

6 Zusammenfassung

Als Ziel der vorliegenden Arbeit wurde eine Polymerasekettenreaktion (PCR) als molekularbiologisches System zum routinemäßigen Nachweis und zur Differenzierung aviärer Pockenviren etabliert. Durch Untersuchungen von Hühnerpockenimpfstoff (HP-B) und Probenmaterial, in dem mittels konventioneller Diagnostikverfahren Geflügel-pockenvirus nachgewiesen worden war, wurde dieses Nachweisverfahren hinsichtlich seiner Spezifität überprüft. Es zeigte sich, dass hühnerpockenvirus-spezifische DNA nach gelelektrophoretischer Auftrennung der PCR-Produkte eindeutig durch eine Bande von 578 bp nachgewiesen werden konnte. Die Untersuchungen anderer aviärer Viren führten hingegen zu negativen Ergebnissen. Die Bestimmung der Sensitivität erfolgte mittels Auftrennung der PCR-Produkte durch Gelelektrophorese. Hühnerpockenvirus-spezifische DNA konnte ab einer Menge von 150 Genomäquivalenten nachgewiesen werden. Im Vergleich wurde die Sensitivität auch mittels Dot Blot-Verfahren überprüft. Hier zeigte sich eine Nachweisgrenze ab 75 Genomäquivalenten. Die Sensitivität des etablierten Verfahrens mit Gelelektrophorese der PCR-Produkte erscheint jedoch ausreichend, und durch die einfache sowie schnellere Anwendung vorteilhaft für die Routinediagnostik zu sein. Anhand der etablierten PCR und des im Rahmen der Geflügelpockendiagnostik von 2001 bis 2003 eingesandten Probenmaterials wurden Pockenvirusinfektionen in Geflügelbeständen unter epidemiologischen Gesichtspunkten untersucht. Es konnte am Anfang des Untersuchungszeitpunktes ein deutlicher Anstieg an Geflügel-pockeninfektionen beobachtet werden, der im Zusammenspiel mit weiteren Faktoren, insbesondere in der Einstellung der prophylaktischen Pockenimpfung in den letzten 20 Jahren, begründet sein könnte. Seit dem Jahr 2002 zeigte sich bei erneuter Intensivierung der Impfung eine wieder abnehmende Tendenz an Infektionen. Des Weiteren wurde die PCR in Kombination mit der Restriktionsenzymanalyse (REA) als ein molekularbiologisches System zur Differenzierung verschiedener Avipockenviruspezies verwandt. Unter Verwendung eines Primerpaares konnte mittels PCR avipockenvirus-spezifische DNA in 53 Avipockenvirusstämmen und -isolaten von zwölf Vogelarten aus acht Ordnungen nachgewiesen werden. Mittels REA unter Verwendung der Enzyme *EcoRV* und *NlaIII* konnten die acht Ordnungen der verschiedenen Vogelarten weitgehend sechs spezifischen Spaltbildern zugeordnet werden. Die Stämme und Isolate von Hühnern sowie Puten (Ordnung *Phasianiformes*), Tauben und Strauß (Ordnungen *Columbiformes*

und *Struthioniformes*), Falken (Ordnung *Falconiformes*) und Agaporniden (Ordnung *Psittaciformes*) führten jeweils zu einem spezifischen Spaltbild. Schwierigkeiten zeigten sich nur bei Isolaten von Vogelarten der Ordnung *Passeriformes*. Während die Isolate einer Rabenkrähe, eines Hakengimpels und von drei Kanarienvögeln sowie zwei Sperlingen zu einem „Sperlingsvögel“-spezifischen Spaltbild führten, zeigten sich zwei Abweichungen: bei Untersuchung der Kanarienspockenvirus-Stämme KP-1-V557 und KP-1 sowie eines Kanarienvogelisolates ergab sich durch eine zusätzliche *EcoRV*-Spaltstelle ein weiteres Spaltbild, und die Untersuchung von zwei Sperlingsisolaten führten zu dem Spaltbild, welches spezifisch für die Stämme und Isolate der Ordnung *Phasianiformes* war. Die Infektion von Sperlingen durch Geflügelpockenvirus (FWPV) wird in der Arbeit diskutiert. Darüber hinaus führten die Isolate des Triels (Ordnung *Charadriiformes*) und des Habichts (Ordnung *Accipitriformes*) ebenfalls zu dem „Sperlingsvögel“-spezifischen Spaltbild. Zehn Pockenvirusisolate und zwei -stämme wurden darüber hinaus sequenziert und phylogenetisch analysiert. Die Ergebnisse der REA wurden durch die phylogenetische Analyse bestätigt.