

1 Literatur

1.1 Einleitung

Geflügelpocken (*Vogelpocken, Geflügeldiphtherie, Variola avium, Epitheliosis contagiosa cutis et mucosae avium, Epithelioma et diphtheria avium*) stellen eine hoch kontagiöse Erkrankung des Geflügels dar. Die Infektionen sind weltweit verbreitet und treten sowohl beim Wirtschaftsgeflügel als auch bei Zier-, Greif- und Wildvögeln auf. Sie führen beim wirtschaftlich gehaltenen Geflügel vor allem zu verminderter Gewichtszunahme bzw. zum Abfall der Legeleistung. Zusätzlich können Geflügelpocken eine erhöhte Mortalität verursachen, unter anderem durch Verhungern oder Ersticken der Tiere.

1.2 Geschichte der Vogelpocken

1.2.1 Überblick über Untersuchungen des Krankheitserregers

Nach den Angaben von MEURER (1991) wurden Vogelpocken bereits 1775 als *Conjunctivite des poules* beschrieben, wobei noch ein Zusammenhang mit der Diphtherie des Menschen vermutet wurde (HUZARD, 1775). Aufgrund unterschiedlicher Ätiologie bezeichnete BOLLINGER (1873) diese Krankheit 1873 als eigenständige Erkrankung mit dem Namen *Epithelioma contagiosum des Geflügels*. 1877 entdeckte er im Zytoplasma infizierter Zellen die später nach ihm benannten Einschlusskörperchen. Die damaligen Wissenschaftler beschäftigten sich in der folgenden Zeit mit der Identifizierung des Erregers. 1879 vermutete BOLLINGER, dass er permanente Amöben als Erreger identifiziert habe. LÖFFLER hingegen nahm 1884 ursächlich eine Bazillusart an und CASAGRANDI beschrieb 1897, dass er Blastomyzeten als Erreger isoliert habe. Seit 1898 suchten verschiedene Wissenschaftler mittels Filtrationsversuchen nach noch unbekanntem Krankheitserregern. 1902 gelang MARX und STICKER (1902) der Nachweis eines filtrierbaren Agens als Erreger der Pockenerkrankung, wodurch der Erreger zu der Gruppe der filtrierbaren Virusarten zählte und die Abgrenzung zur bakteriellen Diphtherie des Menschen bekräftigt wurde. Wenig später, 1904, wurden Elementarkörperchen

entdeckt, die nach ihrem Erstbeschreiber als BORREL'sche Körperchen bezeichnet wurden (BORREL, 1904). In den Zwanziger Jahren wurden neben der Virusätiologie auch "mikroskopisch kleine Lebewesen, Gregarinen genannt", als Pockenerreger des Geflügels vermutet (ROTH, 1922). Erst 1931 konnte die Virusätiologie durch eine gelungene Virusanzucht endgültig belegt werden (WOODRUFF und GOODPASTURE, 1931).

Durch die Entdeckung von Pockenviren bei verschiedenen Vogelarten stieg das Interesse an deren weiteren Untersuchung und taxonomischen Einteilung. MAYR (1963) differenzierte vier Virusspezies der Vogelpockenviren nach der Vogelart, von der sie isoliert worden waren: Hühnerpockenvirus, Taubenpockenvirus, Kanarienspockenvirus und Putenpockenvirus. 1971 berichteten KRAFT (1971) sowie KRAFT und TEUFEL (1971) über ein weiteres Pockenvirus, das von einem Zwergpapageien stammte und sich keiner bekannten Vogelpockenspezies zuordnen ließ. Die Eigenständigkeit zwei weiterer Pockenisolat, von einem Falken und einem Papagei, wurden um 1979 untersucht (MOUSA, 1979; AKRAE, 1980). Bis zum heutigen Zeitpunkt sind bei etwa 230 Vogelarten natürliche Infektionen mit Vogelpocken beschrieben worden (BOLTE et al., 1999). Dem Genus Avipockenvirus gehören bisher zehn Virusspezies an (MOYER et al., 2000).

1.2.2 Auftreten von Geflügelpocken

Aviäre Pocken stellten aufgrund der wirtschaftlichen Verluste eine der bedeutsamsten Infektionskrankheiten in der Geflügelhaltung dar. Konsequenter prophylaktischer Einsatz von attenuierten Lebendimpfstoffen und Verbesserung der Haltungsbedingungen (Hygiene) halfen durch Senkung des Infektionsdruckes die Infektionskette zu unterbrechen (MAYR, 1992). Das trug dazu bei, dass bis zum Jahr 1999 über 25 Jahre keine Pockeninfektionen mehr beim intensiv gehaltenen Wirtschaftsgeflügel in Deutschland beobachtet wurden (HAFEZ et al. 2001a, 2001b). Diese Tatsache hat mit der Zeit dazu geführt, dass man in Deutschland auf die bislang durchgeführte Schutzimpfung weitgehend verzichtete (MAYR, 1992).

Seit 1999 wurden jedoch wieder Pockeninfektionen in verschiedenen Geflügelhaltungen in Deutschland beobachtet (HAFEZ et al., 2001a, 2001b; KALETA et al., 2001). Die Erkrankungen traten zuerst bei Legehennen in alternativen Haltungssystemen (Freiland-, Bodenhaltung), im Jahr 2000 auch in Käfighaltungen auf.

1.3 Ätiologie der Avipockenvirusinfektionen

1.3.1 Klassifikation der aviären Pockenviren

Die Pockenerkrankungen des Geflügels und anderer Vögel werden durch Vertreter des Genus *Avipoxvirus* (Avipockenviren) hervorgerufen. Sie gehören mit sieben weiteren Genera zur Subfamilie *Chordopoxvirinae* innerhalb der Familie *Poxviridae* (MOYER et al., 2000) (Tab. 1).

Tab. 1 Taxonomie der Pockenviren (nach MOYER et al., 2000)

Familie	<i>Poxviridae</i>	
Subfamilie	<u><i>Chordopoxvirinae</i></u>	<u><i>Entomopoxvirinae</i></u>
Genus	<i>Avipoxvirus</i>	<i>Entomopoxvirus A</i>
	<i>Capripoxvirus</i>	<i>Entomopoxvirus B</i>
	<i>Leporipoxvirus</i>	<i>Entomopoxvirus C</i>
	<i>Molluscipoxvirus</i>	
	<i>Orthopoxvirus</i>	
	<i>Parapoxvirus</i>	
	<i>Suipoxvirus</i>	
	<i>Yatapoxvirus</i>	

Im Genus *Avipoxvirus* sind zehn Virusspezies mit verschieden starker Adaptation an einzelne Vogelarten als Wirtstier zusammengefasst, die untereinander unterschiedliche antigenetische Verwandtschaftsgrade aufweisen (RITCHIE, 1995). Die Bezeichnungen der Spezies beruhen in erster Linie auf dem Namen der Vogelart, von der die Virusspezies isoliert wurde (Tab. 2).

Tab. 2 Speziesbezeichnungen im Genus *Avipoxvirus* und internationale Abkürzungen (nach MOYER et al., 2000)

Pockenviruspezies (englische Bezeichnung)	Internationale Abkürzung
Finkenspockenvirus (Juncopox virus)	JNPV
Hirtenstarpockenvirus (Mynahpox virus)	MYPV
Hühnerpockenvirus (Fowlpox virus)	FWPV
Kanarienspockenvirus (Canarypox virus)	CNPV
Psittazidenpockenvirus (Psittacinopox virus)	PSPV
Putenspockenvirus (Turkeypox virus)	TKPV
Sperlingspockenvirus (Sparrowpox virus)	SRPV
Starenpockenvirus (Starlingpox virus)	SLPV
Taubenspockenvirus (Pigeonpox virus)	PGPV
Wachtelpockenvirus (Quailpox virus)	QUPV

Als möglicherweise zusätzliche Spezies werden das Krähenpockenvirus (Crowpox virus, CRPV), das Pfauenpockenvirus (Peacockpox virus, PKPV) und das Pinguinenpockenvirus (Penguinpox virus, PEPV) beschrieben, die aber bisher nicht eindeutig klassifiziert wurden (MOYER et al., 2000).

1.3.2 Morphologie der aviären Pockenviren

1.3.2.1 Viruspartikel

Pockenviruspartikel besitzen einen komplexen Aufbau. Als Prototyp des Genus *Avipockenvirus* gilt das Hühnerpockenvirus (FWPV). Es hat eine quaderförmige, häufig als Backsteinziegel bezeichnete Form von etwa 330 nm x 280 nm x 200 nm (MOYER et al., 2000) (Abb. 1). Die Virionen besitzen ein Partikelgewicht von $2,04 \times 10^{-14}$ g. Die Hauptbestandteile bilden Proteine, Lipide und Desoxyribonukleinsäure (RANDALL et al., 1964). Die Oberfläche des Avipockenvirions wird durch ungeordnete, filamentöse Proteinstrukturen von etwa 6,9 - 12,9 nm Durchmesser gebildet (CARTER und CHEVILLE, 1981). Der Aufbau des Virions besteht aus einer äußeren Hülle in Form einer Doppelmembran aus Lipoproteinen und einem zentralen bikonkaven Innenkörper (Core

oder Nukleoid). Den Konkavitäten sind zwei Lateralkörper aus Proteinen angelagert. Der Innenkörper beinhaltet das virale Genom, welches mit Proteinen in s-förmiger Anordnung eng assoziiert vorliegt (MODROW und FALKE, 1997).

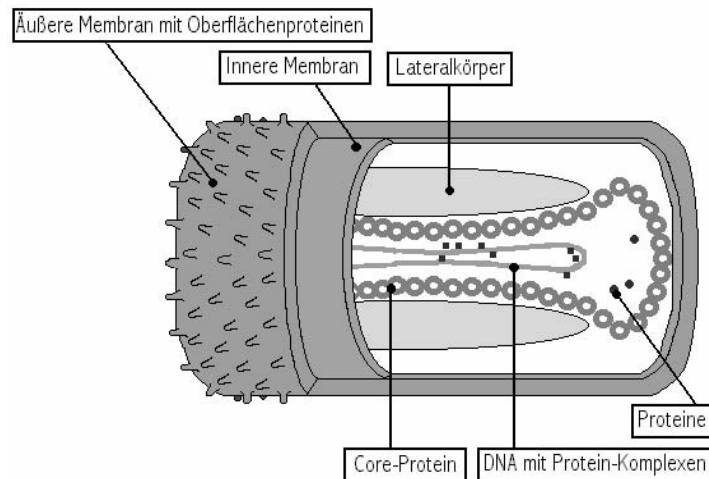


Abb. 1 Pockenvirion im Aufschnitt

Das DNA-Genom liegt in enger Assoziation mit Proteinen vor und wird von einem bikonkaven Innenkörper (Core) mit Lateralkörpern umgeben. Die Umhüllung besteht aus zwei Membranen (nach MODROW und FALKE, 1997).

1.3.2.2 Genom

Das Genom der Avipockenviren besteht aus einer unsegmentierten, linearen, doppelsträngigen Desoxyribonukleinsäure (DNA) mit einem Molekulargewicht von etwa 185×10^6 Dalton und besitzt eine Größe von 254-300 Kilobasenpaaren (kbp) (MURPHY et al., 1995). An ihren äußeren Enden besteht die DNA aus Einzelsträngen, in Form von Haarnadelschleifen, die durch unvollständige Basenpaarungen zwei isomere Formen („flip-flop“) bilden (MOYER et al., 2000). Die sich anschließenden Nukleinsäuresequenzen von etwa 9-10 kbp sind identisch, aber gegensätzlich orientiert. Sie werden als „Inverted

Terminal Repeats“ (ITR) bezeichnet (TOMLEY et al., 1988; AFONSO et al., 2000; LAIDLAW und SKINNER, 2004).

Das Genom des Hühnerpockenvirus (FWPV), als *Avipoxvirus*-Prototyp, dessen gesamte Sequenz durch die vollständige Sequenzierung eines amerikanischen pathogenen Stammes (FPVUS) bekannt ist, besitzt etwa 288 kbp (AFONSO et al., 2000). Untersuchungen von MISHRA und MALLICK (1996) konnten beim Genomvergleich eines FWPV-Impfstoffes mit FWPV-Feldisolaten durch Anwendung der Restriktions-enzymanalyse keine Differenzen feststellen. Dahingegen zeigten LAIDLAW und SKINNER (2004) einen Größenunterschied und geringfügige genomische Differenzen zwischen dem attenuierten FWPV-Stamm FP9 und dem virulenten FWPV-Stamm FPVUS.

Innerhalb der Subfamilie *Chordopoxvirinae* stellten GUBSER et al. (2004) aufgrund der Genomgröße, der hohen Anzahl FWPV-spezifischer Gene, der Genomstruktur und phylogenetischer Analysen von 17 Proteinen die größte Diskrepanz für das Genom von FWPV fest. Das FWPV-Genom besitzt einen Gehalt von etwa 30 - 35 % an Guanin- und Cytosinbasen und codiert bei FPVUS für 260 Leseraster (Open Reading Frames, ORF) (MOSS, 1990; AFONSO et al., 2000). Ein Vergleich des FWPV mit dem Vacciniavirus, dem Prototyp der Orthopockenviren, zeigte, dass zentrale Genabschnitte trotz blockweiser Verlagerung nur geringe Veränderungen aufweisen (DRILLIEN et al., 1987; BINNS et al., 1988; MOCKETT et al., 1992). Die Funktionen von 101 Genen konnten durch Homologiestudien zu anderen viralen oder zellulären Genen bestimmt werden (AFONSO et al., 2000). Sie codieren unter anderem für Proteine für die virale Transkription und Replikation, wie Transkriptionsfaktoren und Enzyme für Nukleinsäuresynthesen, einschließlich der DNA-Polymerase (BINNS et al., 1987) und der Thymidinkinase (BOYLE und COUPAR, 1986). Des Weiteren besitzt das FWPV-Genom etwa 30 Abschnitte, die für Strukturproteine codieren (AFONSO et al., 2000). Dazu gehören die Membran- und Coreproteine der Virionen.

In verschiedenen Untersuchungen in Australien und den USA konnte eine Integration Retikuloendotheliosevirus (REV)-spezifischer Sequenzen ins FWPV-Genom belegt werden. Während FWPV-Feldstämme ein nahezu komplettes, infektiöses REV-Provirus

trugen, waren im Genom von FWPV-Impfstämmen meist nur REV long terminal repeat (LTR)-Sequenzüberreste unterschiedlicher Länge nachweisbar (HERTIG et al., 1997; DIALLO et al., 1998; SINGH et al., 2000, 2003; GARCIA et al., 2003; TADESE und REED, 2003a). Welchen Einfluss die REV-Integration auf die Pathogenese der FWPV-Infektion hat, ist bisher ungeklärt. Eine möglicherweise durch die REV-Integration gesteigerte Pathogenität von FWPV wird jedoch als ein möglicher Faktor für das Auftreten von Geflügelpocken in geimpften Beständen in den USA diskutiert (SINGH et al., 2000). Erste Untersuchungen in Deutschland zeigten, dass in Pockenvirus-Feldisolaten von Hühnern und Puten unterschiedliche Regionen REV proviraler DNA nachweisbar waren, die für die Integration eines nahezu vollständigen REV-Provirus sprachen (LÜSCHOW und HAFEZ, 2003). Bei Untersuchungen weiterer Avipockenviruspezies wie CNPV, PGPV und Pockenviren, die von einem Kondor und einem Strauss isoliert wurden, wurden bisher keine REV-Sequenzen nachgewiesen (KIM und TRIPATHY, 2001; SHIVAPRASAD et al., 2002; KIM et al., 2003), jedoch konnten in PGPV-Impfstämmen REV LTR-Sequenzüberreste nachgewiesen werden (MOORE et al., 2000; SINGH et al., 2003).

Das Genom des Kanarienvogelpockenvirus (CNPV), dessen Sequenz ebenfalls bekannt ist, ist mit 365 kbp und 328 Genen größer als FWPV (TULMAN et al., 2003). Es konnten einige genomische Unterschiede festgestellt werden, die jedoch vorrangig im terminalen Bereich lokalisiert waren.

1.3.3 Replikation der aviären Pockenviren

Die prinzipiellen Replikationsmechanismen der Pockenviren sind durch intensive Forschungsarbeiten am Vacciniavirus (Prototyp des Genus Orthopoxvirus) bekannt. Weitgehend dürften sie auf die Avipockenviren übertragbar sein (BOULANGER et al., 2000). Bei der Infektion einer Zelle kommt es zur Anhaftung an einen zelleigenen Rezeptor (Adsorption) (VANDERPLASSCHEN und SMITH, 1997). Anschließend erfolgt die Penetration, deren Vorgang noch nicht endgültig bekannt ist. Diskutiert werden die Endozytose (ARHELGER et al., 1962; ARHELGER und RANDALL, 1964; DALES und KAJIOKA, 1964) und die direkte Fusion zwischen Virushülle und Zellmembran (DOMS et al., 1990). Noch im intakten Core beginnt die Bildung der sogenannten frühen Boten-

Ribonukleinsäuren. Durch sie werden die notwendigen Enzyme transkribiert für die weitere Freisetzung der Nukleinsäuren und die Replikation der viralen DNA (MOSS, 1990). Im Gegensatz zu anderen DNA-Viren findet bei Pockenviren die DNA-Replikation im Zytoplasma statt (MOSS, 1990). Kurz nach Replikationsanfang setzt sich der kaskadenartig regulierte Ablauf durch die Expression der Intermediate-Gene fort. Diese Gene codieren unter anderem für Regulatorproteine zur Einleitung der Transkription der späten Gene. Die späten Gene codieren überwiegend für virale Strukturproteine und Enzyme. In der postreplikativen Phase, nach Expression der frühen, intermediaten und späten Gene, lagern sich die viralen Strukturbestandteile aneinander zu fertigen Virionen (Assembly). Hierbei entstehen umschriebene, elektronendichte, basophile Bereiche durch Anreicherung viraler DNA und Proteine, die als „virus factories“ (Einschlusskörperchen Typ B) bezeichnet werden (MOYER et al., 2000). Ultrastrukturelle Untersuchungen infizierter Zellen haben gezeigt, dass die ersten „virus factories“ 12 Stunden nach der Infektion in der Zelle nachweisbar sind (TRIPATHY und REED, 2003). Über die komplexe Morphogenese der FWPV-Virionen ist im Gegensatz zum Vacciniavirus wenig bekannt (BOULANGER et al., 2000). Zunächst bilden sich sichelförmige Strukturen um die „virus factories“. Die Membranen werden beim Vacciniavirus aus dem Cis-Golgi-Netz zwischen dem Endoplasmatischen Retikulum und dem Golgi-Apparat gebildet, sodass die Umhüllung gleichzeitig von zwei Membranen erfolgt, weil diese an ihren Enden verbunden sind (Membranzisterne) (SODEIK et al., 1993). Durch die Membranen entstehen unreife Virionen (Immature Virus, IV), die aus Nukleoproteinen und sogenanntem Viroplasma bestehen. Aus dieser Vorstufe entsteht durch Verbindung mit Strukturproteinen und viruscodierten Enzymen das funktionsfähige, reife und infektiöse Virus im Zytoplasma (Intracellular Mature Virus, IMV) (BOULANGER et al., 2000). Die ersten infektiösen Virionen erscheinen bereits etwa 24 Stunden nach der Infektion (CHEEVERS et al., 1968). 36 bis 72 Stunden nach der Infektion steigt die Syntheserate an viraler DNA exponentiell an und nach 96 Stunden ist das Synthesemaximum erreicht (GAFFORD et al., 1969; CHANG und JASTY, 1970). Einige IMV werden erst bei Lysis der Zelle freigesetzt, andere IMV erhalten durch eine weitere Umhüllung noch eine Doppelmembran, die vom Trans-Golgi-Netz gebildet wird (SCHMELZ et al., 1994). Das doppelt umhüllte Virus wird als Intracellular Enveloped Virus (IEV) bezeichnet. Das IEV gelangt in die Peripherie der Zelle und durch Verschmelzung der äußeren Virushülle mit

der Zellmembran erfolgt die Ausschleusung („Budding“) aus der Zelle (ARHELGER und RANDALL, 1964; BOULANGER et al., 2000). Diese Form wird als Extracellular Enveloped Virus (EEV) bezeichnet. Die extrazellulären Viruspartikel zeigen antigenetische Unterschiede zu den intrazellulären (CALVERT et al., 1992; BOULANGER et al., 2000; BOULANGER et al., 2002).

1.4 Natürliche Avipockenvirusinfektionen

1.4.1 Epizootiologie und Übertragung

Bislang wurden bei etwa 230 Vogelarten aus 23 Ordnungen natürliche Infektionen mit Vogelpocken beschrieben, darunter alle domestizierten Arten sowie mehr als 60 Wildvogelarten (LOUPAL et al., 1985; TRIPATHY und REED, 1998; BOLTE et al., 1999). Tiere aller Altersklassen sind empfänglich, jedoch wurde die Erkrankung bei Jungtieren unter sechs Wochen seltener beobachtet (GRZIMEK, 1957). Die Infektion findet vorrangig in kühler Jahreszeit, im Herbst und Winter, statt (GRATZL und KÖHLER, 1968). Neben dieser saisonalen kann auch eine säkulare Rhythmik ("Kommen und Gehen") vorkommen (MAYR, 1992), sodass zwischen gehäuft auftretenden Fällen lange Zeit nur ein sporadisches Auftreten der Pocken beobachtet wird (GRZIMEK, 1957). Die Infektion tritt häufig regional enzootisch, bei Wildpopulationen eher sporadisch auf (MAYR, 1992). Vogelpocken werden bei Sporttauben vorwiegend in der Reisesaison und bei Rassetauben in der Zuchtsaison beobachtet (VOGEL, 1969). Avipockenviren besitzen keine antigenetischen Beziehungen zu den Säugetierpocken, jedoch wurde in drei Einzelfällen die Übertragbarkeit auf Säugetiere vermutet: bei einem Rhinoceros (MAYR und MAHNEL, 1970), einem Pferd und einem Feldhasen (MAYR, 1992) wurden Viren isoliert, die den Avipocken zugeordnet wurden.

Ein großes Risiko der Erregereinschleppung in einen Bestand ist der Zukauf von Geflügel ohne Einhaltung einer Quarantäne. Die Virusübertragung kann durch direkten Kontakt mit infizierten Tieren über deren Augen-, Nasen- und Pustelsekrete, eingetrocknete Pockenkrusten sowie Schleimhautläsionen erfolgen (GRATZL und KÖHLER, 1968). Eine Virusübertragung ist auch indirekt möglich, wobei zum einen unbelebte Vektoren wie

kontaminierte Gegenstände, Futtermittel, Tröge, Tränken, Staub oder Aerosole eine wichtige Rolle spielen. Darüber hinaus sind auch menschliche Manipulationen als Übertragungsweg zu beachten, wie die künstliche Besamung von Puten (METZ et al., 1985) oder das unbeabsichtigte Verletzen der Rachenschleimhaut bei Fütterung von Handaufzuchten im Ziervogelbereich (KALETA, 2003). Zum anderen ist eine Infektion auch über belebte Vektoren möglich, wie zum Beispiel über Wildvögel (MAYR, 1992). Des Weiteren können als belebte Vektoren auch Arthropoden wie Fliegen, Moskitos, Federlinge und Milben fungieren (KLIGLER und ASHNER, 1929; DORN, 1971; SHIRINOV et al., 1972), wobei sie rein mechanische Überträger darstellen. Durch die Untersuchungen von DAMASSA (1966) konnte keine Virusvermehrung in Arthropoden nachgewiesen werden.

Avipockenviren besitzen eine hohe Tenazität, sind aber labil gegen Fettlösungsmittel wie Ether, Chloroform und andere übliche Desinfektionsmittel (MAYR, 1992). In abgeschilferten Hautschuppen und Federstaub sind Pockenviren mehrere Monate infektiös (TRIPATHY und REED, 2003).

1.4.2 Verlauf

Nach der Infektion zeigen sich in Abhängigkeit von Virusspezies und -virulenz, Tierart sowie Immunstatus des Wirtes, Infektionsweg und Umweltfaktoren ein lokaler Erkrankungsverlauf oder eine Generalisation (MINBAY und KREIER, 1973; RITCHIE, 1995). Beim lokalen Verlauf treten nur geringe örtliche Veränderungen auf und die Krankheit heilt ab. Die Generalisation hingegen hat einen zyklischen Krankheitsverlauf: der primären Virusvermehrung an der Eintrittspforte folgt eine schwache Virämie, bei der die Avipockenviren zu den primär affinen Organen (Leber, Knochenmark und andere lymphatische Organe) gelangen. Dort erfolgt eine weitere Virusvermehrung, die zu einer sekundären Virämie führt, durch die die Viren zu den Zielorganen Haut und Schleimhaut gelangen. Die Inkubationszeit kann vier bis über 14 Tage betragen (TRIPATHY und REED, 2003).

1.4.3 Immunantwort

Über die spezifische Immunantwort bei Avipockenvirusinfektionen ist wenig bekannt. Die zelluläre Immunabwehr bildet sich zuerst aus und steht im Vergleich zur humoralen Immunabwehr im Vordergrund, wie Untersuchungen an thymektomierten und burssektomierten Hühnerküken zeigten (MORITA, 1973c; MISHRA und MALLICK, 1996). Der Aufbau der zellulären Immunität beginnt ab dem fünften Tag nach der Infektion (DHARSANA und SPRADBROW, 1985). Die humorale Antwort tritt, jedoch nur gelegentlich bei natürlicher Infektion, etwa zwei Wochen p. i. auf (TRIPATHY und HANSON, 1975; MISHRA und MALLICK, 1996). Die Grundlage bilden virusneutralisierende Antikörper, deren Bedeutung in der Verhinderung der Virämie liegt, die sonst zur Generalisierung führt. Später können sich zusätzlich komplementbindende und präzipitierende Antikörper ausbilden, die jedoch niedrigere Titer aufweisen (BAXENDALE, 1981). Untersuchungen zeigten, dass die spezifische Immunantwort in der frühen Phase der Infektion zusätzlich durch den antikörperunabhängigen Weg des Komplementbindungssystems unterstützt wird (OHTA et al., 1983; OHTA et al., 1986). Nach Überstehen der natürlichen Infektion besteht in Abhängigkeit von der Abwehrlage des Wirtes etwa ein Jahr Immunität (MAYR, 1992).

1.5 Klinische Bilder der Avipockenvirusinfektionen

1.5.1 Klinische Bilder der Avipockenvirusinfektionen beim Wirtschaftsgeflügel

Im klinischen Bild sind die Zielorgane (Haut und/oder Schleimhaut) verändert. In Abhängigkeit von den betroffenen Organen unterscheidet man beim Wirtschaftsgeflügel folgende drei klinische Erscheinungsbilder: eine Hautform, eine Schleimhautform sowie eine aus beiden Formen entstehende Mischform.

1.5.1.1 Hautform (kutane Form)

Die Hautform ist neben einem gestörten Allgemeinbefinden (Mattigkeit, gesträubtes Gefieder, verminderte Futtermittelaufnahme) durch charakteristische krustöse Hautveränderungen geprägt. Es sind vor allem die unbefiederten Stellen des Kopfes betroffen, wie Kamm, Ohr- und Kehllappen, Schnabelbasis, Augenlider, Nasenöffnungen sowie die Umgebung des äußeren Gehörgangs (GRATZL und KÖHLER, 1968). Des Weiteren können diese Läsionen an der Kloakenöffnung und an den Ständern entstehen. In schweren Fällen können sie auch an befiederten Hautpartien beobachtet werden. Es entstehen zuerst kleine rötliche Flecken durch eine lokale Entzündung, die sich durch Hyperplasie der Epidermis zu Knötchen mit rauher Oberfläche entwickeln (Papulöses Stadium). Es bilden sich Bläschen, perlmutähnliche Papeln, und die Oberfläche zerklüftet (Vesiculäres Stadium). Die als Pocken bezeichneten zuerst gelblichen Veränderungen werden größer und durch Schorfbildung braun-schwarz und borkig (Abheilungsstadium) (GRATZL und KÖHLER, 1968). Blutige Pusteln stellen ein erhöhtes Risiko für Sekundärinfektionen dar. Bei günstigem Krankheitsverlauf fallen die borkigen Pockenkrusten nach ein 3 bis 4 Wochen spontan und ohne Narbenbildung ab (MAYR, 1992). Die Hautform ist das vorherrschende Bild des seltener von Vogelpocken betroffenen Wassergeflügels (GRZIMEK, 1957; RAO, 1965; KIRMSE, 1967).

Abb. 2 Zeitliche Entwicklung und Charakterisierung der Effloreszenzen bei der Hautform der Pocken sowie histopathologische Veränderungen (nach GRATZL und KÖHLER, 1968; TRIPATHY und REED, 2003)

Stadium	Papulöses Stadium (Proliferation)	Vesiculäres Stadium (Exsudation)	Abheilungsstadium
<i>Zeitpunkt nach Infektion</i>	4.-5.Tag	Bis 15. Tag	Bis max. 4 Wochen
Charakterisierung der Effloreszenzen			
<i>Größe</i>	Bis hirsekorngroß	Bis erbsengroß	
<i>Farbe</i>	Rötlich	Gelbgrau, z. T. auch rötlich und schwarz	Braunschwarz
<i>Oberflächen-Struktur</i>	Rauh	Rissig, Bläschen	Borkig
Histopathologische Veränderungen der Hautschichten			
<i>Epidermis</i>	Hyperplasie, Proliferation, Degeneration	Hyperplasie, Nekrosen, Entzündungszellen	Abstoßen der Pockeneffloreszenz
<i>Stratum corneum</i>	Unverändert	Einwucherndes Epithel	Zellinfiltrate, Proliferation
<i>Corium</i>	Unverändert	Unverändert	Kollagene Fasern, Zellinfiltrate, Proliferation

1.5.1.2 Schleimhautform (diphtheroide Form)

Bei der Schleimhautform zeigen sich proliferative Veränderungen und pseudomembranöse Beläge auf den Schleimhäuten des oberen Verdauungs- bzw. des oberen Atmungstraktes (GRATZL und KÖHLER, 1968). Besonders Schnabelhöhle, Zunge, Gaumen, Rachenhöhle und Kehlkopf sind betroffen. Die Schleimhaut ist zuerst stark gerötet und innerhalb von zwei bis drei Tagen bilden sich gelblich-weiße Flecken, die sich flächig ausbreiten. Sie konfluieren und können umfangreiche käsige Auflagerungen

bilden. Diese diphtheroiden Beläge sind nur mit Substanzverlust ablösbar. Aufgrund der Lage der Veränderungen ist die Futteraufnahme stark beeinträchtigt. Die Folgen der Erkrankung sind verminderte Wachstums- und Legeleistung. Darüber hinaus drohen neben Verhungern der Tiere Atemnot und Ersticken durch die Schleimhautbeläge. Bakterielle Sekundärinfektionen stellen ein weiteres Risiko dar (GRATZL und KÖHLER, 1968).

1.5.1.3 Mischform

Das beim Vorliegen beider Formen als Mischform bezeichnete Krankheitsbild ist beim Wirtschaftsgeflügel häufig und führt oft zum Tod der Tiere.

1.5.2 Klinische Bilder der Avipockenvirusinfektionen bei Zier-, Wild- und Greifvögeln

Bei Zier-, Wild- und Greifvögeln sowie in Brieftaubenbeständen sind Pocken eine sporadische, in unregelmäßigen Abständen auftretende Erkrankung (KRAFT und TEUFEL, 1971; KITZING, 1978; SCHRÖDER, 1981; MORISHITA et al., 1988). Bei ihnen treten die für das Wirtschaftsgeflügel beschriebenen sowie noch weitere klinische Formen der Vogelpocken auf.

Bei der Taube wird häufig die Hautform, vor allem im Augenbereich, beobachtet (VOGEL, 1969). Eine spezielle Manifestation der Hautform stellen bei Tauben die "Blutgeschwüre" dar (LÜTHGEN, 1994). Sie ist gekennzeichnet durch meist symmetrisch auf beiden Körperhälften auftretende rundliche, etwa kirschgroße Gebilde. Durch Melanin-einlagerungen erhalten die Veränderungen eine dunkle Farbe. Für Tauben und Finkenvögel wird zusätzlich eine tumoröse Form beschrieben, bei der nach überstandener Pockeninfektion Hauttumoren auftreten (GERLACH, 1994).

Bei Kanarienvögeln zeigt die Hautform häufig einen milden Verlauf, wohingegen die Schleimhautform (Rachenform) nach etwa fünf Tagen zum Tod führt. Für Kanarienvögel werden drei zusätzliche Formen beschrieben: die septikämisch-toxische (perakute) Form,

bei der nur Allgemeinsymptome (Somnolenz, gestäubtes Gefieder) zu beobachten sind und der Vogel nach kurzer Septikämie von maximal drei Tagen verendet, die letale Lungenform, bei der die Tiere wenige Tage bis zum Tod "Schnappatmung" zeigen sowie die asymptomatische Form, die aufgrund des unerkannten Bildes eine latente Infektionsquelle darstellt (STEINMETZ, 1984).

Für Papageien werden vor allem die Haut- und Schleimhautformen beschrieben (KALETA, 2003).

Bei Wildvögeln tritt häufiger die Hautform auf (AKRAE, 1980). Die Veränderungen sind oft an den Schnabelwinkeln lokalisiert. Eine weitere Manifestation der Vogelpocken stellt die bei Falken im Persischen Golf beobachtete ZNS-Symptomatik dar (GERLACH, 1994).

1.5.3 Mortalität

Die Mortalität kann beim Wirtschaftsgeflügel, bei Tauben und bei Papageien bis zu 50 %, bei Kanarien- und anderen Finkenvögeln bis zu 100 % betragen (LÜTHGEN, 1994; TRIPATHY und REED, 2003).

1.6 Diagnose der Avipockenvirusinfektionen

1.6.1 Klinisches Bild

Das klinische Bild ist vor allem bei der Hautform recht charakteristisch. Eine sichere Diagnose ist nur anhand eines direkten Erregernachweises bzw. einer Erregerisolierung möglich.

1.6.2 Pathologisch-anatomische Untersuchung

Die makroskopisch beim lebenden Tier schon feststellbaren Haut- und Schleimhautveränderungen sind auch bei der pathologisch-anatomischen Untersuchung festzustellen. Daneben können fast alle Organe Pockenexantheme aufweisen.

1.6.3 Labordiagnose

1.6.3.1 Histopathologische Untersuchung

In der histopathologischen Untersuchung zeigen sich die Veränderungen in Form von Epithelhyperplasie und ballonierender Epitheldegeneration. Es sind mononukleäre Zellinfiltrate im umgebenden Gewebe feststellbar. Darüber hinaus können in den Epithelzellen azidophile intrazytoplasmatische Einschlusskörperchen (Typ A, BOLLINGER'sche Einschlusskörperchen) nachgewiesen werden. Da die Einschlusskörperchen im Gegensatz zu anderen Pockenviren mit Fettfarbstoffen anfärbbar sind, lassen sich die Vogelpocken auf diese Weise von den Säugetierpocken abgrenzen (MAYR, 1992). Bei der mikroskopischen Untersuchung der nur beim Kanarienvogel beschriebenen Lungenform ist eine kleinherdige Pneumonie festzustellen (AKRAE, 1980).

1.6.3.2 Elektronenmikroskopische Untersuchung (EM)

In der elektronenmikroskopischen Untersuchung (EM) von verändertem Gewebe oder von Pustel- oder Hautmaterial können Pockenviruspartikel dargestellt werden (TRIPATHY und REED, 2003).

1.6.3.3 Nachweis von Virus-Antigen und Virus-DNA

Als weiterführende Verfahren zum Nachweis von Virus-Antigen bzw. Virus-DNA sind der Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), der Agargelpräzipitationstest (AGP), der Immunfluoreszenztest (IF), der Immunoperoxidasetest, die Restriktionsenzymanalyse (REA), die Hybridisierung sowie die Polymerasekettenreaktion (PCR) anwendbar.

Mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern können Virusantigene im Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) detektiert werden. So entwickelten SINGH und TRIPATHY (2000) einen FWPV-ELISA zur Charakterisierung von FWPV-Isolaten. BURCK (1999) etablierte unter Verwendung monoklonaler Antikörper einen ELISA zum Nachweis unterschiedlicher Avipockenviruspezies (FWPV, PGPV und CNPV). Mittels spezifischer Antiseren lässt sich im Agargelpräzipitationstest (AGP) Virusantigen durch Bildung von

Präzipitationsbanden nachweisen (TRIPATHY und REED, 2003). Durch den Immunfluoreszenztest (IF) kann in infizierten Zellen intrazytoplasmatische Fluoreszenz detektiert werden (TRIPATHY und REED, 1998). Auf ähnliche Weise wird bei Anwendung des Immunoperoxidasetestes ebenfalls mittels spezifischer Antiseren intrazytoplasmatisches Virusantigen lichtmikroskopisch nachgewiesen (TRIPATHY et al., 1973). Die Restriktionsenzymanalyse (REA) von Gesamt-DNA isolierter Erreger ist eine Nachweismethode, die vor allem zum Genom-Vergleich anwendbar ist (SCHNITZLEIN et al., 1988; TADESE und REED, 2003b) (s. Abschnitt 1.7). Bei der Hybridisierung werden FWPV-Genomfragmente zur Herstellung einer Nukleinsäuresonde eingesetzt. Die aus Untersuchungsmaterial extrahierte FWPV-DNA hybridisiert mit markierten FWPV-Genomsonden (FATUNUMBI et al., 1995). 1985 ist die Methodik der Polymerasekettenreaktion (PCR) von MULLIS (1990) entwickelt worden und stellt heutzutage eines der sensitivsten Verfahren dar, das zur Routinediagnostik geeignet ist (PAULI et al., 1991). Die PCR-Methodik findet auch in der Veterinärmedizin immer mehr Anwendung (BALLAGI-PORDÁNY, 1995), darunter auch in der Diagnostik der Geflügelkrankheiten. So sind bereits für zahlreiche aviäre Viren PCR-Verfahren entwickelt und etabliert worden (CAVANAGH, 2001). Diese molekularbiologische Methode wird auch für andere Pockenviren angewendet, zum Beispiel für den Nachweis von Parapockenviren (INOSHIMA et al., 2000) bzw. zu dessen Abgrenzung zum Capripockenvirus beim Schaf (MANGANA-VOUGIOUKA et al., 1999; MARKOULATOS et al., 2000). Auf Basis der veröffentlichten Genomsequenz des Hühnerpockenvirus (FWPV) wurden PCR-Verfahren zum Nachweis von FWPV entwickelt. So entwickelten LEE und LEE (1997) eine spezifische FWPV-PCR zur Amplifizierung eines Genfragmentes, welches für das Core Protein 4b des FWPV (BINNS et al., 1989) codiert. Des Weiteren diente diese PCR als Grundlage zur Entwicklung einer nested-PCR, die bei Masthühnern zum Nachweis von FWPV-DNA in Neoplasien unbekannter Ätiologie eingesetzt wurde (FALLAVENA et al., 2002). Mittels einer auf einem größeren Sequenzbereich dieses FWPV-Gens basierenden PCR konnten TADESE und REED (2003b) neben FWPV und TKPV auch PGPV und QUPV nachweisen. Eine weitere PCR (KIM und TRIPATHY, 2001) basiert auf einem FWPV-Genbereich für das Hüllantigen, das homolog zum Vacciniavirus p37K Major Envelope Antigen (CALVERT et al., 1992) ist. Um übergreifend mittels einer PCR mehrere Spezies von Avipockenviren nachzuweisen, wählte BURCK (1999) den Genombereich eines 39 kDa

Proteins (BOULANGER et al., 1998). Diese PCR detektierte neben einem FWPV-Stamm, ein TKPV sowie ein Pockenvirus, das von einem Bussard isoliert wurde.

1.6.3.4 Antikörper-Nachweis

Als indirekte Verfahren zum Nachweis von Antikörpern sind der Virusneutralisationstest, der Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), der Passive Hämagglutinationstest, der Agargelpräzipitationstest (AGP) sowie der Agargelenzymtest (AGEA) anwendbar (TRIPATHY und REED, 1998; TADESE et al., 2003). Der Nachweis von Antikörpern ist bei einer Pockenvirusinfektion jedoch unsicher, weil die zelluläre Immunantwort im Vordergrund steht (1.4.3). Bei Avipockenvirusinfektionen wird darüber hinaus noch häufiger als bei den Säugetierpocken beobachtet, dass die Tiere nur wenige bis keine zirkulierenden Antikörper aufweisen (MAYR, 1992).

Im Virusneutralisationstest können um die zweite Woche nach der Infektion vorhandene virusneutralisierende Antikörper detektiert werden. Sie führen zur Reduktion von Pockenherden auf der Chorioallantoismembran bei Virusanzucht im Hühnerei oder von zytopathischen Effekten in bei Virusanzucht in Zellkulturen (MORITA, 1973b). Zum gleichen Zeitraum (um die zweite Woche p.i.) können Antikörper im ELISA nachgewiesen werden. BUSCAGLIA et al. (1984) entwickelten mit einem FWPV-ELISA unter Verwendung eines in Zellkultur angezüchteten Hühnerpocken-Vaccinevirus ein im Vergleich zum Virusneutralisationstest sensitiveres Antikörper-Nachweisverfahren mit vereinfachter Durchführung. Ein anderer ELISA basiert auf dem FWPV-Stamm HP-439 und wurde zur Bestimmung des Verlaufs der Antikörpertiter angewendet (MOCKETT et al., 1987). ISA et al. (2002) entwickelten einen Blocking-ELISA auf Grundlage des Stammes HP-1. Durch den Passiven Hämagglutinationstest können Antikörper ab der dritten Woche p.i. nachgewiesen werden (TRIPATHY et al., 1970; TRIPATHY und REED, 1998). Mittels AGP und AGEA lassen sich präzipitierende Antikörper durch spezifische Antigene nachweisen (WITTMANN, 1958; TADESE et al., 2003). Die Antikörper sind jedoch nur eine kurze Zeit detektierbar (MOCKETT et al., 1987; TRIPATHY und REED, 1998; TRIPATHY und REED, 2003). Einen weiteren Nachteil stellt die limitierte Anwendung durch Kreuzreaktionen dar, wie sie zwischen FWPV, TKPV, PGPV und CNPV

beobachtet wurden (HORZINEK, 1993). Vorteile des AGEA sind die schnellere Durchführbarkeit und die erhöhte Sensitivität (TADESE et al., 2003).

1.6.3.5 Virusisolierung

Die Virusisolierung erfolgt im embryonierten spezifisch pathogen-freien (SPF) Hühnerei oder in der Zellkultur zur anschließenden Erregeridentifizierung.

Die Chorioallantoismembran (CAM) im 9 bis 12 Tage alten SPF-Hühnerei wird beimpft. Nach Bebrütung bei 37 °C verursachen Pockenviren proliferative Herde mit zentraler Nekrose, die 5 bis 7 Tage p. i. feststellbar sind (MORITA, 1973a). Zur Anzucht in der Zellkultur sind Hühnerembryofibroblasten (HEF), Hühnerembryonierzellen, Hühnerembryohautzellen, Entenembryozellen sowie die Permanentzelllinie QT-35 (von der Wachtel stammende Zellen) geeignet (TRIPATHY und REED, 1998). Die beimpften Kulturen werden vier bis sechs Tage bei 37 °C inkubiert, bevor sie auf zytopathische Effekte (CPE) wie Zellabrundung, Einschlusskörperchen, Zellintegritätsverlust und Zelltod bis zu sich bildenden Nekroseherden untersucht werden.

1.7 Differenzierung der Avipockenviruspezies

Während die bisher erläuterte Diagnostik nur die Diagnose "Vogelpocken" erlaubt, stehen zur weiteren Differenzierung der Avipockenviren verschiedene Verfahren zur Verfügung (Tab. 3). Der Einsatz dieser Verfahren wird jedoch durch unterschiedliche Verwandtschaftsgrade der Avipockenviren begrenzt. So bestehen enge antigene Kreuzbeziehungen zwischen FWPV und TKPV und weniger enge hingegen zu PGPV (BAXENDALE, 1971). Darüber hinaus wurde ein größeres Potential zur artübergreifenden Übertragung von Pockeninfektionen beobachtet, wenn die Vogelarten näher verwandt sind, wie zum Beispiel die Pockenübertragung vom Haussperling auf den Kanarienvogel und umgekehrt (MCGAUGHEY und BURNET, 1945; HARTWIGK und LANGE, 1964).

Tab. 3 Unterscheidbarkeit einiger Avipockenviruspezies durch verschiedene Differenzierungsmethoden und deren Einschränkung anhand ausgewählter Referenzen

Methode der Differenzierung	Referenz	Unterscheidung folgender Avipockenviruspezies	Einschränkung
Wirtsspezifität im Tierversuch	MAYR, 1960	FWPV, CNPV, PGPV	Abhängig von Applikationsart
	MAYR, 1963 MAYR et al., 1972	FWPV, TKPV, CNPV, PGPV, QUPV, Pockenvirus eines Agaporniden	
Elektronenmikroskopie	MAYR, 1963	FWPV, CNPV, PGPV	Allein nicht aussagekräftig
	GRUND et al., 1973	PGPV, Pockenvirus eines Agaporniden	Strukturell nicht unterscheidbar
Vergleich der Pockeneffloreszenzen bei Anzucht auf der CAM	MAYR und KALCHER, 1960	FWPV, TKPV, CNPV, PGPV, QUPV, Pockenvirus eines Agaporniden	Vergleich der Pockenvirusstämme in ersten Eipassagen, virusstammabhängige Unterschiede innerhalb einer Pockenviruspezies
Vergleich der CPE bei Anzucht in der Zellkultur / Plaque-Technik	MAYR und KALCHER, 1961; MAYR, 1963	FWPV, CNPV, PGPV	Zellzerstörung schon 3-4 Tage nach Beimpfung (GELENCZEI und LASHER, 1968), keine Adaptation an Hühnerzellkulturen beim Pockenvirusisolat von Amazonen (JAKOBY et al., 1990)
Chemisch-physikalische Analysen	MAYR, 1963	FWPV, CNPV, PGPV	Allein nicht aussagekräftig
Kreuzneutralisationstest	MAYR et al., 1972	FWPV, CNPV, PGPV, QUPV, Pockenvirus eines Agaporniden	Keine Unterscheidung zwischen FWPV und TKPV

Fortsetzung Tab. 3

Methode der Differenzierung	Referenz	Unterscheidung folgender Avipockenviruspezies	Einschränkung
Kreuzimmunitätstest	MAYR et al., 1972	FWPV, CNPV, PGPV, QUPV, Pockenvirus eines Agaporniden	Keine Unterscheidung FWPV und TKPV
	BOOSINGER et al., 1981	FWPV, CNPV, PGPV, PSPV	
	WINTERFIELD und REED, 1985; WINTERFIELD et al., 1985	FWPV, TKPV, PGPV, QUPV, PSPV	
	REED und FATUNMBI, 1993	FWPV, PGPV, QUPV, MYPV	
Immunoblotting	GHILDYAL et al., 1989	FWPV, PGPV, JNPV, QUPV	Antigenetische Kreuzreaktionen
	SHIVAPRASAD et al., 2002		Keine Unterscheidung zwischen FWPV und Isolat von einem Strauß
	KIM et al., 2003	FWPV, Pockenvirus eines Kondors	
Differenzierungs-ELISA	BURCK, 1999	FWPV, CNPV, PGPV, QUPV	Keine eindeutige Differenzierung
Restriktionszymanalyse des gesamten Genoms (Makrorestriktionsanalyse)	SCHNITZLEIN et al., 1988	FWPV, PGPV, (JNPV)	Nur geringe Unterschiede
	GHILDYAL et al., 1989	FWPV, QUPV	Keine Unterscheidung zwischen FWPV und JNPV
	TRIPATHY et al., 2000	FWPV, Isolate von Vögeln auf Hawaii	
	TRIPATHY und REED, 2003	FWPV, CNPV, QUPV, MYPV	

1.7.1 Differenzierung anhand unterschiedlicher Wirtsspezifität im Tierversuch

Die verschiedenen Virusspezies zeigen eine starke Adaptation an einzelne Vogelarten. MAYR (1960, 1963) sowie MAYR et al. (1972) analysierten das Wirtsspektrum von FWPV, TKPV, CNPV, PGPV, QUPV und einem Isolat von einem Agaporniden im Tierversuch anhand verschiedener Vogelarten und anhand von Kaninchen in Abhängigkeit von der Applikationsart. Durch diese Methode konnten sie diese Virusspezies differenzieren.

1.7.2 Differenzierung anhand Strukturanalyse in der Elektronenmikroskopie

In der elektronenmikroskopischen Negativ-Färbetechnik sind strukturelle Unterschiede bei den einzelnen Virusspezies beschrieben, die eine Zuordnung von FWPV, CNPV und PGPV unterstützen (MAYR, 1963). Im strukturellen Aufbau der Virionen konnten GRUND et al. (1973) jedoch keine Unterschiede zwischen PGPV und einem Isolat von einem Agaporniden erkennen.

1.7.3 Differenzierung durch Vergleich der Pockeneffloreszenzen bei Anzucht auf der Chorioallantoismembran (CAM)

MAYR und KALCHER (1960) haben feine speziestypische Unterschiede der Veränderungen für FWPV, TKPV, CNPV, PGPV, QUPV und für ein Isolat von einem Agaporniden in der Eikultur beschrieben. Eine sichere Differenzierung gelang ihnen aber nur, wenn die Pockenvirusstämme in den ersten Eipassagen miteinander verglichen wurden. Nach mehreren Passagen adaptiert sich das Virus an die Eikultur und es werden nicht mehr die charakteristischen Läsionen der CAM verursacht.

1.7.4 Differenzierung anhand zytopathischer Veränderungen nach Anzucht in der Zellkultur

MAYR und KALCHER (1961) untersuchten das Wachstum auf unterschiedlichen Zellkulturen sowie die entstehenden zytopathischen Effekte (CPE), die sich in Abkuglung

und Zelldegeneration bzw. Zytolyse zeigen. Es wurden speziesspezifische Unterschiede für FWPV, CNPV und PGPV festgestellt, die eine Differenzierung unterstützen können. Bei der Plaque-Technik erfolgt die Differenzierung anhand unterschiedlicher Formen und Aussehen der Plaques, die Vogelpockenviren auf Hühnerembryofibroblasten unter einem festen Agar-Überschichtungsmedium bilden (MAYR und KALCHER, 1961; MAYR, 1963). Es lassen sich jedoch nicht alle Isolate erfolgreich anzüchten, wie die Untersuchung von JAKOBY et al. (1990) an einem Isolat von einer Amazone zeigten. Nachteilig ist darüber hinaus eine frühzeitige Zellzerstörung bereits 3 bis 4 Tage nach der Beimpfung (GELENCZEI und LASHER, 1968).

1.7.5 Differenzierung anhand chemisch-physikalischer Analysen, Thermoresistenzprüfung und biochemischer Eigenschaften

MAYR (1963) stellte speziestypische Unterschiede von FWPV, CNPV und PGPV im Hinblick auf die Lagerfähigkeit sowie Abweichungen der Thermoresistenzen fest. Ein anderes unterstützendes Differenzierungsmerkmal stellen die verschiedenen biochemischen Eigenschaften dar, wie die optimale Bebrütungstemperatur von Hühnerei oder Zellkulturen.

1.7.6 Differenzierung mittels immunologischer Verfahren

Hierbei wird der Kreuzneutralisationstest im bebrüteten Hühnerei oder in der Zellkultur sowie der Kreuzimmunitätstest am Versuchstier (MAYR et al., 1972; BOOSINGER et al., 1981; WINTERFIELD und REED, 1985; WINTERFIELD et al., 1985; REED und FATUNMBI, 1993) angewendet. Die neutralisierenden Antikörper werden durch ein virales Hüllantigen induziert, welches speziesspezifisch und daher zur Differenzierung geeignet ist. Des Weiteren zählen hierzu das Verfahren des Immunoblottings zum Nachweis geringer antigenetischer Unterschiede (GHILDYAL et al., 1989; SHIVAPRASAD, 2002; KIM et al., 2003) sowie der Differenzierungs-ELISA mittels monoklonaler Antikörper (BURCK, 1999).

1.7.7 Differenzierung durch Restriktionsenzymanalyse

Eine Differenzierung eng verwandter Erreger ist durch Spaltung der gesamten viralen Nukleinsäure mittels Restriktionsenzymanalyse (REA) möglich, als sogenannte Makrorestriktionsanalyse (RÖMLING et al., 1995). Auf diese Weise können Orthopoxviren und FWPV, als Prototyp der Avipockenviren, eindeutig voneinander abgegrenzt (MÜLLER et al., 1977) sowie Avipockenviruspezies untereinander unterschieden werden (SCHNITZLEIN et al., 1988; GHILDYAL et al., 1989; TRIPATHY et al., 2000; TRIPATHY und REED, 2003). Ferner wurde die REA verwendet, um das Genom verschiedener FWPV-Isolate zu untersuchen (BINNS et al., 1988; BOYLE et al., 1997).

1.8 Differentialdiagnose

Differentialdiagnostisch müssen bei der Hautform Papillomaviren, Trichophyton, Knemidokoptesbefall, bakterielle Hauterkrankungen, Mangel an Vitamin A oder Biotin sowie Verletzungen infolge von mechanischen Insulten oder Kannibalismus beachtet werden. Als Differentialdiagnose der Schleimhautform müssen andere infektiöse Atemwegserkrankungen wie Coryza, Infektiöse Laryngotracheitis (ILT), Infektiöse Bronchitis, Rachentrichomoniasis, Candidose, Aspergillose und Psittakose/Ornithose abgegrenzt werden. Des Weiteren sind Reizungen, zum Beispiel durch starke Schadgasbelastung, als Ursache auszuschließen (GRATZL und KÖHLER, 1968; MAYR, 1992).

1.9 Bekämpfungsmaßnahmen und Kontrolle

1.9.1 Management und Hygiene

Da eine spezifische Behandlung gegen Geflügelpocken fehlt, stehen gerade für das Wirtschaftsgeflügel neben prophylaktischer Vakzinierung Verbesserung der Haltungsbedingungen, insbesondere der Hygiene, sowie weitgehende Ausschaltung immunschwächender Umwelteinflüsse im Vordergrund (GRATZL und KÖHLER, 1968).

1.9.2 Therapie

Eine spezifische Behandlung pockenkranker Tiere ist nicht möglich. Erkrankte Einzeltiere, vor allem in Volierenhaltung, sind zum Schutz des restlichen Bestandes zu isolieren. Sie sollten eine optimale Ernährung im Hinblick auf Protein- und Vitamin A-Gehalt erhalten sowie in ruhiger und warmer Umgebung untergebracht werden. Die prophylaktische Gabe von Antibiotikum und Antimykotikum gegen Sekundärinfektionen ist empfehlenswert (KALETA, 2003). Bei der Hautform kann das lokale Aufbringen einer Jodtinktur versucht werden. Im Einzelfall können bei frühzeitiger Diagnosestellung und leichtem Befall die Hautpocken mit einer heißen Nadel verglüht werden (LIERZ, 2000). Bei der Schleimhautform ist die Behandlung freiliegender Schleimhautstellen mit Jodglyzerin beschrieben (KALETA, 2003). Bei Wirtschaftsgeflügel steht das Ausmerzen erkrankter und krankheitsverdächtiger Tiere im Vordergrund. Die Ställe sind zu reinigen und zu desinfizieren. Eine Notimpfung der gesunden Tiere ist abhängig von der Anzahl der Tiere und der Betriebsstruktur. Zur Notimpfung liegen unterschiedliche Erfahrungen vor (HAFEZ, 2002).

1.9.3 Gesetzliche Bestimmungen

Nach dem Tierseuchengesetz handelt es sich bei Vogelpocken um eine meldepflichtige Tierkrankheit, die nach der Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten der zuständigen Behörde zu melden ist.

1.9.4 Prophylaxe

Da der Zukauf neuer Tiere eine potentielle Erregereinschleppung in einen Bestand darstellt, ist eine Quarantäne im Vorfeld einzuhalten. Des Weiteren sind die Stallbedingungen zu optimieren sowie Stress weitgehend zu vermeiden. Darüber hinaus besteht die Möglichkeit der prophylaktischen Vakzinierung mit attenuierten Lebendimpfstoffen. Aufgrund unterschiedlicher antigenetischer Verwandtschaftsgrade zwischen den Avipockenviruspezies bietet die prophylaktische Impfung prinzipiell mit homologen Vakzinen den besten Schutz. Bei den antigenetisch eng verwandten FWPV

und TKPV konnte jedoch gezeigt werden, dass zum Beispiel mit heterologem TKPV geimpfte Hühner eine ausreichende Immunität ausbilden (MAYR, 1992). Ebenso konnte ein Ausbreiten einer Pockeninfektion bei Straußen durch Impfung mit Hnerpockenimpfstoff verhindert werden (PERELMAN et al., 1988). Zur Zeit stehen in Deutschland vier zugelassene Impfstoffe zur Verfügung: ein Impfstoff für Hner, zwei Impfstoffe für Tauben sowie ein Impfstoff für Kanarienvögel (Tab. 4). Für Papageien ist kein Psittazidenpockenvirus bekannt, das als Impfstoff eingesetzt werden kann.

Tab. 4 In Deutschland zur Verfügung stehende Vogelpockenimpfstoffe

Vogelart	Impfstoff	Empfohlener Impfzeitpunkt	Applikation
Huhn	Attenuierter Lebendimpfstoff Hnerpockenvirus	Huhn: 7.-14.Lebenswoche, Legehennen: 3-4 Wochen vor Legebeginn	Wing Web Methode
Tauben	Attenuierter Lebendimpfstoff Taubenpockenvirus	Jährlich, im Frühsommer Jungtauben: 6. Lebenswoche Alttauben: 2 Wochen vor Reisebeginn bzw. 6 Wochen vor Ausstellungen (Rassetauben) oder Anpaarung (Zuchttauben)	Follikel- methode oder intra- muskulär
	Attenuierter Lebendimpfstoff Taubenpockenvirus		Subkutan
Kanarienvogel	Attenuierter Lebendimpfstoff Kanarienvogelpockenvirus	Ab 3. Lebensmonat	Wing Web Methode

Die Applikation der Vakzine erfolgt hauptsächlich über zwei Arten: die Follikelmethode oder die Wing Web Methode. Für die Follikelmethode werden etwa zehn Federn am Vogelbein ausgezupft. Damit der Impfstoff nicht wieder herausgespült wird, ist darauf zu achten, dass die Federfollikel nicht bluten. Der Impfstoff wird mit einem harten Pinsel eingerieben. Bei der Wing Web Methode wird mittels einer Doppelnadel (Abb. 3), die vor jedem Impfstich frisch in den Impfstoff eingetaucht wird, die Flgelspannhaut durchstoßen. Diese Methode wird für die Legehennenimpfung angewendet.

Abb. 3 Doppelnadel für die Wing Web Methode



Die Vakzinierung empfänglicher Tiere gegen Avipockenviren sollte möglichst im Frühjahr oder Sommer durchgeführt werden, damit die Immunisierung bis zur kühleren Jahreszeit (Herbst, Winter) erfolgt ist, wenn die Erkrankung häufiger auftritt (TRIPATHY und REED, 2003). 7 bis 12 Tage nach der Impfung ist eine Impfkontrolle durchzuführen. Tiere, die erfolgreich vakziniert wurden, sind an einer "Impfpocke" zu erkennen. Nicht erfolgreich geimpfte Tiere sind nachzuimpfen (GRATZL und KÖHLER, 1968). Die Immunität ist etwa nach drei bis vier Wochen entwickelt und hält ein Jahr (MAYR, 1992).

Bei Applikation des Impfstoffes über das Trinkwasser wird eine Immunität innerhalb weniger Tage bei vereinfachter Anwendung erreicht. Nachteil der Methode ist jedoch die unsichere Aufnahme des Impfstoffes in ausreichender Menge und Qualität (MAYR und DANNER, 1974; NAGY et al., 1990). Untersuchungen von SARMA und SHARMA (1988) zeigten, dass selbst nach wiederholter Vakzinierung über das Trinkwasser bei nur 40-60% der geimpften Tiere ein ausreichender Schutz erzielt werden konnte. Ebenso stellten ARIYOSHI et al. (2003) nach einmaliger Vakzinierung über das Trinkwasser bei nur knapp 10 % der im Alter von 42 Tagen geimpften Küken einen ausreichenden Impfschutz fest. Dahingegen konnte durch orale Revakzinierung im Alter von 56 Tagen eine belastbare Immunität erzielt werden.

1.10 Geflügelpockenviren als Vakzinenvektor

Pockenviren eignen sich aufgrund hoher Aufnahmekapazität virusfremder DNA durch die Genomgröße besonders gut, um als Vakzinenvektor eingesetzt zu werden (SMITH und MOSS, 1983; COUPAR et al., 1990). Wegen der potentiell hohen Zahl an Insertionsstellen ist es auch möglich, mehrere unterschiedliche Gene zu integrieren, um eine gleichzeitige Immunantwort gegen verschiedene Proteine zu erzielen (PERKUS et al., 1985). Avipockenviren bieten darüber hinaus den Vorteil als Vektor, dass sich das Wirtsspektrum auf Vögel beschränkt (TRIPATHY, 2002). Für wichtige Erkrankungen des Geflügels, wie Influenza (BEARD et al., 1991; SWAYNE et al., 1997; QIAO et al., 2003), Newcastle Krankheit (EDBAUER et al., 1990; TAYLOR et al., 1990), Marek'sche Krankheit (YANAGIDA et al., 1992; NAZERIAN et al., 1996) oder Infektiöse Bronchitis (CAVANAGH et al., 1999; WANG et al., 2002), wurden bereits unter Verwendung von Pockenviren rekombinante Impfstoffe entwickelt. Die Bedeutung von FWPV wächst aber auch als Vektor zum Einsatz bei Säugetieren (TAYLOR et al., 1988; SPEHNER et al., 1990; TAYLOR et al., 1991). STANNARD et al. (1998) stellten eine abortive Vermehrung in Säugetierzellen bei Pockenisolaten fest, die von Pinguinen stammten. Sie halten daher Pinguinpockenvirus als Impfstoffvektor besonders geeignet, weil ein Kontakt von auf diese Weise geimpften Säugetieren zu den natürlichen Wirtstieren, den Pinguinen, aufgrund deren begrenzten Vorkommens, nicht gegeben ist. Avipockenviren stellen mittlerweile auch einen geeigneten Vektor für die Impfstoffherstellung bzw. zur Genexpression in der Humanmedizin dar (CADOZ et al., 1992; VON MEHREN et al., 2000).