

One health-samenwerking in de aanpak van psittacose

Marloes Heijne, Lenny Hogerwerf, Frederika Dijkstra, Jeanet van der Goot, Edou Heddema, Annelies Kroneman, Daan Notermans, Yvonne Pannekoek, Mauro de Rosa, Margreet te Wierik, Joke van der Giessen, Hendrik Jan Roest en Wim van der Hoek

Samenvatting

Psittacose is een zoönose veroorzaakt door de bacterie *Chlamydia psittaci*. In Nederland is psittacose bij mensen een meldingsplichtige en bij vogels (uitgezonderd pluimvee) een aangifteplichtige ziekte. Van 2011 tot 2015 werden 41 tot 70 humane meldingen per jaar gedaan, maar dit is een onderschatting. Het aantal pneumonieën veroorzaakt door *C. psittaci* wordt op 1500 per jaar geschat. In 2014 is het One Health-project Plat4m-2bt-Psittacosis gestart. In dit project wordt een onlineplatform ontwikkeld om uitwisseling van data te faciliteren en de samenwerking tussen het humane en veterinaire veld te verbeteren. Onderdeel van het project is het beter in kaart brengen van de aviaire bronnen van psittacose. Recent wordt, naast papegaaiaachtigen en duiven, ook pluimvee als mogelijke bron van humane *C. psittaci*-infecties gezien. Op basis van de jaarlijkse humane psittacosemeldingen is, ook in Nederland, een link gelegd tussen psittacose en de aanwezigheid van kippen- en eendenbedrijven. Bij een Nederlandse studie op ongeveer 150 leghennenbedrijven is echter geen *C. psittaci*-DNA aangetoond, maar bij ongeveer de helft van de bedrijven wel een relatief nieuwe *Chlamydia*-soort: *C. gallinacea*. Het zoönotisch potentieel van *C. gallinacea* is nog onduidelijk. Met de ontwikkeling en toepassing van het onlineplatform wil het Platform-2bt-Psittacosis een voorbeeld vormen voor een structurele aanpak van de bestrijding van zoönosen.

Summary

Psittacosis is a zoonosis caused by the bacterium *Chlamydia psittaci*. In the Netherlands, psittacosis is a notifiable disease in humans as

well as in birds (except poultry). From 2011 to 2015, 41 to 70 human cases were notified each year, but the real number of psittacosis pneumonia cases is estimated at 1500 per year. In 2014, a 'One Health' project entitled 'Plat4m-2bt-Psittacosis' started. In this project, an online platform is developed to facilitate data exchange and improve cooperation between the human and veterinary field. Part of the project is to get better insight in the avian sources of psittacosis. Parrots and pigeons were considered to be the main source of human *C. psittaci* infections, but more recently poultry is also seen as a possible source of human *C. psittaci* infections. In the Netherlands a link between the incidence of psittacosis notifications and the presence of chicken slaughterhouses or duck farms was found, based on the annual human psittacosis notifications. In a study at approximately 150 Dutch layer farms *C. psittaci*-DNA was not detected, but about 50 percent of the farms tested PCR positive for the relatively new *Chlamydia* species, *C. gallinacea*. The zoonotic potential of *C. gallinacea* is still unclear. With the development and use of the online platform, the Platform-2bt-Psittacosis intends to be an example

J. van der Giessen, J. van der Goot, M. Heijne, H.J. Roest, Wageningen Bioveterinary Research, Lelystad; F. Dijkstra, J. van der Giessen, W. van der Hoek, L. Hogerwerf, A. Kroneman, dr. D.W. Notermans, M. te Wierik, RIVM, Centrum Infectieziektebestrijding, Bilthoven; dr. E. Heddema, Zuyderland Medisch Centrum, Sittard; Y. Pannekoek, Amsterdam Medisch Centrum (AMC), Amsterdam; M. de Rosa, Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA), Utrecht. Correspondentieadres: M. Heijne, Postbus 65, 8200 AB Lelystad, e-mail: marloes.heijne@wur.nl.

for a structural approach in the control of zoonoses.

Inleiding

Psittacose bij de mens in Nederland werd voor het eerst beschreven in 1930.¹ Het betrof een patiënt met pneumonie die aan de gevolgen van de infectie overleed. Hoewel er op dat moment nog weinig bekend was over de verwekker en de epidemiologie van psittacose, was het verband met geïmporteerde papegaaien uit Zuid-Amerika duidelijk. Dit leidde tot importbeperkende en hygiënemaatregelen. Papegaaiachtigen zijn nu nog steeds een bron van humane psittacosegevallen in Nederland en psittacose is momenteel meldingsplichtig bij mensen en aangifteplichtig bij vogels (uitgezonderd pluimvee).

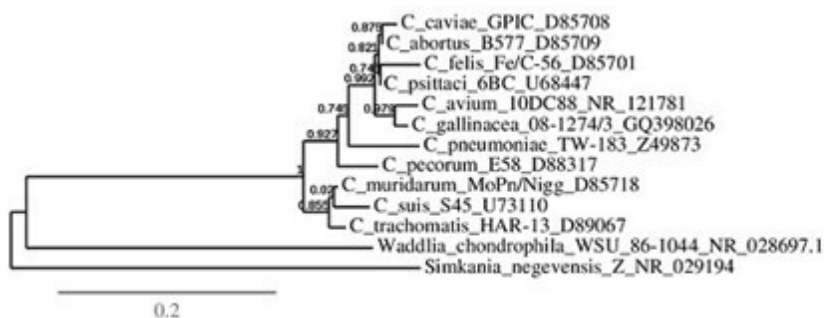
Psittacose komt echter niet alleen bij papegaaien voor, het is bij meer dan 465 vogelsoorten beschreven.² De veroorzaker van psittacose is de bacterie *Chlamydia psittaci*. *Chlamydia* is een verhoudingsgewijs kleine bacterie die wordt gekenmerkt door een intracellulaire bifasische levensstijl: buiten de cel is de bacterie een metabool vrijwel inactief elementair lichaamje ter grootte van 0,2 tot 0,4 µm; binnen de cel is de bacterie een metabool actief en delend reticulair lichaamje ter grootte van 0,6 tot 1,5 µm.³ Het genoom van *C. psittaci* omvat ongeveer 1,2 Mb baseparen. De intracellulaire levensstijl zorgt ervoor dat *Chlamydia* alleen in cellen kan worden gekweekt. Ontwikkelingen om celvrije kweek mogelijk te maken waren tot nu toe nog niet succesvol.⁴

Sinds de ontdekking van *Chlamydia* leidt de taxonomie tot discussie. In 1999 werd het genus *Chlamydia* op basis van de sequenties van de ribosomale RNA-genen opgedeeld in twee genera, *Chlamydia* en *Chlamydophila* (figuur 1).⁵ In 2015 is deze opsplitsing weer ongedaan gemaakt, omdat de verschillen tussen de *Chlamydia*-species op basis van het genoom of fenotype onvoldoende zijn voor instandhouding van twee genera.⁶ Op dit moment vallen alle bekende *Chlamydia*-species onder het genus *Chlamydia*. Ook andere *Chlamydia*-soorten kunnen potentieel zoönotisch zijn, zoals *Chlamydia abortus*, *Chlamydia caviae* en *Chlamydia felis*. *Chlamydia trachomatis* en *Chlamydia pneumoniae* zijn humane pathogenen.

C. psittaci kan op basis van de DNA-sequentie van het Outer Membrane Protein A (*ompA*)-gen worden onderverdeeld in minimaal negen genotypen.⁸ Deze genotypering komt grotendeels overeen met de vroegere serotypering op basis van het *ompA*-eiwit. De sero-/genotypen zijn min of meer gastheerspecifiek (tabel 1). Genotypering kan worden ingezet om een relatie te leggen tussen een casus van humane psittacose en een aviaire bron. Sinds 2012 is in Nederland *ompA*-typering van PCR-positieve humane monsters mogelijk in het Zuyderland Medisch Centrum in Sittard-Geleen.⁹ De genotypering van veterinaire monsters vindt plaats bij Wageningen Bioveterinary Research (voorheen Centraal Veterinair Instituut) in Lelystad.

Project Plat4m-2bt-Psittacosis

Figuur 1. Fylogenetische verwantschap binnen het genus *Chlamydia* op basis van het 16S rRNA-gen. *Waddlia chondrophila* en *Simkania negevensis* zijn toegevoegd als referentie.^{6,7}



Tabel 1. Overzicht van sero- en genotypen van *C. psittaci* en associatie met gastheer.^{10,11}

Serotype	Genotype	Gastheer	Humane infectie bekend
A	A	Papegaaiachtigen	Ja
B	B	Duiven	Ja
-	E/B	Eenden, duiven	Ja
C	C	Eenden, ganzen	Ja
D	D	Kalkoenen	Ja
E	E	Duiven, kalkoenen	Ja
F	F	Papegaaiachtigen	Ja
M56	M56	Muskusrat, sneeuwschoenhaas	-
WC	WC	Rundvee	-

In 2014 is het vierjarige One Health-project Plat4m-2bt-Psittacosis gestart. Dit door ZonMw gefinancierde project heeft als doel de ziektelast door psittacose te verlagen door de samenwerking tussen het humane en veterinaire veld te verbeteren. De kern van het project is de ontwikkeling van een onlineplatform om humane en veterinaire data te vergelijken en op die manier potentiële bronnen van psittacose beter te kunnen traceren. De focus binnen het project ligt daarbij op de verwekker *C. psittaci* en de potentiële aviaire bronnen, in het bijzonder pluimvee. Verdere verbreding is niet uitgesloten naar aanleiding van de detectie van onder andere *Chlamydia caviae* bij humane longontsteking en de beschrijving van nieuwe *Chlamydia*-soorten bij vogels. De verwachting is dat het onlineplatform in de loop van 2017 beschikbaar komt voor onderzoek. Vanaf dat

moment kan informatie uit de bronopsporing van psittacose worden toegevoegd. Daarom is een verbeterde methode voor bronopsporing ontwikkeld, die al in gebruik is genomen. Daarnaast is een online typing tool ontwikkeld, waarmee *ompA*-sequenties van *C. psittaci*-positieve monsters van zowel veterinaire als humane laboratoria kunnen worden geanalyseerd en vergeleken. Het resultaat van de tool kan vervolgens via het onlineplatform aan de informatie van de bronopsporing worden gekoppeld.

In een ander deel van het project worden de prevalentie en genotypen van *C. psittaci* bij vogels in kaart gebracht. Hiervoor is een studie bij zowel gezelschapsvogels als pluimvee uitgevoerd. Ook is op basis van bestaande literatuur onderzoek gedaan naar zoönotische transmissie van psittacose en is een inschatting gemaakt van de humane ziektelast met behulp van een berekening van de Disability Adjusted Life Years (DALY).

In de volgende paragrafen zullen de eerste beschikbare resultaten van de verbetering van de humane diagnostiek, de berekening van DALY's, de prevalentie bij vogels en het onderzoek naar zoönotische transmissie worden beschreven, samen met de huidige kennis uit de literatuur.

Humane diagnostiek

Diagnostiek voor psittacose wordt gedaan door detectie van antistoffen in het serum of met PCR in respiratoir materiaal. Het ontwikkelen van een detecteerbare antistofrespons kan enkele weken duren, zodat een negatieve test tijdens de acute klachten psittacose niet uitsluit. Voor goede serologische diagnostiek zijn dus gepaarde sera nodig. Daarnaast is er, deels afhankelijk van de gebruikte methode, een aanzienlijke kruisreactiviteit tussen de verschillende *Chlamydia*-species.¹² Met PCR is met name in de vroegere fase van de ziekte snellere en specifiekere diagnostiek mogelijk. Materiaal uit de diepere luchtwegen, zoals sputum of vloeistof van broncho-alveolaire lavage lijkt daarbij beter dan een keeluitstrijk, maar is lang niet altijd beschikbaar.^{13,14} Een bijkomend voordeel van PCR is dat er bij een positieve uitslag materiaal beschikbaar is voor typering, om bronopsporing en bronattributie te ondersteunen.⁹ Bij een

enquête onder medisch-microbiologische laboratoria in 2016 (data niet eerder gepubliceerd) bleek dat 20 (54 procent) van de 37 responderende laboratoria zelf een PCR doen en nog eens 14 laboratoria (38 procent) PCR-aanvragen doorsturen naar een ander laboratorium. In 2012 betrof dat 9 (41 procent), respectievelijk 3 (14 procent) van de 22 laboratoria. Negen laboratoria (24 procent) zetten een *C. psittaci*-PCR in als onderdeel van een breed respiratoir pakket en 6 (16 procent) als onderdeel van een pakket 'atypische verwekkers'. Om de verdere inzet van PCR-diagnostiek naar *C. psittaci* te stimuleren wordt in het kader van het Plat4m-2bt-Psittacosis-project aan geïnteresseerde laboratoria een PCR-starterskit beschikbaar gesteld.

Humane ziektelast

Om de ziektelast door verschillende infectieziekten met elkaar te kunnen vergelijken wordt vaak gebruikgemaakt van de DALY als gezondheidsmaat. De humane ziektelast door psittacose werd over de jaren 2012-2014 geschat als 187 DALY per jaar (95 procent BI 173-202).¹⁵ Dit is veel minder dan voor influenza en invasieve pneumokokkenziekte, die voor wat betreft DALY's bovenaan de lijst staan van 39 infectieziekten, maar het is ongeveer vergelijkbaar met de ziektelast door shigellose en rubella.¹⁶

Psittacose is een ondergediagnosticeerde oorzaak van pneumonie. Het aantal psittacosemeldingen varieerde tussen 2011 en 2015 van 41 tot 70. In een studie in ziekenhuizen in Ede en Nieuwegein werden 147 opeenvolgende pneumoniepatiënten routinematig ook getest met een *C. psittaci*-PCR en daarvan waren er 7 (95 procent BI 1,9-9,6) positief voor *C. psittaci*.¹⁷ Omdat in Nederland per jaar meer dan 30.000 patiënten met pneumonie in het ziekenhuis worden opgenomen zou het werkelijke aantal ernstige psittacosepneumonien dicht bij de 1.500 per jaar kunnen liggen. Bij patiënten met (thuis verkregen) pneumonie zou vaker PCR-diagnostiek naar psittacose moeten worden verricht. Dat zou beter inzicht geven in de ziektelast en het is belangrijk bij de keuze van het juiste antibioticum voor de individuele patiënt.¹² Vooral buiten het 'respiratoire' winterseizoen en bij relatief jonge (minder dan 60 jaar) patiënten is

de kans groot dat pneumonie wordt veroorzaakt door een atypische verwekker, inclusief *C. psittaci*.¹⁸

Prevalentie bij vogels

Binnen het project worden vogels in drie groepen onderverdeeld: gezelschapsvogels, pluimvee en wilde vogels. Met gezelschapsvogels worden vogels bedoeld die als huisdier worden gehouden, zoals papegaaiachtigen, duiven en zangvogels. Bij pluimvee gaat het vooral om bedrijfsmatig gehouden vogels. Onder wilde vogels worden alle niet-gehouden dieren verstaan inclusief stadsduiven. Hierna bespreken we per groep het voorkomen van psittacose.

Gezelschapsvogels

Van oudsher worden papegaaiachtigen en duiven als de belangrijkste bron van *C. psittaci* gezien. Bij papegaaiachtigen wordt het ziektebeeld als psittacose omschreven, bij duiven als ornitose, maar tegenwoordig wordt meestal over aviaire chlamydieose gesproken.¹⁹ Daaronder vallen ook infecties met andere, meer recent beschreven *Chlamydia*-soorten: *Chlamydia gallinacea* en *Chlamydia avium*. Het ziektebeeld varieert van subklinische tot respiratoire klachten en acute sterfte. Zowel de vogelsoort als het genotype van *C. psittaci* is van invloed op het verloop van de ziekte.^{20,21} Bij gezelschapsvogels is *C. psittaci* op basis van een klinische verdenking aangifteplichtig. In 2014 werd de ziekte 45 keer gemeld bij de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit,²² maar dit is waarschijnlijk een onderschatting van het werkelijke aantal gevallen. De laatste gepubliceerde data uit Nederland over de prevalentie van *C. psittaci* bij gezelschapsvogels zijn van eind jaren tachtig. Destijds werden in een inventariserend onderzoek bij 4 van de 15 dierenwinkels (27 procent) en 10 van de 25 parkietenkwekerijen (40 procent) psittacosepositieve vogels aangetroffen.²³ Aangezien het klinische beeld bij gezelschapsvogels zeer variabel is, is de diagnose op basis van klinische verschijnselen moeilijk. In de dierenartspraktijk worden daarom op basis van kruisreactiviteit soms antigeensneltesten voor *C. trachomatis* gebruikt die zijn ontwikkeld voor de humane markt. De gevoeligheid en specificiteit

van deze testen is echter zowel humaan als veterinair twijfelachtig.^{24,25} Er is onderzoek gestart om het optimale diagnostische monster en de waarde van de sneltest in de Nederlandse dierenartsenpraktijk te bepalen.

Pluimvee

Binnen Nederland zijn kippen met ongeveer 100 miljoen dieren per jaar de belangrijkste pluimveesoort. Ongeveer de helft van deze kippen wordt gehouden als leghen, de andere helft als vleeskuiken. Het aantal kalkoenen en eenden ligt vele malen lager, met per vogelsoort ongeveer 800.000 dieren. Pluimvee is in Nederland uitgezonderd van de aangifteplicht, maar uit publicaties in België en Frankrijk blijkt dat pluimvee een bron kan vormen voor *C. psittaci*-infecties bij de mens.^{26,27} Sinds 2009 wordt in de literatuur melding gemaakt van een nieuwe *Chlamydia*-soort bij pluimvee: *Chlamydia gallinacea*. In hoeverre *C. gallinacea* pathogeen is voor de kip of de mens is nog niet duidelijk. Een mogelijk zoönotisch potentieel is gesuggereerd naar aanleiding van een aantal gevallen van pneumonie bij slachthuismedewerkers in Frankrijk.²⁸ De prevalenties van *C. gallinacea* en *C. psittaci* bij pluimvee verschillen tussen pluimveesoorten en tussen landen. In een slachthuisstudie van Hulin *et al.* in Frankrijk wordt bij kippen bijna uitsluitend *C. gallinacea* gevonden en bij eenden *C. psittaci*.²⁹ Lagae *et al.* daarentegen vinden in een studie op kippenbedrijven in België uitsluitend *C. psittaci* en geen *C. gallinacea*.²⁷ In 2015 zijn in Nederland leghennen onderzocht op de aanwezigheid van *Chlamydia*. Van 154 leghennenbedrijven werden gepoolde kippenmestmonsters met behulp van PCR getest op aanwezigheid van *C. psittaci*- en *C. gallinacea*-DNA. Op circa de helft van deze bedrijven werd *C. gallinacea*-DNA aangetoond, terwijl DNA van *C. psittaci* niet werd aangetoond.³⁰ Vervolgstudies zijn nodig om de prevalentie van zowel *C. gallinacea* als *C. psittaci* bij verschillende pluimveesoorten in Nederland verder in kaart te brengen. Ook is duidelijkheid nodig over de rol van *C. gallinacea* als potentieel pathogeen voor kippen en mensen.

Wilde vogels

Naast gehouden vogels kunnen ook wilde vogels

C. psittaci bij zich dragen, waarbij vogels die vrij in de stad leven, met name stadsduiven, het grootste risico vormen voor mensen. In 2009 zijn door Magnino *et al.* data over de prevalentie van *C. psittaci* bij stadsduiven in Europese steden geanalyseerd.³¹ De prevalenties varieerden tussen 3,4 en 50 procent van de met PCR onderzochte monsters. In Nederland werd in 2006 bij 7,9 procent van de fecesmonsters van Amsterdamse duiven met PCR *C. psittaci* aangetoond.³² Sinds de jaren zestig kent Nederland een populatie wilde papegaaiaachtigen: vrij levende halsbandparkieten. Deze halsbandparkieten hebben zich vooral in stedelijke gebieden gevestigd en naar schatting bestaat de totale populatie inmiddels uit meer dan 10.000 vogels (schattingen SOVON). In 2013, 2014 en 2015 zijn door Wageningen Bioveterinary Research en de Universiteit Leiden fecesmonsters van wilde halsbandparkieten onderzocht op het voorkomen van *C. psittaci*. De monsters waren afkomstig uit Amsterdam, Den Haag, Leiden en Rotterdam en zijn in de periode december tot en met april verzameld. In geen van de monsters werd met PCR *C. psittaci* aangetoond (M. Heijne, ongepubliceerde data). Ook andere wilde vogels kunnen drager zijn van *C. psittaci*. Tussen 2010 en 2012 zijn 660 wilde vogels, waarvan de doodsoorzaak onbekend was, in het kader van surveillance onderzocht op DNA van *C. psittaci*. Ongeveer de helft van de ingezonden vogels waren eenden en meeuwen en in totaal werd 3 procent (95 procent BI 2-4 procent) van de inzendingen positief getest.³³

Zoönotische transmissie

De data over het dierlijk reservoir laten zien dat *C. psittaci* wijdverbreid voorkomt. De vraag is in hoeverre deze vogels ook een bron vormen voor infectie en ziekte bij de mens. In een systematisch literatuuronderzoek (de Jong *et al.* ongepubliceerde data) naar dierlijke bronnen van humane psittacose werd de bewijslast voor zoönotische transmissie het hoogst ingeschat voor kalkoenen, gevolgd door kippen, eenden, duiven, zangvogels en uilen. Opvallend was dat het bewijs voor zoönotische transmissie vanuit papegaaiaachtigen op basis van deze literatuurstudie relatief zwak was. Dit was vooral te verklaren door het ontbreken van

genotyperingsdata, waardoor een verband op basis van genotype niet kon worden gelegd. De beschikbare genotyperingsdata uit Nederland suggereren wel een belangrijke bijdrage van papegaaiachtigen. Van 2008 tot 2015 werd in zeker de helft van het onderzochte diagnostisch materiaal van humane patiënten genotype A aangetoond.^{9,30} Genotype A wordt vooral met papegaaiachtigen geassocieerd. Zodra het onlineplatform uit het Plat4m-2bt-Psittacosis beschikbaar is, kunnen deze humane genotyperingsdata eenvoudiger met de beschikbare veterinaire genotyperingsdata worden vergeleken, waardoor het verband tussen een casus van humane psittacose en een aviaire bron beter kan worden gelegd.

In een ruimtelijke analyse werd gekeken naar een mogelijke clustering van 701 humane psittacosemeldingen over de periode 1 januari 2000 tot 1 september 2015 (Hogerwerf et al, ongepubliceerde data). Deze toonde een groot ruimtelijk cluster in een gebied waarin zeer veel pluimveebedrijven zijn gelegen. Er waren echter ook kleinere clusters in gebieden zonder noemenswaardige pluimveeconcentraties. In een verdere multivariate analyse bleek de aanwezigheid van kippenslachterijen en eendenbedrijven geassocieerd met een hogere incidentie van psittacosemeldingen. Humane meldingen van bekende uitbraken zoals na een vogelshow in Weurt zijn in deze analyse niet meegenomen.³⁴

Naast beschikbare data en literatuur over zoönotische transmissie zal informatie beschikbaar komen uit het onlineplatform dat binnen het Plat4m-2bt-Psittacosis wordt ontwikkeld. De juridische borging van de uitwisseling van humane en veterinaire gegevens vormt hierbij een bijzonder aandachtspunt. Het platform is de eerste gemeenschappelijke structurele database waarin humane en dierlijke gegevens worden vergeleken, en een voorbeeld van een gemeenschappelijke one health-aanpak voor de bestrijding van zoönosen.

Conclusie

Psittacose is een ondergediagnosticeerde oorzaak van pneumonie. Een ruwe schatting van het werkelijke aantal gevallen ligt op 1500 per jaar. Naast bekende bronnen als papegaaien en duiven, kan ook pluimvee een bron vormen voor humane *C. psittaci*-infecties. Hoewel in een eerste Nederlandse studie bij leghennen geen *C. psittaci*-DNA werd aangetoond, is op basis van de jaarlijkse humane psittacosemeldingen wel indirect een link gelegd tussen de incidentie van psittacosemeldingen en de aanwezigheid van kippenslachterijen en eendenbedrijven. De onduidelijkheid over het zoönotische potentieel van andere *Chlamydia* spp bij pluimvee en de onderdiagnostiek bij de mens maken een one health-aanpak noodzakelijk op het gebied van diagnostiek, genotypering en de uitwisseling van data. Dat vormt de sleutel om een goed beeld te krijgen van de belangrijkste bronnen en het aantal werkelijke pneumonieën als gevolg van psittacose in Nederland. Het project Plat4m-2bt-Psittacosis wil met de ontwikkeling en toepassing van het one health-platform een voorbeeld vormen voor een structurele aanpak van de bestrijding van zoönosen. Verdere resultaten uit het Plat4m-2bt-Psittacosis-project zullen hier een belangrijke bijdrage aan leveren.

Dankbetuiging

Het project Plat4m-2bt-psittacosis wordt gefinancierd door ZonMw (project nummer 522001002, <http://www.wur.nl/nl/show/Plat4m-2Bt-psittacose.htm>). De typering van humane monsters wordt financieel mogelijk gemaakt door het OGZ-diagnostiekbudget van het Clb/RIVM (toekenningsnummer 3910014586).

Referenties

1. Peeters H. Een en ander over de epidemiologie van de psittacosis. Ned Tijdschr Geneesk 1930;74:931-4.
2. Kaleta EF, Taday EM. Avian host range of *Chlamydia* spp. based on isolation, antigen detection and serology. Avian pathology: journal of the WVPA 2003;32:435-61.
3. Kuo CC, Stephens RS, Bavoil PM, Kaltenboeck B. *Chlamydia*, Bergey's Manual of Systematics of Archae and Bacteria 2015.
4. Singh S, Eldin C, Kowalczywska M, Raoult D. Axenic culture of fastidious and intracellular bacteria. Trends in microbiology 2013;21:92-9.

5. Everett KD, Bush RM, Andersen AA. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *Int J Syst Bact* 1999;49 Pt 2:415-40.
6. Sachse K, Bavoi PM, Kaltenboeck B, et al. Emendation of the family Chlamydiaceae: proposal of a single genus, Chlamydia, to include all currently recognized species. *Systematic and applied microbiology* 2015;38:99-103.
7. Dereeper A, Guignon V, Blanc G, et al. Phylogeny.fr: robust phylogenetic analysis for the non-specialist. *Nucleic acids research* 2008;36:W465-9.
8. Geens T, Desplanques A, Van Loock M, et al. Sequencing of the Chlamydia psittaci ompA gene reveals a new genotype, E/B, and the need for a rapid discriminatory genotyping method. *J Clin Microbiol* 2005;43:2456-61.
9. Heddema ER, van Hannen EJ, Bongaerts M, et al. Typing of Chlamydia psittaci to monitor epidemiology of psittacosis and aid disease control in the Netherlands, 2008 to 2013. *Euro surveillance: bulletin European sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 2015;20:21026.
10. Pannekoek Y, Visser C, Duim B, Heddema ER. Chlamydia psittaci infections in The Netherlands. *Drugs of today* 2009;45 Suppl B:151-7.
11. Stewardson AJ, Grayson ML. Psittacosis. *Infectious disease clinics of North America* 2010;24:7-25.
12. van der Hoek W, Van Gageldonk-Lafeber AB, Heddema ER, et al. Omvang van het psittacose probleem bij de mens: het belang van betrouwbare diagnostiek. *Infectieziekten Bull* 2014;25:45-8.
13. Heddema ER, van Hannen EJ, Duim B, et al. An outbreak of psittacosis due to Chlamydia psittaci genotype A in a veterinary teaching hospital. *J Med Microbiol* 2006;55:1571-5.
14. Huijskens EG, Rossen JW, Kluytmans JA, van der Zanden AG, Koopmans M. Evaluation of yield of currently available diagnostics by sample type to optimize detection of respiratory pathogens in patients with a community-acquired pneumonia. *Influenza and other respiratory viruses* 2014;8:243-9.
15. Teirlinck AC, van Asten L, Brandsema PS, et al. Annual report surveillance of influenza and other respiratory infections in the Netherlands: winter 2015/2016. Bilthoven: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM); 2016. Report No.: 2016-0071.
16. Bijkerk P, de Gier B, Nijsten DRE, Duijster JW, Soetens LC, Hahné S.J.M. State of infectious diseases in the Netherlands 2015. Bilthoven: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM); 2016. Report No.: 2016-0069.
17. Spoorenberg SM, Bos WJ, van Hannen EJ, et al. Chlamydia psittaci: a relevant cause of community-acquired pneumonia in two Dutch hospitals. *Neth J Med* 2016;74:75-81.
18. Raeven VM, Spoorenberg SM, Boersma WG, et al. Atypical aetiology in patients hospitalised with community-acquired pneumonia is associated with age, gender and season; a data-analysis on four Dutch cohorts. *BMC infectious diseases* 2016;16:299.
19. Sachse K, Laroucau K, Vanrompay D. Avian Chlamydiosis. *Current Clinical Microbiology Reports* 2015;2:10-21.
20. Harkinezhad T, Geens T, Vanrompay D. Chlamydia psittaci infections in birds: a review with emphasis on zoonotic consequences. *Vet Microbiol* 2009;135:68-77.
21. Yin L, Lagae S, Kalmar I, Borel N, Pospischil A, Vanrompay D. Pathogenicity of low and highly virulent Chlamydia psittaci isolates for specific-pathogen-free chickens. *Avian diseases* 2013;57:242-7.
22. Staat van Zoonosen 2014: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM); 2015.
23. Dorrestein GM, Wiegman LJ. Inventory of the shedding of Chlamydia psittaci by parakeets in the Utrecht area using ELISA. *Tijdschr Diergeneeskunde* 1989;114:1227-36.
24. van Dommelen L, van Tiel FH, Ouburg S, et al. Alarmingly poor performance in Chlamydia trachomatis point-of-care testing. *Sexually transmitted infections* 2010;86:355-9.
25. Vanrompay D, Van Nerom A, Ducatelle R, Haesebrouck F. Evaluation of five immunoassays for detection of Chlamydia psittaci in cloacal and conjunctival specimens from turkeys. *J Clin Microbiol* 1994;32:1470-4.
26. Laroucau K, Aaziz R, Meurice L, et al. Outbreak of psittacosis in a group of women exposed to Chlamydia psittaci-infected chickens. *Euro surveillance: bulletin European sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 2015;20.
27. Lagae S, Kalmar I, Laroucau K, Vorimore F, Vanrompay D. Emerging Chlamydia psittaci infections in chickens and examination of transmission to humans. *J Med Microb* 2014;63:399-407.
28. Laroucau K, Vorimore F, Aaziz R, Berndt A, Schubert E, Sachse K. Isolation of a new chlamydial agent from infected domestic poultry coincided with cases of atypical pneumonia among slaughterhouse workers in France. *Infection, genetics and evolution: Infect Genet Evol* 2009;9:1240-7.
29. Hulin V, Oger S, Vorimore F, et al. Host preference and zoonotic potential of Chlamydia psittaci and C. gallinacea in poultry. *Pathogens and disease* 2015;73:1-11.
30. Staat van Zoonosen 2015: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM); 2016.
31. Magnino S, Haag-Wackernagel D, Geigenfeind I, et al. Chlamydial infections in feral pigeons in Europe: Review of data and focus on public health implications. *Vet Microbiol* 2009;135:54-67.
32. Heddema ER, Ter Sluis S, Buys JA, Vandenbroucke-Grauls CM, van Wijnen JH, Visser CE. Prevalence of Chlamydia psittaci in fecal droppings from feral pigeons in Amsterdam, The Netherlands. *Applied and environmental microbiology* 2006;72:4423-5.
33. Heijne M, KM, van der Goot J, van Tulden P, van Solt C, Roest HIJ. Presence of Chlamydia psittaci in pet and wild birds in the Netherlands between 2009 and 2013. *European Association of Veterinary Laboratory Diagnostics*; 2014.
34. Koene R, Hautvast J, Zuchner L, et al. Local cluster of psittacosis after bird show in the Netherlands, November 2007. *Euro surveillance: bulletin European sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 2007;12:E071213 1.