

Projektszám: 101öu6	1 099 750 HUF 2 986 EUR
Pályázó neve: Dr. Kaján Győző	Intézménye: ATK Állatorvostudományi Intézet
Projektpartner neve: Dr. med.vet. Anna Schachner	Intézménye: Univ.Klinik für Geflügel und Fische, Dep. für Nutztiere und Öffentliches Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin, Vetmed Uni Wien
Pályázat címe: Tyúk-aviadenovírus B (FAdV-B) törzsek genomkarakterizálása	

A projekt jellege: (kérjük bejelölni)

- Workshop, konferencia
- Publikáció, tananyag
- Kutatási együttműködés
- Oktatási program

Beszámoló/Eredmények

A tyúk-adenovírusok (fowl adenovirus, FAdV) által okozott fertőzés elterjedt, de az ismert öt vírusfaj (FAdV-A – FAdV-E) szerotípusai közül nem mind okoz megbetegedést (sejtzárványos májgyulladás, hepatitis-hydropericardium szindróma, zúzógyomor fekély). Ezen megbetegedések azonban gazdaságilag jelentősek, és világszerte terjednek. Az utóbbi években több FAdV-B törzset izoláltak mind Ausztriában, mind Magyarországon. Sokáig ez volt a legkevésbé vizsgált FAdV faj egyrészt mert ritkán izolálták, másrészt pedig nem tulajdonítottak neki nagy klinikai jelentőséget. A mostani kimutatások során új, eddig nem detektált, a referenciatörzstől elkülönülő törzseket izoláltak több alkalommal is mindkét országban. Ezen kutatás célja az volt, hogy az Ausztriában és Magyarországon jelenleg keringő FAdV-B törzseket jellemezze. 17 vírustörzs teljes genomszekvenciáját próbáltuk meghatározni, és 14 esetben sikerrel is jártunk. A genomok elemzése azt mutatta ki, hogy a vírustörzsek bár közeli rokonai egymásnak, két jól elkülönülő klád ismerhető fel közöttük, és a többi eddig ismert FAdV-B törzstől elkülönülnek. Az *in vitro* vírusszaporítás és neutralizációs tesztek során, melyekhez mi állítottuk elő a kiválasztott vírustörzsek elleni szérumot, megállapításra került, hogy a vizsgált vírustörzsek a jövőben jó eséllyel vektorizálhatóak lesznek. Jelenleg vizsgálatokat folytatunk, hogy az elkülönülő törzsek egy új, eddig nem ismert és nem jellemzett szerotípust alkotnak-e a FAdV-B fajon belül.

A projekt eredménye tehát 14 FAdV-B törzs teljes genomszekvenciája, mely segít megérteni a tyúk-adenovírusok evolúcióját és kórokozóképességét, valamint hozzájárulhat a jövőben vakcinafejlesztésekhez és járványtani nyomozásokhoz. Eddig mindössze egy teljes FAdV-B genom volt elérhető, így ezt a számot most megsokszoroztuk. És ha a most zajló tesztek igazolják, hogy az elkülönülő törzsek szerológiailag is eltérnek, annak jelentős rendszertani következménye is lesz egy új szerotípus alapításával. Továbbá a megismert szekvencia és funkcionális adatok elemzése hozzájárulhat a vakcinafejlesztések során jelentős neutralizációs epitópok felismeréséhez.

A projekt első eredményeit egy tudományos publikációban foglaltuk össze [1], valamint egy szóbeli konferenciaelőadás formájában is ismertettük [2], de az elnyert támogatás közvetett formában több más tudományos publikáció megszületését is támogatta: három ezekből már megjelent, illetve közlésre elfogadták [3–5], egy bírálóat alatt áll [6], és egy továbbiban pedig a projekt eredményeit tervezzük összefoglalni [7]. A bécsi személyes találkozó során Kaján Győző egy ismeretterjesztő tudományos előadást is tartott a bécsi Állatorvosi Egyetem egyik doktori képzésének hallgatói számára.

A projekt folytatásaként a résztvevők egy újabb pályázat benyújtását tervezik a témában az Osztrák Tudományos Alapnál (FWF) 2020-ban.

A támogatás hozzájárult egy osztrák-magyar együttműködés kibővüléséhez, olyan eredmények megszületéséhez, melyek mind az állattartók, mind az állatorvosok érdeklődésére számot tarthatnak, valamint számos tudományos közlemény publikálásához. Ezért a résztvevők köszönetüket és hálájukat fejezik ki az Osztrák-Magyar Akcióalapítványnak pénzügyi támogatásukért.

Publikációs jegyzék:

1. Kaján GL, Affranio I, Tóthné Bistyák A, Kecskeméti S, Benkő M. An emerging new fowl adenovirus genotype. *Heliyon*. 2019;5: e01732. doi:10.1016/j.heliyon.2019.e01732
2. Kaján GL, Affranio I, Tóthné Bistyák A, Kecskeméti S, Benkő M. Typing of Hungarian fowl adenovirus strains reveals a possible new genotype. 18th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology. Budapest; 2019.
3. Kaján GL, Doszpoly A, Tarján ZL, Vidovszky M, Papp T. Virus–host coevolution with a focus on animal and human DNA viruses. *J Mol Evol*. 2020;88: 41–56. doi:10.1007/s00239-019-09913-4
4. Olasz F, Mészáros I, Marton S, Kaján GL, Tamás V, Locsmáncsi G, et al. A Simple Method for Sample Preparation to Facilitate Efficient Whole-Genome Sequencing of African Swine Fever Virus. *Viruses*. 2019;11. doi:10.3390/v11121129
5. Doszpoly A, Kaján GL, Puentes R, Perretta A. Complete genome sequence and analysis of a novel lymphocystivirus detected in whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*): *Lymphocystis disease virus 4*. *Arch Virol*. 2020; *közlésre elfogadva*
6. Jejesky de Oliveira AP, Valdetero Rangel MC, Vidovszky MZ, Rossi JL, Vicentini F, Harrach B, et al. Identification of two novel adenoviruses in smooth-billed ani and tropical screech owl. *PLoS One*. 2020; *bírálat alatt*
7. Schachner A, Hess M, Kaján GL. Investigation of Austrian and Hungarian *Fowl aviadenovirus B* strains reveals a new fowl adenovirus serotype. 2020; *megírás alatt*

Projektnummer: 101öu6		1 099 750 HUF 2 986 EUR
Antragsteller: Dr. Kaján Gyöző		Institut: Institute for Veterinary Medical Research CAR
Projektpartner: Dr. med.vet. Anna Schachner		Institut: Univ.Klinik für Geflügel und Fische, Dep. für Nutztiere und Öffentliches Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin, Vetmed Uni Wien
Titel: Genomische Charakterisierung von Geflügeladenovirus B (FAdV-B) Stämmen		

Art der Förderung:

- Workshop, Konferenz
- Publikation, Lehrmaterial
- Forschungsprojekt
- Unterrichtsprojekt

Bericht

Geflügeladenoviren (FAdV) sind weit verbreitet in Hühnern, jedoch stehen nur gewisse Serotypen innerhalb der fünf FAdV-Spezies (in alphabetischer Reihenfolge als FAdV-A bis FAdV-E bezeichnet) in Zusammenhang mit bestimmten Erkrankungen (Einschlusskörperchenhepatitis, Hepatitis-Hydroperikard-Syndrom und Muskelmagen-erosionen). Aktuell ist für alle drei dieser wirtschaftlich bedeutsamen Krankheitsbilder ein weltweit zunehmendes Vorkommen zu beobachten. In den vergangenen Jahren wurden sowohl in Österreich als auch in Ungarn vermehrt Stämme der Spezies FAdV-B isoliert, welche als die am wenigsten erforschte aller Geflügeladenovirus-Spezies gilt. Dies begründet sich v.a. aus der bisher geringen Anzahl an verfügbaren (bzw. publizierten) Isolaten und der nicht hinreichend bekannten Zuordenbarkeit dieser Spezies zu spezifischen klinischen Manifestationen. Interessanterweise wurden in beiden Ländern auch neuartige FAdV-B Feldstämme mit divergenten Sequenz-Merkmalen gegenüber dem einzigen Prototyp-Vertreter der Spezies gefunden. Ziel dieses Projekts war daher die Untersuchung von aktuell in Österreich und Ungarn vorkommenden FAdV-B Stämmen.

Ausgehend von 17 verfügbaren Virusisolaten wurde von 14 erfolgreich das gesamte Genom sequenziert. Die darauffolgende Analyse zeigte, trotz der hohen Ähnlichkeit zwischen diesen Genomen, eine Trennung in zwei Kladen, die sich jeweils von bekannten FAdV-B Stämmen unterschieden. In vitro-Virusvermehrung und Neutralisationstests mit Antisera, die spezifisch gegen ausgewählte FAdV-B Stämme generiert wurden, legen den Schluss nahe, dass einige dieser Stämme möglicherweise zur Herstellung von Vektoren besonders geeignet sein könnten. Aufgrund ihrer abweichenden Sequenz-Merkmale wird derzeit mittels Kreuzneutralisationstest die Hypothese geprüft, ob einige der untersuchten Stämme einen noch unbekanntem, bislang nicht beschriebenen Serotyp innerhalb der Spezies FAdV-B darstellen.

Als Ergebnisse dieses Projekts sind insbesondere die vollständigen genomischen Sequenzen von 14 neuen FAdV-B Stämmen zu nennen, die einen wertvollen Beitrag zum Verständnis der Evolution und Pathogenese von Geflügeladenoviren, als auch zur zukünftigen Entwicklung von Impfstoffen und epizootiologischen Untersuchungen, leisten. Da zu Beginn dieser Arbeit nur ein einziges komplett sequenziertes FAdV-B Genom in Datenbanken verfügbar war, konnte unsere Studie den Datensatz für diese Spezies erheblich erweitern. Im Falle dass aktuell laufende Tests eine serologische Unterscheidbarkeit der divergenten FAdV-B Stämme belegen, wäre dies mit weitreichenden taxonomischen Konsequenzen, einschließlich Anerkennung eines neuen Serotyps, verbunden. Ebenso erleichtert dieser Abgleich von funktionellen- mit Sequenzierungsdaten die Identifikation der – bislang noch unbekanntem - neutralisierenden Epitope von Geflügeladenoviren.

Erste Resultate aus diesem Projekt wurden in einer wissenschaftlichen Publikation [1], sowie in einem Vortrag im Rahmen einer Konferenz [2] präsentiert. Zusätzlich konnten mit den gewährten Fördermitteln auch noch weitere Veröffentlichungen, zwei davon bereits publiziert [3,4] und weitere unter Begutachtung [5,6], unterstützt werden. Eine wissenschaftliche Publikation zur Darlegung der finalen Ergebnisse dieses Projekts ist derzeit in Vorbereitung [7].

Außerdem konnte das Projektmeeting in Wien genutzt werden, um Győző Kaján als Gastvortragenden vor Teilnehmern des Pig-and-Poultry Programms der Vetmeduni Wien zu gewinnen.


In Fortsetzung der hier begonnenen Zusammenarbeit planen die beiden Kooperationspartner ein Ansuchen für ein gemeinsames Forschungsprojekt zu Geflügeladenoviren beim Österreichischen Wissenschaftsfonds (FWF) in 2020.

Insgesamt hat das vorliegende Projekt den Boden für eine produktive Zusammenarbeit zwischen den österreichischen und ungarischen Wissenschaftlern bereitet. Es wurde die Erarbeitung, und wissenschaftliche Veröffentlichung, von Resultaten ermöglicht, die für Geflügelhalter und die Veterinärmedizin von Bedeutsamkeit sind. Die Kooperationspartner bedanken sich daher bei der OMAA für die finanzielle Unterstützung und Förderung ihrer Forschungstätigkeit.

Publikationsliste:

1. Kaján GL, Affranio I, Tóthné Bistyák A, Kecskeméti S, Benkő M. An emerging new fowl adenovirus genotype. *Heliyon*. 2019;5: e01732. doi:10.1016/j.heliyon.2019.e01732
2. Kaján GL, Affranio I, Tóthné Bistyák A, Kecskeméti S, Benkő M. Typing of Hungarian fowl adenovirus strains reveals a possible new genotype. 18th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology. Budapest; 2019.
3. Kaján GL, Doszpoly A, Tarján ZL, Vidovszky M, Papp T. Virus–host coevolution with a focus on animal and human DNA viruses. *J Mol Evol*. 2020;88: 41–56. doi:10.1007/s00239-019-09913-4
4. Olasz F, Mészáros I, Marton S, Kaján GL, Tamás V, Locsmáncsi G, et al. A Simple Method for Sample Preparation to Facilitate Efficient Whole-Genome Sequencing of African Swine Fever Virus. *Viruses*. 2019;11. doi:10.3390/v11121129
5. Doszpoly A, Kaján GL, Puentes R, Perretta A. Complete genome sequence and analysis of a novel lymphocystivirus detected in whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*): *Lymphocystis disease virus 4*. *Arch Virol*. 2020; *accepted*.
6. Jejesky de Oliveira AP, Valdetaro Rangel MC, Vidovszky MZ, Rossi JL, Vicentini F, Harrach B, et al. Identification of two novel adenoviruses in smooth-billed ani and tropical screech owl. *PLoS One*. 2020; *under review*.
7. Schachner A, Hess M, Kaján GL. Investigation of Austrian and Hungarian *Fowl aviadenovirus B* strains reveals a new fowl adenovirus serotype. 2020; *under preparation*.

Datum: 31. 01. 2020



Antragsteller (Unterschrift)

Projektpartner (Unterschrift)