

Empfehlung

der DGfZ-Projektgruppe ‚TSE-Resistenzucht bei Schafen‘

zur Ermittlung des Prionprotein-Genotyps von Schafen

1. Verfahrensgrundsätze

Mit der Feststellung des Prionprotein-(PrP)-Genotyps bei Schafen im Rahmen des nationalen Programms können Dritte wie anerkannte Schafzuchtorganisationen beauftragt werden, die dies auf der Grundlage dieser Leitlinie durchführen. Die Beauftragung, Anleitung und Kontrolle erfolgt durch die zuständigen Landesbehörden.

2. Probengewinnung

Die Gewinnung von Proben zur Feststellung des TSE-Resistenzstatus über den PrP-Genotyp hat so zu erfolgen, dass jederzeit eine korrekte Zuordnung der Probe und des Untersuchungsergebnisses zum beprobten Schaf möglich ist. Die beauftragte Stelle erstellt ein Probenahmeprotokoll (siehe Anlage) und veranlasst die Durchführung der Probenahme. Tiere, die nicht eindeutig zu identifizieren sind, sind von der Probenentnahme und der weiteren Zuchtbenutzung auszuschließen.

Für die Probengewinnung sind zwei Methoden zugelassen:

2.1. Gewinnung von Gewebeproben mittels spezieller Ohrmarkensysteme

Die Gewinnung von Gewebeproben mittels Ohrmarken ist nur durch Personen vorzunehmen, die im Rahmen des Programms dazu vorbereitet worden und gegenüber der zuständigen Behörde benannt worden sind. In diesem Rahmen ist es möglich, dass Betriebsleiter Proben im eigenen Bestand nehmen. Es werden Gewebeohrmarkensysteme verwendet, die auf der zu setzenden Ohrmarke und dem Proberöhrchen die gleichen eindeutigen Kennzeichen haben. Ein Entfernen der gesetzten Ohrmarke ist unzulässig. Die Verwendung einer EU-weit eindeutigen Lebensnummer des zu beprobenden Schafes ist anzustreben.

Die Gewebeprobenentnahme ist im vorgefertigtem Probenahmeprotokoll unter Angabe:

- der Adresse des Bestandes und der amtlichen Registriernummer,
- der Herdbuchnummer sowie aller weiteren Kennzeichnungselemente (Ohrmarken, Tätowierungen), der Rasse, des Geburtsjahrganges oder des Geburtsdatums und des Geschlechts des beprobten Tieres mit Zuordnung zur eingezogenen Gewebeohrmarke,
- des Namens und der Unterschrift des Probennehmers und des Besitzers sowie
- des Datums und des Ortes der Probenentnahme

zu dokumentieren.

Die gewonnenen Gewebeproben sind in einem gesonderten Behältnis mit Beilage des Probenahmeprotokolls zu lagern.

2.2. Gewinnung von Blutproben

Die Blutprobenentnahme ist nur durch Tierärzte vorzunehmen, die im Rahmen des Programms dazu vorbereitet worden und gegenüber der zuständigen Behörde benannt worden sind. Die Blutprobenentnahme ist mit einem EDTA-Blutprobenentnahmesystem vorzunehmen. Auf dem EDTA-Röhrchen ist, sofern die Röhrchen bis zur Untersuchung in

einem vorbereiteten, gekennzeichneten Behälter verbleiben, mindestens eine laufende Nummer zu vermerken.

Die Blutprobenentnahme ist im vorgefertigten Probenahmeprotokoll unter Angabe:

- der Adresse des Bestandes und der amtlichen Registriernummer,
- der Herdbuchnummer sowie aller weiteren Kennzeichnungselemente (Ohrmarken, Tätowierungen), der Rasse, des Geburtsjahrganges oder des Geburtsdatums und des Geschlechts des beprobten Tieres mit Zuordnung zur gewonnenen Blutprobe,
- des Namens und der Unterschrift des Tierarztes und des Besitzers sowie
- des Datums und des Ortes der Probenentnahme

zu dokumentieren.

Die gewonnenen Blutproben sind in einem gesonderten, gekennzeichneten Behälter mit Beilage des Probenahmeprotokolls zu lagern. Im Probenahmeprotokoll ist einzutragen, an welchem Datum und an welches Labor die Proben versandt wurden.

3. Bestimmung des PrP-Genotyps

Die Bestimmung des PrP-Genotyps darf nur in Laboren erfolgen, die im Rahmen des Programms durch die zuständige Landesbehörde zugelassen sind. Die Labors erhalten mit den Proben eine Kopie des Probenahmeprotokolls und vermerken auf diesen Eingangs- und Untersuchungsdatum.

Die Bestimmung des PrP-Genotyps wird anhand der Genotypisierung der Codons 136, 154 und 171 des Prionprotein-Gens durchgeführt. Das PrP-Allel wird anhand der Aminosäuren definiert, für die die Codons 136, 154 und 171 des Prionprotein-Gens kodieren. Jedes Allel wird mit einem Kode aus drei Buchstaben gemäß Tabelle 1 notiert.

Tab. 1: Benennung der PrP-Allele an den Positionen 136, 154 und 171 des Prionproteins

Allel	An Position 136 kodierte Aminosäure	An Position 154 kodierte Aminosäure	An Position 171 kodierte Aminosäure
ARR	Alanin	Arginin	Arginin
AHQ	Alanin	Histidin	Glutamin
ARH	Alanin	Arginin	Histidin
ARQ	Alanin	Arginin	Glutamin
VRQ	Valin	Arginin	Glutamin

Der TSE-Resistenzgenotyp wird definiert als Kombination zweier Allele. Bei der Benennung weiterer PrP-Allele ist nach dem gleichen Schema zu verfahren.

Zusätzlich ist durch das Labor die Genotypklasse für jedes Einzeltier gemäß Tabelle 2 anzugeben.

Tab. 2: Einteilung der TSE-Resistenzgenotypen in Genotypklassen

Genotypenkasse	TSE-Resistenzgenotyp
G 1	ARR/ARR
G 2	ARR/AHQ; ARR/ARH; ARR/ARQ
G 3	AHQ/AHQ; AHQ/ARH; AHQ/ARQ; ARH/ARH; ARH/ARQ; ARQ/ARQ
G 4	ARR/VRQ
G 5	VRQ/VRQ; VRQ/ARQ; VRQ/ARH; VRQ/AHQ

Die Labore schicken die Ergebnisse (TSE-Resistenzgenotyp und Genotypenklasse) an den Tierhalter sowie an die jeweils beauftragte Stelle. Dabei erhält die beauftragte Stelle die Untersuchungsbefunde als EDV-Datei, aus deren Inhalt auch eine eindeutige Verknüpfung zum Probenahmeprotokoll möglich sein muss. Abweichend hiervon kann die beauftragte Stelle sich anstelle des Labors verpflichten, die Ergebnisse an den Tierhalter weiterzuleiten.

4. Anerkennung von Laboren

Die Bestimmung des PrP-Genotyps darf nur in Laboren erfolgen, die im Rahmen des Programms durch die zuständige Landesbehörde zugelassen sind. Voraussetzung für die Zulassung ist die erfolgreiche Teilnahme des Labors an den ISAG-Ringtests zur Bestimmung des PrP-Genotyps sowie die Akkreditierung des Labors für die Genotypisierung von Schafen auf Scrapie durch die DAP (Deutsche Akkreditierungssystem GmbH) oder eine vergleichbare Organisation. Das Labor hat zu versichern, dass es die Untersuchungen selbst durchführt und sich nicht im Unterauftrag Dritter bedient.

Die zuständige Landesbehörde veranlasst eine fortlaufende Kontrolle der Labors und der Probenehmer durch „Blindversand“ von zeitgleich gezogenen Doppelproben oder zeitlich versetzter Wiederholung der Probeziehung bei bereits beprobten Tieren nach einem Stichprobenplan. Der Stichprobenplan muss je Labor und Jahr mindestens jeweils eine Doppelprobe oder eine wiederholte Probe je 100 regulär untersuchte Proben vorsehen und bei fehlerhaften Ergebnissen zunächst eine höhere Überprüfungsfrequenz bewirken. Die zuständige Behörde entscheidet nach vorgegebenen Kriterien über Auflagen sowie Rücknahme der Zulassung.

5. Dokumentation

Die beauftragte Stelle hat Zugriff auf eine elektronische Datenbank, die die folgenden Mindestinformationen enthält:

- Bestände mit Adressen und Registriernummern der Betriebe, die am Zuchtprogramm teilnehmen,
- Identität, Rasse und Anzahl der Tiere sämtlicher an dem Züchtungsprogramm teilnehmenden Bestände,
- Identität der einzelnen Tiere einschließlich Kennzeichnung, Geburtsdatum, Kennzeichnung von Vater- und Mutter, Rasse und Herde, von denen im Rahmen des Züchtungsprogramms Proben genommen werden,
- Ergebnisse aller durchgeführten Genotypisierungen mit Angabe des beauftragten Labors und Untersuchungsdatum (es ist die Möglichkeit der Eintragung und Speicherung von mindestens drei Proben je Tier vorzusehen),
- Verwendung bzw. Verbleib aller genotypisierten Tiere,
- Standort der Herde (Betriebssitz).

Falls zur Kennzeichnung keine EU-weit eindeutige Lebensnummer verwendet wird, ist die Zuchtbuchnummer in Verbindung mit einem Code für die nummernvergebende Zuchtorganisation zu verwenden.

Zum Aufbau der Datenbank sind die Bestände der Zuchtbücher anerkannter Schafzuchtorganisationen zu verwenden. Im Verlauf des Programms sind die Bestände der Datenbank und der Zuchtbücher fortlaufend abzugleichen.

6. Plausibilitätsprüfung

Die beauftragte Stelle prüft die Ergebnisse aufgrund von Verwandteninformationen auf Plausibilität. Bei zweifelhaften Ergebnissen ist eine Nachuntersuchung der zweifelhaften

Tiere anzuordnen. Der angezweifelte Genotyp wird, mit einem Vermerk versehen und ebenfalls in der Datenbank gespeichert.

7. Anerkennung vorhandener Ergebnisse

Genotypisierungsergebnisse, die vor In-Kraft-Treten dieser Leitlinie ermittelt wurden, werden anerkannt, wenn sie unter Voraussetzungen gewonnen wurden, die den Prinzipien dieser Leitlinie entsprechen. Insbesondere müssen die vorhandenen Ergebnisse folgende Voraussetzungen erfüllen:

- die Analysenergebnisse sind schriftlich dokumentiert und können eindeutig einem Tier zugeordnet werden,
- der beauftragten Stelle liegen entsprechende Protokolle vor.

8. Meldepflichten

Die teilnehmenden Betriebe melden alle am Zuchtprogramm teilnehmenden Schafe an die beauftragte Stelle. Weiterhin sind der beauftragten Stelle alle abgängigen Tiere, die im Rahmen des Zuchtprogramms genotypisiert wurden, innerhalb eines Jahres unter Angabe

- der Tiernummern
- des Geschlechts
- der Rasse
- des Abgangsgrundes (Zucht/Schlachtung/Verendung)

zu melden.

Der Verbleib männlicher VRQ-Träger ist der beauftragten Stelle unverzüglich, spätestens 6 Monate nach Feststellung des Genotyps, zu melden.

9. Weitere Bestimmungen

In den teilnehmenden Betrieben müssen alle männlichen Tiere, die für eine Zuchtbenutzung im eigenen Betrieb vorgesehen sind, zwingend genotypisiert werden.

Männliche Tiere, die das VRQ-Allel tragen, sind sofort sicher von der Zucht auszuschließen und spätestens innerhalb von 6 Monaten nach Feststellung des Genotyps zu schlachten oder zu kastrieren. Weibliche Tiere, die das VRQ-Allel tragen, dürfen den Bestand nur zur Schlachtung verlassen. Die Zuchtbenutzung und der Verbleib aller anderen Schafe richten sich nach den Bestimmungen des rassespezifischen Zuchtprogramms der jeweiligen Zuchtorganisation.

Protokoll über Erhebung und Versendung von Proben zur Bestimmung des PrP-Genotyps

Betrieb: Registriernr.: Zuchtorganisation:

PLZ: Ort: Straße:

Blutprobe: Gewebeprobe: Kennz. Behälter:

Lfd. Nr.	Probennummer	HB-Nummer	Jahrgang / Geb.-Dat.	Weitere Kennzeichen		Rasse	Geschlecht	
				Rechtes Ohr	Linkes Ohr		männl.	weibl.
01								
02								
03								
04								
05								
06								
07								
08								
09								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								
21								
22								
23								
24								
25								
26								
27								
28								
29								
30								

* Zusätzlich Code der Zuchtorganisation angeben, wenn eine Tier mit einer HB-Nummer einer anderen Zuchtorganisation gekennzeichnet ist.

Datum Probennahme: Ort:

Name Probennehmer: Besitzer:

Unterschrift: Unterschrift:

Zur Untersuchung versendet an Labor: am:

Unterschrift: