

MARIA CATALINA OSPINA PINTO

**Detection and molecular characterization of *Chlamydia* spp. in poultry and
backyard chickens in Brazil**

São Paulo

2023

MARIA CATALINA OSPINA PINTO

Detection and molecular characterization of *Chlamydia* spp. in poultry and backyard chickens in Brazil

Thesis submitted to the Postgraduate Program in Experimental and Comparative Pathology of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of the University of São Paulo to obtain the Doctor's degree in Sciences.

Department:

Pathology

Area:

Experimental and Comparative Pathology

Advisor:

Prof. Tânia de Freitas Raso, Ph.D.

São Paulo

2023

Total or partial reproduction of this work is permitted for academic purposes with the proper attribution of authorship and ownership of the rights.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

4297
FMVZ

Pinto, Maria Catalina Ospina
Detection and molecular characterization of *Chlamydia* spp. in poultry and backyard chickens in Brazil / Maria Catalina Ospina Pinto. – 2023.
70 f. : il.

Título traduzido: Detecção e caracterização molecular de *Chlamydia* spp. em aves comerciais e de subsistência no Brasil.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, São Paulo, 2023.

Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada.

Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientadora: Profa. Dra. Tânia de Freitas Raso.

1. *Chlamydiaceae*. 2. Indústria avícola. 3. Galinhas de fundo de quintal. 4. *C. gallinacea*. 5. PCR. I. Título.

RESUMO

OSPINA PINTO, M. C. **Detecção e caracterização molecular de *Chlamydia* spp. em aves comerciais e de subsistência no Brasil.** 2023. 70 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

A clamidiose aviária é uma doença infecciosa que afeta diversas espécies de aves, causada por bactérias da família *Chlamydiaceae*. A espécie recentemente reconhecida *Chlamydia gallinacea*, tem se mostrado aparentemente predominante em produções aviárias em diversos países, e com informações ainda incipientes no Brasil. A produção avícola brasileira é um setor muito importante tanto para a economia familiar como do país, assim como o Brasil é considerado como fornecedor de alimentos e vitrine para o mundo. Estudos sanitários sobre patógenos que podem afetar os parâmetros produtivos e causar perdas econômicas são relevantes tanto em propriedades industriais quanto de fundo de quintal. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi investigar a presença de *Chlamydia* spp. e determinar as espécies envolvidas em aves comerciais e de subsistência no Brasil. Swabs de cloaca foram coletados em galinhas de subsistência de três estados da região sul do Brasil (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul), e em quatro lotes de uma matriz de poedeiras no estado de Pernambuco com idades variando de 5 a 62 semanas. As amostras de DNA foram testadas usando reações em cadeia da polimerase (PCR) para as diferentes espécies de *Chlamydia*, sendo *Chlamydiaceae* (gene 23S rRNA), *C. psittaci* (gene *ompA*), *C. avium* (gene *enoA*) e *C. gallinacea* (genes *gidA* e *enoA*). Adicionalmente, o gene 16S rRNA foi utilizado como confirmação para sequenciamento e análise filogenética. O gene *gidA* de *C. gallinacea* também foi usado para sequenciamento. Um total de 582 amostras de galinhas de subsistência foram analisadas em 238 pools de amostras de 134 propriedades. Da matriz comercial, 60 pools foram analisados. *C. gallinacea* foi a única espécie identificada tanto em aves comerciais como de subsistência. A presença de *C. psittaci* e *C. avium* não foi detectada. A análise filogenética das sequências obtidas confirmou que as amostras das galinhas de subsistência correspondiam a *C. gallinacea*, com um alto percentual de identidade (99,25% a 100%) com sequências disponíveis no GenBank de galinhas comerciais da Polônia, da França e da China, e perus da Suíça. É de

grande relevância que *C. psittaci* não foi detectada em nenhuma propriedade nos dois tipos de criação, tendo em vista que se trata de uma zoonose cuja confirmação de um caso positivo deve ser notificada. Isso está de acordo com o que foi encontrado em aves de todo o mundo, já que no caso das aves comerciais a presença de *C. psittaci* é comumente relacionada com criações de espécies como patos e perus e, igualmente, no caso das aves de subsistência pode estar associada com o contato com outras espécies animais quando se trata de criações mistas. Esta é a primeira detecção de *C. gallinacea* em galinhas comerciais no estado de Pernambuco, bem como a primeira detecção em galinhas de subsistência no Brasil. Considerando a importância da avicultura brasileira, mais estudos devem ser realizados em granjas comerciais e de fundo de quintal em outras regiões do país no intuito de ampliar o conhecimento sobre a epidemiologia dessa recente espécie de *Chlamydia* identificada em galinhas.

Palavras-chave: *Chlamydiaceae*. Indústria avícola. Galinhas de fundo de quintal. *C. gallinacea*. PCR.

ABSTRACT

OSPINA PINTO, M. C. **Detection and molecular characterization of *Chlamydia* spp. in poultry and backyard chickens in Brazil.** 2023. 70 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Avian chlamydiosis is an infectious disease that affects several species of birds, caused by bacteria of the *Chlamydiaceae* family. The recently recognized species *Chlamydia gallinacea*, has apparently been shown to be predominant in avian productions in different countries, and with incipient information in Brazil. Brazilian poultry production is a very important sector for both the family's and the country's economy, as well as Brazil is considered a food supplier and a showcase for the world. Sanitary studies on pathogens that can affect production parameters and cause economic losses are relevant both in industrial and backyard properties. Therefore, the objective of this project was to investigate the presence of *Chlamydia* spp. and to determine the species involved in commercial and subsistence birds in Brazil. Cloacal swabs were collected from subsistence chickens from three states in the southern region of Brazil (Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul), and from four flocks from layer breeder hens in the state of Pernambuco with ages ranging from 5 to 62 weeks. DNA samples were tested using polymerase chain reaction (PCR) for different species of *Chlamydia*, namely *Chlamydiaceae* (23S rRNA gene), *C. psittaci* (*ompA* gene), *C. avium* (*enoA* gene) and *C. gallinacea* (*gidA* and *enoA* genes). Additionally, the 16S rRNA gene was used as confirmation for sequencing and phylogenetic analysis. The *gidA* gene from *C. gallinacea* was also used for sequencing. A total of 582 subsistence chicken samples were analyzed in 238 sample pools from 134 properties. From the commercial farm, 60 pools were analyzed. *C. gallinacea* was the only species identified in both commercial and subsistence birds. The presence of *C. psittaci* and *C. avium* was not detected. The phylogenetic analysis of the sequences obtained confirmed that the samples from the subsistence chickens corresponded to *C. gallinacea*, with a high percentage of identity (99.25% to 100%) with sequences available in GenBank of commercial chickens from Poland, France and China, and turkeys from Switzerland. It is of great relevance that *C. psittaci* was not detected in any property in both types of farming, considering that it is a zoonosis whose

confirmation of a positive case must be notified. This agrees with what was found in poultry from all over the world, since in the case of commercial birds the presence of *C. psittaci* is commonly related to farms of species such as ducks and turkeys and, equally, in the case of subsistence birds it may be associated with contact with other animal species when it comes to mixed-species farms. This is the first detection of *C. gallinacea* in commercial chickens in the state of Pernambuco, as well as the first detection in subsistence chickens in Brazil. Considering the importance of Brazilian poultry farming, more studies should be carried out in commercial and backyard farms in other regions of the country to increase knowledge about the epidemiology of this recent *Chlamydia* species identified in chickens.

Keywords: *Chlamydiaceae*. Poultry industry. Backyard chickens. *C. gallinacea*. PCR.