23s, 16s) 또는 외막의 주성분인 *ompA* 유전자 검출에 의한 PCR 진단법이 개발되어 왔으며, PCR에 의한 클라미디아 동정과 질병 진단을 국제기구에서도 공식적 진단법으로 인정하고 있다 [1, 7, 9, 10, 13, 15]. 그러나 ribosomal DNA에 대한 PCR은 유전자 복제(copy) 수가 많아 민감성이 높은 반면 다른 균과의 교차반응이 많고, *ompA* 유전자에 대한 PCR은 유전자 복제 수가 적어 민감성이 낮은 반면 특이성(specificity)이 매우 뛰어나다. 이 연구에서는 특이성에 중점을 두고 *ompA* 유전자를 대상으로 PCR을 실시하였고, 유전자 클로닝에 의하여 분리된 *Chlamydophila psittaci*의 유전자 서열 분석과 그들 간의 상동성 및 분자역학적 근연성을 조사하였다.

그 결과, 국내 분리주 2주는 유전자가 100% 일치하는 것

으로 확인되었고, 분자유전학적 근연관계 조사를 위하여 다른 나라에서 분리, 보고된 *Chlamydophila psittaci*의 *ompA* 전체 유전자 염기서열과 비교 분석해 본 결과, SNU6050과 SNU9038은 6BC, MN Zhang, 90/1051, GV, SP09, KMZ03 strain과 같이 genotype A에 속하는 것으로 확인되었다. Genotype A에 속하는 *Chlamydophila psittaci*는 일반적으로 거의 혈청형 A에 속하는 것으로 보고된 바 있다 [20, 23]. 그러나 시료의 수도 적었을 뿐만 아니라 의뢰자의 자체적 사정으로 인하여 전반적인 혈청학적 조사가 곤란하였기 때문에 클라미디아 감염증이 지속적으로 발생하고 있는지, 각각 따로 유입되어 발생하였는지에 대하여 알 수는 없었지만 3년의 차이를 두고 분리된 2종의 분리주에서 *ompA* 유전자가 100% 일치한다는 것은 전자의 가능성이 더 높음을 시사하고 있다. 또한 이 균이 잠복감염하는 특성상 특정한 개체가 지속적인 전염원의 역할을 할 가능성도 배제할 수 없으므로 체계적인 조사 연구가 필요할 것으로 판단된다.

외국의 경우, 애생조류와 관상조류, 가금류의 클라미디아 감염증에 대한 연구논문이 수없이 많이 보고되어 있지만 [3, 4, 17, 18], 국내에서는 앵무류 등에서 발생하고 있는 것으로 알려져 있을 뿐 인체 감염 사례 외에는 조류에서 따로 보고된 논문은 없는 것으로 조사되었다. 따라서 이 논문은 국내 앵무새에서 발생한 클라미디아증과 분리주의 유전자 비교 분석에 대한 최초의 논문으로 생각된다. 국내 동일한 장소에서 사육되는 앵무새로부터 2006년과 2009년에 이 병이 확인되었다는 사실은 공중보건학적 측면에서 중요한 시사성을 가지고 있으며, 다방면에서 더욱 체계적인 조사가 이루어져야 함을 알려주고 있다. 앵무새가 전국 각 동물원과 애완조류 농장 및 판매점에서 사육되고 있으므로, 비록 이 질병이 사람에게 치명적이지 않지만 인수공통전염병으로서 중요한 위치를 차지하고 있는 점을 감안할 때, 애완조류 농장이나 판매점 등에서 사람과 앵무류가 직, 간접적으로 접촉할 경우 그 감염 위험성을 무시할 수 없는 수준으로 알려져 있다 [8, 14, 16, 22]. 따라서 이 연구 결과는 질병의 전국적 분포, 관상조류 및 애완조류의 감염 실태, 가금류로부터 사람으로의 감염 위험성, 분리주 간의 유전적 근연성과 혈청형 분류 등 앞으로 다방면에서 추가 연구가 필요함을 시사하고 있다.

참고문헌

1. Andersen AA. Avian chlamydiosis. In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 6th ed. pp 431-442, OIE, Paris, 2012.
2. Andersen AA. Chlamydiosis. In: Swaune DE, Glisson JR, Jackwood MW, Pearson JE, Reed WM (eds.). A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens. 4th ed. pp. 81-88, American Association of Avian Pathologists, Philadelphia, 1998.
3. Andersen AA, Franson JC. Avian chlamydiosis (psittacosis and ornithosis). In: Thomas NJ, Hunter DB, Atkinson CT (eds.). Infectious Diseases of Wild Birds. 1st ed. pp. 303-316, Blackwell, Ames, 2007.

4. Andersen AA, Vanrompay D. Avian chlamydiosis (psittacosis, ornithosis). In: Saif YM (ed.). Diseases of Poultry. 12th ed. pp. 971-986, Blackwell, Ames, 2008.
5. Arzey GG, Arzey KE. Chlamydiosis in layer chickens. Aust Vet J 1990, **67**, 461.
6. Arzey KE, Arzey GG, Reece RL. Chlamydiosis in commercial ducks. Aust Vet J 1990, **67**, 333-334.
7. Everett KDE, Hornung LJ, Andersen AA. Rapid detection of the *Chlamydiaceae* and other families in the order *chlamydiales*: Three PCR tests. J Clin Microbiol 1999, **37**, 575-580.
8. Gaede W, Reckling KF, Dresenkamp B, Kenkliess S, Schubert E, Noack U, Irmscher HM, Ludwig C, Hotzel H, Sachse K. *Chlamydophila psittaci* infections in humans during an outbreak of psittacosis from poultry in Germany. Zoonoses Public Health 2008, **55**, 184-188.
9. Geens T, Desplanques A, Van Loock M, Bönnér BM, Kaleta EF, Magnino S, Andersen AA, Everett KDE, Vanrompay D. Sequencing of the *Chlamydophila psittaci* *ompA* gene reveals a new genotype, E/B, and the need for a rapid discriminatory genotyping method. J Clin Microbiol 2005, **43**, 2456-2461.
10. Hewinson RG, Griffiths PC, Bevan BJ, Kirwan SES, Field ME, Woodward MJ, Dawson M. Detection of *Chlamydia psittaci* DNA in avian clinical samples by polymerase chain reaction. Vet Microbiol 1997, **54**, 155-166.
11. Kaleta EF, Taday EMA. Avian host range of *Chlamydophila* spp. based on isolation, antigen detection and serology. Avian Pathol 2003, **32**, 435-461.
12. Magnino S, Haag-Wackernagel D, Geigenfeind I, Helmecke S, Dovč A, Prukner-Radović E, Residbegović E, Ilieski V, Laroucau K, Donati M, Martinov S, Kaleta EF. Chlamydial infections in feral pigeons in Europe: Review of data and focus on public health implications. Vet Microbiol 2009, **135**, 54-67.
13. Messmer TO, Skelton SK, Moroney JF, Daugherty H, Fields BS. Application of a nested, multiplex PCR to psittacosis outbreaks. J Clin Microbiol 1997, **35**, 2043-2046.
14. Newman CP St J, Palmer SR, Kirby FD, Caul EO. A prolonged outbreak of ornithosis in duck processors. Epidemiol Infect 1992, **108**, 203-210.
15. Pantchev A, Sting R, Bauerfeind R, Tyczka J, Sachse K. New real-time PCR tests for species-specific detection of *Chlamydophila psittaci* and *Chlamydophila abortus* from tissue samples. Vet J 2009, **181**, 145-150.
16. Raso TF, Carrasco AOT, Silva JCR, Marvulo MFV, Pinto AA. Seroprevalence of antibodies to *Chlamydophila psittaci* in zoo workers in Brazil. Zoonoses Public Health 2010, **57**, 411-416.
17. Raso TF, Godoy SN, Milanelo L, de Souza CA, Matuschima ER, Araújo JP Jr, Pinto AA. An outbreak of chlamydiosis in captive blue-fronted amazon parrots (*Amazona aestiva*) in Brazil. J Zoo Wildl Med 2004, **35**, 94-96.
18. Salisch H, von Malottki K, Ryll M, Hinz KH. Chlamydial infections of poultry and human health. Worlds Poult Sci J 1996, **52**, 279-308.
19. Smith KA, Campbell CT, Murphy J, Stobierski MG, Tengelsen LA. Compendium of measures to control *Chlamydophila psittaci* infection among humans (Psittacosis) and pet birds (Avian Chlamydiosis), 2010 National Association of State Public Health Veterinarians (NASPHV). J Exotic Pet Med 2011, **20**, 32-45.
20. Sudler C, Hoelze LE, Schiller I, Hoop RK. Molecular characterisation of chlamydial isolates from birds. Vet Microbiol 2004, **98**, 235-241.
21. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol Bio Evol 2011, **28**, 2731-2739.
22. Vanrompay D. Update on avian chlamydiosis and its public health significance. EJCAP 2008, **18**, 267-273.
23. Vanrompay D, Butaye P, Sayada C, Ducatelle R, Haesebrouck F. Characterization of avian *Chlamydia psittaci* strains using *omp1* restriction mapping and serovar-specific monoclonal antibodies. Res Microbiol 1997, **148**, 327-333.
24. Vanrompay D, Cox E, Mast J, Goddeeris B, Volckaert G. High-level expression of *Chlamydia psittaci* major outer membrane protein in COS cells and in skeletal muscles of turkeys. Infect Immun 1998, **66**, 5494-5500.
25. Vanrompay D, Ducatelle R, Haesebrouck F. *Chlamydia psittaci* infections: a review with emphasis on avian chlamydiosis. Vet Microbiol 1995, **45**, 93-119.
26. Vanrompay D, Ducatelle R, Haesebrouck F, Hendrickx W. Primary pathogenicity of an European isolate of *Chlamydia psittaci* from turkey poult. Vet Microbiol 1993, **38**, 103-113.