

Zusammenfassung

Ziel dieses Projektes war es ein besseres Verständnis der Reaktion des Atmungstrakts von Hühnern auf Infektionen mit Bakterien und Viren sowie auf Koinfektionen und Aerosol-Impfungen zu erlangen. Die Erkenntnisse sollen dazu beitragen, dass bessere Strategien zur Kontrolle von endemischen Erkrankungen erarbeitet werden können. Insbesondere sollten jene immunologischen Mechanismen identifiziert werden, welche zur Resistenz der Tiere gegenüber Atemwegserkrankungen durch „Aviäre Pathogene Escherichia coli“ (APEC) und Koinfektionen mit aviären Influenza Viren (AIV) und infektiösen Bronchitis Viren (IBV) führen.

Die drei Gruppen des Konsortiums (INRA, Frankreich; LMU, Deutschland; Roslin Institute, UK) konnten auf einer langjährigen Partnerschaft und Zusammenarbeit aufbauen, was wesentlich zum reibungslosen Verlauf und einem umfassenden Austausch von Reagenzien, Probenmaterial und Technologien beigetragen hat. Während der zweiten Hälfte der Projektlaufzeit fand ein Austausch der Doktoranden zwischen den beteiligten Instituten statt. Hierdurch konnten die jungen Wissenschaftler neue Methoden erlernen und ihr eigenes Netzwerk ausbauen, was zu gemeinsamen Publikationen geführt hat. Jede der Gruppen verfügte über besondere Techniken, Hühnerlinien und Erfahrungen, welche in diesem Projekt erfolgreich zusammengeführt wurden.

Das Konsortium hat gemeinsam neue Techniken und Protokolle erarbeitet und vorhandene Protokolle verbessert um die Immunreaktionen im Atmungstrakte von ausgezuchteten und ingezuchteten Hühnerlinien vergleichend untersuchen zu können. Zudem wurde eine transgene Hühnerlinie umfassend untersucht, in der alle Zellen der myeloiden Linie ein fluoreszierendes Protein exprimieren, wodurch die Identifizierung, Isolierung und Phänotypisierung APEC infizierter Zellen möglich wurde.

Die wichtigsten Aktivitäten und Erfolge des Konsortiums waren: (i) die erfolgreiche Etablierung der Infektionsmodelle und die Optimierung der Infektionsdosen in den genannten Hühnerlinien. Diese wurden nachfolgend zur Analyse der lokalen und systemischen Immunreaktion auf zellulärer und Genexpressionsebene herangezogen. (ii) die Identifizierung von zwei Genen des Immunsystems, welche bisher beim Huhn nicht beschrieben waren und welche wahrscheinlich eine wichtige Rolle in der Abwehr von APEC Infektionen spielen. Im Zuge dieser Arbeiten wurden immunologische Werkzeuge zur Untersuchung der Funktion dieser Gene entwickelt. (iii) Um die Studien zur Interaktion von APEC und Wirtszellen untersuchen zu können, wurden zwei genetisch veränderte Bakterienstämme entwickelt, welche ein fluoreszierendes Gen (APEC O1::gfp) exprimieren. Diese wurden sowohl *in vitro*, als auch *in vivo* validiert. (iv) In *in vitro* und *in vivo* Studien wurde schließlich die Auswirkung einer Virusinfektion auf eine APEC-Superinfektion untersucht und insbesondere die Bedeutung des durch die Virusinfektion induzierten Interferons analysiert.

Project summary

The goal of this project was to gain a better understanding of responses in the respiratory tract of chickens to bacterial and viral infections, co-infections and vaccines to improve the control of endemic diseases. The overall aim is to define the immunological basis for avian resistance to respiratory avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) infection and co-infection with avian influenza virus (AIV) and infectious bronchitis virus (IBV).

The three groups consisted of long-term partners and collaborators, which has contributed to the smooth running of the project and extensive exchange of materials, samples and technology. During the second half of the project, the early-career scientists deployed on the project visited the partner labs to receive additional training and to broaden their network, which resulted in joined publications. Each group has unique technologies, chicken lines and expertise and therefore the project integrates resources and expertise that are not available in the laboratory of any one partner and thus offered substantial added value to the funders.

The integrated and synergistic consortium of INRA France, LMU Germany and Roslin Institute UK we have set up new techniques and protocols, and optimised existing ones, to study immune responses in the avian respiratory tract in outbred and inbred chickens lines, as well as transgenic chickens in which all cells of the myeloid lineage express a fluorescent protein to aid sorting and phenotyping of APEC-infected cells.

Our main activities and achievements during the full period were as follows: (i) setting up the infection model and optimisation of the infection dose in multiple inbred and transgenic chicken lines. Subsequent *in vivo* experiments were performed to study the local and systemic immune responses at cellular and transcriptomic level. (ii) Two genes that may play a significant role in the control of APEC have been identified and immunological tools to study these genes in detail were developed; (iii) To aid studies into the interaction between *E. coli* and chicken host cells, two recombinant *E. coli* strains expressing a fluorescent protein (APEC O1::gfp) were produced and validated *in vitro* and *in vivo*. (iv) *In vitro* and *in vivo* studies have been performed to mimic and explore the potentially exacerbating effects of virus-induced interferon responses on the outcome of APEC-superinfection in an *in vitro* model.