

Detección de *Chlamydia pneumoniae* en lesiones ateroscleróticas asociadas a infarto miocárdico agudo

ORISON WOOLCOTT¹, LUIS SÁNCHEZ¹, EDUARDO RUIZ², JUDITH MAGUIÑA³,
ROSA CARRERA³, SHÉRMANY ARONÉS³, INÉS LEÓN¹

¹Instituto de Patología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. ²Departamento de Patología, Hospital Nacional Arzobispo Loayza. ³Instituto Nacional de Medicina Legal. Lima, Perú.

RESUMEN

OBJETIVOS: Determinar la asociación entre *Chlamydia pneumoniae* y la aterosclerosis de arterias implicadas en el infarto miocárdico agudo. **MATERIAL Y MÉTODOS:** Estudio de sujetos de 70 años de edad o menos, cuya causa de muerte fue infarto miocárdico agudo (casos), y sujetos fallecidos por otra causa (controles), necropsiados 12 a 48 horas después del deceso. La detección de *C. pneumoniae* en la placa aterosclerótica se realizó con inmunohistoquímica. **RESULTADOS:** Se incluyó 35 sujetos, de los cuales 30 eran varones. El número de casos de infarto miocárdico fue 13 y el número de controles 22. La proporción de especímenes positivos fue más alto en los casos, 69,2%, que en los controles, 22,7% (OR 4,8; 95% intervalo de confianza [IC] 0,9-24,6, $p = 0,061$). *Chlamydia pneumoniae* fue encontrado en 21% de los casos de aterosclerosis leve y 62,5% en lesiones moderadas y severas (OR 3,8; IC 0,7-21,8, $p = 0,129$). **CONCLUSIONES:** Se encontró una asociación positiva entre *C. pneumoniae* e infarto miocárdico agudo. Estos hallazgos sugieren que la *C. pneumoniae* estaría implicada en la inestabilidad de la placa aterosclerótica.

Palabras claves: Aterosclerosis; *Chlamydia pneumoniae*; Infarto del miocárdico.

DETECTION OF *Chlamydia pneumoniae* IN ATHEROSCLEROTIC LESIONS INVOLVED IN ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION

SUMMARY

OBJECTIVES: To determine the association between *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis in arteries involved in acute myocardial infarction. **MATERIAL AND METHODS:** Subjects 70 years old or younger whose cause of death was acute myocardial infarction and subjects whose cause of death was not acute myocardial infarction were studied, all of them necropsied 12 to 48 hours after death. Detection of *C. pneumoniae* in atherosclerotic lesions was done by immunohistochemistry. **RESULTS:** Thirty-five subjects were included, thirty of them males. There were 13 cases of myocardial infarction, and 22 controls. The proportion of positive specimens was higher in cases, 69,2%, than in controls, 22,7% (OR 4,8; 95% confidence interval [CI] 0,9-24,6, $p = 0,061$). *Chlamydia pneumoniae* was found in 21% of mild atherosclerosis lesions and in 62,5% in moderate and severe lesions (OR 3,8; CI 0,7-21,8, $p = 0,129$). **CONCLUSIONS:** We found a positive association between *C. pneumoniae* and acute myocardial infarction. These findings suggest that *C. pneumoniae* is implicated in instability of the atherosclerotic plaque.

Key words: Atherosclerosis; *Chlamydia pneumoniae*; Myocardial infarction.

Correspondencia:

Dr. Orison O. Woolcott
Calle Alcalá 132, Mayorazgo
Lima 3, Perú
E-mail: orisonwc@terra.com.pe

INTRODUCCIÓN

En la patogénesis de la aterosclerosis han surgido nuevos conceptos. En una posible etiología infecciosa estaría implicada la *Chlamydia pneumoniae* (1-3). En estudios previos, mediante el método de inmunofluorescencia, se ha encontrado una asociación entre *C. pneumoniae* e infarto miocárdico agudo (4-7). Se sabe que el infarto miocárdico agudo es desencadenado principalmente por el desarrollo de aterosclerosis en las arterias coronarias. La detección de *C. pneumoniae* dentro de los vasos ateroscleróticos sugiere una implicancia etiológica de este microorganismo en el proceso de aterogénesis y la inestabilidad de la placa aterosclerótica (8). En 1988, Saikku y col, encontraron anticuerpos IgA e IgG contra *Chlamydia pneumoniae* en pacientes con infarto miocárdico agudo (4). Posteriormente, en otros estudios se ha encontrado una correlación serológica positiva entre *C. pneumoniae* y enfermedades coronarias (9-12).

Recientemente, se ha demostrado anticuerpos contra las proteínas específicas del miocardio inducidas por el mimetismo antigénico de las proteínas de la *Chlamydia* (13). Un mecanismo patogénico probable podría explicar la asociación entre esta bacteria y las enfermedades cardíacas. Una forma podría ser la inducción de un proceso inflamatorio crónico, que conlleva a una inestabilidad (fisura o ruptura) de la placa ateromatosa (8,14).

La evidencia histológica de la *C. pneumoniae* en sujetos con infarto miocárdico agudo ha sido poco estudiada. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar si existe una asociación entre *C. pneumoniae* y la aterosclerosis de arterias implicadas en el infarto miocárdico agudo.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el estudio se incluyó sujetos de 70 años de edad o menos, necropsiados 12 a 48 horas después de su deceso, con demostración de arterias coronarias ateroscleróticas por examen histológico. Los casos fueron definidos como

sujetos cuya causa de muerte fue infarto miocárdico agudo, sin historia de cirugía cardíaca. El grupo control fue definido como sujetos fallecidos por causas no asociadas a enfermedad cardíaca coronaria y sin evidencia de infarto miocárdico antiguo. Los especímenes de placas ateroscleróticas asociadas a infarto miocárdico fueron obtenidas de un grupo consecutivo de sujetos necropsiados en el Instituto Nacional de Medicina Legal, Lima, Perú, desde el mes de abril hasta noviembre de 2000. La fuente de especímenes para el grupo control se obtuvo de igual forma, en el mismo periodo. No fue posible obtener datos acerca de factores de riesgo para aterosclerosis, tales como diabetes, consumo de tabaco y alcohol, debido a que un gran porcentaje de los sujetos era *non nominato*.

La tinción por inmunohistoquímica fue realizada en el Instituto de Patología de la Facultad de Medicina, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Todos los procedimientos usados en este estudio fueron aprobados por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y las autoridades de la División Central de Exámenes Auxiliares y Tanatológicos del Instituto Nacional de Medicina Legal.

Las muestras de miocardio infartado fueron recolectadas y examinadas para determinar aterosclerosis en las arterias implicadas en la lesión infartada. En el grupo control, las muestras de tejido fueron coleccionadas y las arterias coronarias correspondientes fueron examinadas para determinar aterosclerosis. En ambos grupos, el tejido restante fue congelado a -20°C. En cada muestra varios cortes fueron realizados para la tinción inmunohistoquímica.

La tinción con hematoxilina-eosina fue realizada para determinar la severidad de las lesiones ateroscleróticas. La severidad de la aterosclerosis fue gradada teniendo en cuenta la oclusión de la luz del vaso: leve, cuando la oclusión fue de 10% a 30%; severa, en más de 70%; y moderada, el estado intermedio entre la lesión leve y la severa.

Para determinar la presencia de la *C. pneumoniae* en el tejido, se usó el método inmunohistoquímico de estreptavidina-biotina (20). Se empleó anticuerpos monoclonales RR-402 (Washington Research Foundation, Seattle, Washington) específicos para *C. pneumoniae*. Luego, las muestras fueron analizadas con un microscopio de luz. Los resultados fueron reportados como positivo o negativo. Los cortes fueron analizados como estudio ciego por un investigador.

Para el análisis estadístico, los resultados fueron expresados como promedio con desviación estándar. El *odds ratio* (OR), con un intervalo de confianza de 95%, fue calculado usando el análisis de Mantel-Haenszel. Se utilizó regresión lo-

gística para determinar el OR ajustado para las variables intervinientes: edad y sexo.

RESULTADOS

Entre abril y noviembre de 2000, hubo 17 casos de muerte por infarto miocárdico agudo que reunían los criterios de inclusión y 41 sujetos fallecidos por causa no asociada a enfermedad cardíaca. De los 58 sujetos, en 13 fallecidos por infarto y 22 fallecidos por otras causas se obtuvo muestras adecuadas de tejido miocárdico, las cuales fueron incluidas finalmente (Tabla 1). La edad promedio en el momento del deceso fue $57,8 \pm 12,3$ años en los casos y $49,9 \pm 8,3$ en el grupo control. Los sujetos

Tabla 1.- Resultados del análisis inmunohistoquímico de las lesiones ateroscleróticas coronarias en sujetos fallecidos por IMA (casos) y en sujetos fallecidos por causa no asociada a IMA (controles).

Casos					Controles				
Caso (n)	Edad (años)	Sexo	Aterosclerosis	Cp	Caso (n)	Edad (años)	Sexo	Aterosclerosis	Cp
1	58	M	Mo	+	1	50	M	Le	-
2	58	M	Le	-	2	59	M	Le	-
3	60	M	Se	+	3	44	M	Le	-
4	59	M	Mo	+	4	53	F	Le	-
5	62	M	Le	-	5	54	M	Le	+
6	63	M	Mo	+	6	43	M	Mo	-
7	71	M	Mo	+	7	48	F	Le	-
8	69	M	Mo	+	8	40	M	Le	-
9	21	M	Le	-	9	43	F	Le	-
10	55	M	Mo	-	10	56	M	Mo	-
11	53	M	Se	+	11	40	M	Le	+
12	55	M	Le	+	12	56	M	Se	+
13	67	M	Se	+	13	55	M	Le	-
					14	48	M	Le	-
					15	50	F	Le	-
					16	55	M	Mo	-
					17	58	M	Mo	-
					18	40	F	Le	-
					19	61	M	Mo	-
					20	30	M	Le	+
					21	64	M	Le	-
					22	50	M	Mo	+

IMA = Infarto miocárdico agudo

Cp = *Chlamydia pneumoniae*

Le = Leve

Mo = Moderado

Se = Severo

control fallecieron por contusión cerebral, asfixia, heridas por arma blanca o arma de fuego, enfisema pulmonar o encefalopatía aguda. Todos los casos fueron de sexo masculino y, en el grupo control, hubo 5 de sexo femenino. Por otro lado, de acuerdo a la severidad de la aterosclerosis, 19, 12 y 4 tuvieron aterosclerosis leve, moderada y severa, respectivamente. Todos los casos de sexo femenino tuvieron aterosclerosis leve.

El grado de severidad de las arterias ateroscleróticas estuvo correlacionado con la presencia de infarto miocárdico. La prevalencia de infarto miocárdico agudo fue 21% de 19, 50% de 12, y 75% de 4, en aterosclerosis leve, moderada y severa, respectivamente.

La proporción de especímenes positivos a *C. pneumoniae* fue más alta en los casos, 69,2% de 13, que en los controles, 22,7% de 22 (OR 7,65; IC 1,6-35,8; $p = 0,02$). Esta asociación persistió después de la regresión logística para controlar las variables de edad y sexo (OR 4,8; IC 0,9-24,6; $p = 0,061$).

El 100% de los sujetos varones fue positivo para *C. pneumoniae*, mientras que ningún caso positivo fue encontrado en el grupo de sexo femenino.

Hubo una correlación entre el grado de severidad de la aterosclerosis y el porcentaje de especímenes positivos a *C. pneumoniae*. Esta bac-

teria fue encontrada en 4 de 19 (21%) casos de aterosclerosis leve, en 6 de 12 (50%) lesiones moderadas y en 4 de 4 (100%) casos de aterosclerosis severa (Tabla 2). Cuando los casos de aterosclerosis leve fueron comparados con lesiones avanzadas (moderada y severa), la asociación con *C. pneumoniae* fue mayor en el último grupo, 62,5% de especímenes (OR 6,25; IC 1,4-27,9; $p = 0,034$). Después de ajustar para las variables edad y sexo, el OR fue 3,8 (IC 0,7-21,8, $p = 0,129$). Todos los especímenes fueron considerados positivos sólo si la tinción positiva con inmunohistoquímica había sido observada dentro de la lesión aterosclerótica (Figura 1).

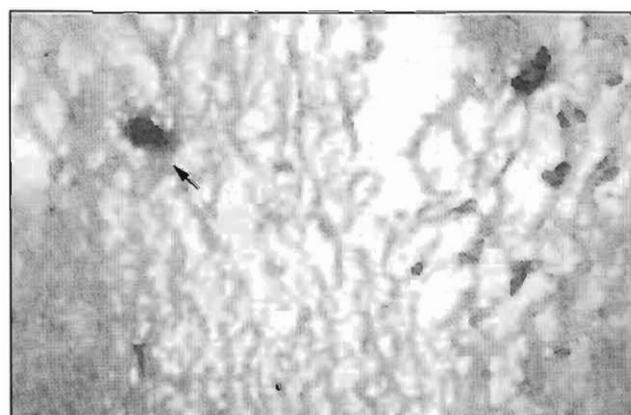


Figura 1. La placa aterosclerótica teñida por el método de inmunohistoquímica muestra evidencia de *Chlamydia pneumoniae* (ver flecha negra). Aumento del tamaño original X 400.

Tabla 2.- Detección de *Chlamydia pneumoniae* en pacientes con infarto miocárdico agudo, según el tipo de lesión aterosclerótica.

<i>C. pneumoniae</i>	Casos n=13	Controles n=22	OR			Aterosclerosis		
			Crudo	Ajustado	95% IC	Leve	Moderada	Severa
Negativo	4 (30,8)	17 (77,3)	1	1	-	15 (79)	6 (50)	0 (0)
Positivo	9 (69,2)	5 (22,7)	7,65	4,84	0,9-24,6	4 (21)	6 (50)	4 (100)

IC = Intervalo de confianza
El porcentaje es expresado en paréntesis.

DISCUSIÓN

Los resultados encontrados en este estudio son similares a los reportados por autores extranjeros. Usando inmunohistoquímica, encontramos un alto porcentaje de positividad para *C. pneumoniae* en las arterias coronarias con lesiones ateroscleróticas de diferente grado de severidad: 69,2% de todos los casos fueron positivos a *C. pneumoniae*; en cambio, sólo 22,7% fue positivo en el grupo control. Resultados comparables fueron reportados por investigadores alemanes en lesiones ateroscleróticas asociadas a angina inestable o infarto miocárdico agudo, 84% de positividad comparado con 30% de los casos con angina estable⁽¹⁵⁾. En otros estudios, usando inmunohistoquímica, investigadores encontraron una positividad de 41,6%⁽¹⁶⁾, 21%⁽¹⁷⁾ y 43%⁽¹⁸⁾, en pacientes con enfermedad coronaria no asociada a inestabilidad de la placa ateromatosa. En este trabajo, encontramos una asociación significativa entre *C. pneumoniae* e infarto miocárdico agudo (OR 7,65; $p=0,02$). Después de ajustar el OR para variables intervinientes, la asociación persistió; sin embargo, no fue estadísticamente significativa (OR 4,8; $p=0,061$). Sin embargo, el *odds ratio* es mayor que el obtenido en estudios previos en pacientes japoneses con sintomatología coronaria [OR 2,2; IC 1,2-3,9 para IgG y 2,7; IC 1,7-4,3 para IgA]⁽¹⁹⁾, así como, más alto que el estudio prospectivo realizado en Helsinki [OR 2,7; IC 1,1-6,5, para títulos elevados de IgA]⁽⁹⁾.

Debido a que el objetivo del estudio fue determinar la asociación entre *C. pneumoniae* y la lesión aterosclerótica implicada en el infarto miocárdico agudo, la positividad para *C. pneumoniae* fue reportada sólo si la tinción había sido vista en la lesión aterosclerótica, ya que hubo casos en el que la tinción se dio en la zona de la adventicia. Previamente, algunos investigadores han detectado la presencia de *C. pneumoniae* en la adventicia^(20,21).

No se pudo analizar las diferencias entre los resultados del grupo de estudio con los controles con relación al sexo de los sujetos, debido a

que no hubo casos de sexo femenino en el grupo problema. Sin embargo, la positividad para *C. pneumoniae* encontrada en el estudio sólo en el grupo de varones puede ser debido a las lesiones ateroscleróticas avanzadas encontradas en esta población, a diferencia de la población femenina, en quienes se encontró aterosclerosis leve. Además, estudios epidemiológicos muestran que hay una mayor prevalencia de infección por *C. pneumoniae* en varones que en la población femenina adulta⁽²²⁾. ¿Por qué existe esta diferencia? Probablemente, el depósito de hierro en sangre tenga que ver con este hallazgo. Las arterias ateroscleróticas contienen cantidades mayores de hierro que las arterias no ateroscleróticas. El depósito de hierro es una fuente importante para el crecimiento de las bacterias gram-negativas en el torrente sanguíneo. Se conoce que el depósito de hierro es mayor en varones que en mujeres; por lo tanto, el hombre podría ser más susceptible a la infección por *C. pneumoniae* que la mujer⁽²³⁾.

Ya que el número de casos incluidos en el estudio fue pequeño, no permitió hacer un análisis adecuado de la presencia de *C. pneumoniae* según el grupo etéreo.

La tasa de positividad para *C. pneumoniae* se correlacionó con el grado de aterosclerosis y también con la presencia de infarto miocárdico agudo. La infección crónica por *Chlamydia* está relacionada probablemente con mecanismos inflamatorios, los cuales son llevados a cabo a través de una vía cíclica. Esta hipótesis es sostenida por muchos estudios experimentales⁽²⁴⁻²⁶⁾, donde un conjunto de mediadores moleculares -tales como la interleuquina 6, el factor tisular, el inhibidor-activador del plasminógeno I⁽²⁶⁾ y otros mediadores- han estado implicados en el rol patogénico de la *C. pneumoniae* en la aterosclerosis y, consecuentemente, en la inestabilidad de la placa aterosclerótica⁽⁸⁾.

En este estudio, todos los sujetos tuvieron arterias coronarias ateroscleróticas en diferentes estadios. Estudios previos, por medio de

inmunohistoquímica y reacción en cadena de la polimerasa, han encontrado una tasa muy baja de positividad para *C. pneumoniae*, sólo 1%, en arterias no ateroscleróticas (27,28).

En conclusión, no obstante la alta tasa de positividad para *C. pneumoniae* en infarto miocárdico agudo y en aterosclerosis moderada y avanzada encontrada en este estudio, no podemos aseverar que la *C. pneumoniae* es el agente causal de aterosclerosis; sin embargo, estos hallazgos sostienen la hipótesis de que *C. pneumoniae* está implicada en la inestabilidad de la placa aterosclerótica y, por lo tanto, su posible implicancia con el desarrollo de futuros eventos de infarto miocárdico. Se requieren estudios experimentales de seguimiento para confirmar esta hipótesis.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los doctores Joel A. Ñufflo y Ronald Sotelo, por sus sugerencias y ayuda en la discusión del artículo.

Trabajo financiado por el Consejo Superior de Investigaciones de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Orfila JJ. Seroepidemiological evidence for an association between *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1998 Oct; 140 Suppl 1:11-5.
- 2) Grayston JT. Background and current knowledge of *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis. *J Infect Dis* 2000 Jun; 181 Suppl 3:402-10.
- 3) Zhu J, Nieto FJ, Horne BD, Anderson JL, Muhlestein JB, Epstein SE. Prospective study of pathogen burden and risk of myocardial infarction or death. *Circulation* 2001; 103:45-51.
- 4) Saikku P, Mattila K, Nieminen MS, Huttunen JK, Leinonen M, Ekman MR, et al. Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet* 1988; 2:983-6.
- 5) Blasi F, Cosentini R, Raccanelli R, Massari FM. A possible association of *Chlamydia pneumoniae* infection and acute myocardial infarction in patients younger than 65 years of age. *Chest* 1997; 112:309-12.
- 6) Gupta S, Leatham EW, Carrington D, Mendall MA, Kaski JC, Camm AJ. Elevated *Chlamydia pneumoniae* antibodies, cardiovascular events, and azithromycin in male survivors of myocardial infarction. *Circulation* 1997; 96:404-7.
- 7) Saikku P. Epidemiology of *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerosis. *Am Heart J* 1999 Nov; 138(5 Pt2):500-3.
- 8) Gurfinkel E, Bozovich G. *Chlamydia pneumoniae*: inflammation and instability of the atherosclerosis plaque. *Atherosclerosis* 1998 Oct; 140 Suppl 1:31-5.
- 9) Saikku P, Leinonen M, Tenkanen L, Linnanmäki 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; 116:273-8.
- 10) Cook PJ, Honeybourne D, Lip GYH, Beevers DG, Wise R. *Chlamydia pneumoniae* and acute arterial thrombotic disease. *Circulation* 1995; 92:3148-9.
- 11) Mazzoli S, Tofani N, Fantini A, Semplici F, Bandini F, Salvi A, et al. *Chlamydia pneumoniae* antibody response in patients with acute myocardial infarction and their follow-up. *Am Heart J* 1998; 135:15-20.
- 12) Nieto FJ, Folsom AR, Sorlie PD, Grayston JT, Wang SP, Chambless LE. *Chlamydia pneumoniae* infection and incident coronary heart disease. *Am J Epidemiol* 1999; 150:149-56.
- 13) Bachmaier K, Neu N, de la Maza LM, Pal S, Hessel A, Penninger JM. *Chlamydia* and heart disease linked through antigenic mimicry. *Science* 1999; 283:1335-9.
- 14) Muhlestein JB. The link between *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis. *Infections in Medicine* 1997; 14:380-2.
- 15) Bauriedel G, Welsch U, Likungu JA, Welz A, Lüderitz B. *Chlamydia pneumoniae* in koronarem plaquegewebe: Vermehrter nachweis bei akutem koronarsyndrom. *Dtsch med Wschr* 1999; 124:375-80.
- 16) 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; 167:841-9.
- 17) Jackson LA, Campbell LA, Schmidt RA, Kuo CC, Cappuccio AL, Lee MJ, et al. Specificity of detection of *Chlamydia pneumoniae* in cardiovascular atheroma. *Am J Pathol* 1997; 150:1785-90.
- 18) Davidson M, Kuo CC, Middaugh JP, Campbell LA, Wang SP, Newman WP, et al. Confirmed previous infection with *Chlamydia pneumoniae* (TWAR) and its presence in early coronary atherosclerosis. *Circulation* 1998; 98:628-33.
- 19) Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Kundsir R, Shih J. Baseline IgG antibody titers to *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, Herpes simplex virus, and Cytomegalovirus and the risk for cardiovascular disease in women. *Ann Intern Med* 1999; 131:573-7.

- 20) **Kuo CC, Gown AM, Benditt EP, Grayston JT.** Detection of *Chlamydia pneumoniae* in aortic lesions of atherosclerosis by immunocytochemical stain. *Arterioscler Thromb* 1993; 13:1501-4.
- 21) **Higuchi MDL, Castelli JB, Aiello VD, Palomino S, Reis MM, Sambiase NV, et al.** Great amount of *C. pneumoniae* in rupture plaque vessel segments at autopsy: a comparative study with stable plaques. *Arq Bras Cardiol* 2000; 74:149-51.
- 22) **Grayston JT.** Does *Chlamydia pneumoniae* cause atherosclerosis? *Arch Surg* 1999; 134:930-4.
- 23) **Sullivan JL, Weinberg ED.** Iron and the role of *Chlamydia pneumoniae* in heart disease. *Emerg Infect Dis* 1999; 5:724-6.
- 24) **Laitinen K, Laurila A, Pyhälä L, Leinonen M, Saikku P.** *Chlamydia pneumoniae* infection induces inflammatory changes in the aortas of rabbits. *Infect Immun* 1997; 65:4832-5.
- 25) **Steinberg D.** Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem* 1997; 272:20963-6.
- 26) **Dechend R, Maass M, Gieffers J, Dietz R, Scheidereit C, Leutz A, et al.** *Chlamydia pneumoniae* infection of vascular smooth muscle and endothelial cells activates NF-kappaB and induces tissue factor and PAI-1 expression. *Circulation* 1999; 100:1369-73.
- 27) **Taylor-Robinson D; Thomas BJ.** Demonstration of *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerotic lesions [Abstract]. Proceedings of the 8th International Congress on Infectious Diseases; 1998 May 15-18; Boston, Massachusetts, USA; 1998: p. 6.
- 28) **Kuo CC, Campbell LA.** Detection of *Chlamydia pneumoniae* in arterial tissues. *J Infect Dis* 2000 Jun;181 Suppl 3:432-6.