

EEN EERSTE BEPALING VAN DE PRNP-GENOTYPENFREQUENTIES BIJ DE VOORNAAMSTE SCHAPENRASSEN IN BELGIË

PRNP genotype frequency sampling of the most important sheep breeds in Belgium

L.J. Peelman, M. Van Poucke

Vakgroep Dierenvoeding, Dierlijke Genetica, Vee-uitbating en Ethologie
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent
Heidestraat 19, B-9820 Merelbeke
Luc.Peelman@rug.ac.be

SAMENVATTING

Scrapie bij schapen is het prototype van de overdraagbare spongiforme encefalopathieën (OSE's), waarvan de meest geduchte ongetwijfeld BSE bij runderen is. In tegenstelling met BSE bij het rund, waarvoor nog geen genetische associatie met verhoogde resistentie werd gevonden, werden bij het schaap wel dieren aangetroffen met een erfelijke aanleg voor resistentie tegen scrapie en BSE na experimentele infectie. Selectie van de meest scrapieresistente (ARR/ARR) schapen is momenteel dan ook één van de belangrijkste, zonet het belangrijkste fokdoel van de schapenfokkersverenigingen geworden. De haalbaarheid van het scrapieresistent maken van een ras en de termijn waarbinnen dit kan gebeuren zijn grotendeels afhankelijk van de initiële frequentie van het ARR-allel bij het beschouwde ras. In deze studie werd gepeild naar de genotypen- en allelenverdeling van het PRNP-gen bij de voornaamste schapenrassen in België. Uit de genotypering van 854 dieren bleek dat 17,80 % van de geteste dieren het ARR/ARR-genotype bezit en dat slechts vijf dieren (0,59 %) met het meest scrapiegevoelige genotype, VRQ/VRQ, werden aangetroffen. De frequentie van het ARR-allel is 41,51 %.

SUMMARY

Scrapie in sheep is the prototype of the transmissible spongiform encephalopathies (TSEs), of which BSE in cattle is the best known. Contrary to BSE in cattle, for which no genetic association with resistance has been found, sheep with a hereditary resistance to scrapie and BSE after experimental infection are known. Consequently, the selection of scrapie-resistant (ARR/ARR) sheep is currently one of the most important, if not the most important objective of the sheep breeding associations. The feasibility of obtaining a scrapie-resistant breed and the period in which it can be realised, mainly depend on the initial frequency of the ARR-allele of that specific breed. In this study, the PRNP-genotype and allele frequencies were sampled for the most important sheep breeds in Belgium. The genotyping of 854 animals revealed that 17.80 % of the tested animals are of the ARR/ARR-genotype and only 5 animals (0.59 %) were of the most scrapie-sensitive genotype VRQ/VRQ. The frequency of the ARR-allele is 41.51 %.

INLEIDING

De aandacht voor scrapie is het laatste jaar sterk toegenomen tengevolge van recente uitbraken van BSE (bovine spongiforme encefalopathie) en tengevolge van de indicatie dat BSE mogelijk voorkomt bij schapen met, in tegenstelling tot scrapie, voor de volksgezondheid mogelijk zware gevolgen. Zowel BSE als scrapie worden hoogst waarschijnlijk veroorzaakt door besmetting met een infectieus eiwit, het zo-

genaamde prion. Prionen zijn grotendeels, en waarschijnlijk zelfs volledig, samengesteld uit PrP^{Sc}-moleculen. De met scrapie geassocieerde PrP^{Sc}-vorm (Sc = Scrapie conformatie) wordt gevormd uit het normaal aanwezige PrP^C (C = cellulair). De vorm- of conformatieverandering van PrP^C naar PrP^{Sc} wordt waarschijnlijk geïnduceerd en bevorderd door het reeds aanwezige PrP^{Sc} dat een soort van katalytische reactie in beweging zet (Prusiner, 1989).

Het prioneiwit PrP^C wordt aangemaakt door één enkel gen, *PRNP*, gelokaliseerd op chromosoom 13 van het schaap (Castiglioni *et al.*, 1998). Alhoewel er reeds verschillende varianten van *PRNP* van het rund zijn beschreven, kon geen enkele hiervan geassocieerd worden met een hogere of lagere gevoeligheid voor BSE. Bij het schaap daarentegen kon een dergelijk verband wel gevonden worden met scrapie. Van de in totaal meer dan twintig beschreven *PRNP*-genvarianten (= allelen) blijken enkel deze die een variatie veroorzaken ter hoogte van de aminozuren 136, 154 en 171 van het aangemaakte PrP^C van belang te zijn voor de scrapiegevoeligheid. De variatie op plaats 136 betreft de aanwezigheid van een codon voor alanine (A/Ala) of een codon voor valine (V/Val). Op positie 154 treft men arginine (R/Arg) of histidine (H/His) aan en ter hoogte van codon 171 is er een variatie glutamine (Q/Gln) - arginine (R/Arg) - histidine (H/His). Met de vermelde variaties worden vijf verschillende proteïneallotypen gevormd: VRQ, ARQ, ARR, ARH en AHQ. Theoretisch kunnen nog andere allotypen gevormd worden, maar deze worden zelden of nooit aangetroffen. Verschillende studies wijzen aan dat het allotype ARQ het ancestrale of zogenaamde wild type is en dat al de overige varianten hieruit zijn ontstaan door mutatie (Thorgeirsdottir *et al.*, 1999; Bossers *et al.*, 2000; O'Rourke, 2001).

Met de vijf vermelde allelen kunnen vijftien verschillende genotypen gevormd worden. Deze vijftien genotypen worden op basis van wetenschappelijke gegevens in vijf risicoklassen verdeeld, zoals is weergegeven in Tabel 1. Dieren met het ARR/ARR-genotype (risicoklasse 1) lopen het minst kans scrapie te ontwikkelen en dieren met het genotype VRQ/VRQ lopen het meest risico (risicoklasse 5). De overige genotypen worden onderverdeeld in risicoklassen 2 tot en met 4. Er dient hierbij opgemerkt te worden dat de situatie niet steeds eenduidig is. In enkele gevallen is de kans op ontwikkeling van scrapie immers af-

hankelijk van het ras waarbij het genotype voorkomt en het land waar de schapen gehouden worden.

Momenteel worden er in de meeste Europese landen studies uitgevoerd om de frequentieverdeling van de verschillende PRNP-varianten te bepalen bij de lokale rassen, dit met het oog op het uitwerken van een verantwoorde fokstrategie om het aantal scrapieresistente dieren zo snel mogelijk op te drijven.

Voor een meer gedetailleerd overzicht van de scrapieliteratuur verwijzen we naar Peelman en Van Poucke (2002).

MATERIAAL EN METHODEN

Stalen

Er werd gebruik gemaakt van bloedstalen bewaard in een antistollingsmiddel, hetzij heparine, hetzij EDTA of citraat. De ongestolde bloedstalen werden in het laboratorium voor Dierlijke Genetica en Veeteelt (LDGV) binnengebracht door ongeveer 150 verschillende fokkers en/of dierenartsen verspreid over zowel Vlaanderen als Wallonië, waardoor deze steekproef min of meer als representatief kan beschouwd worden voor de Belgische schapenstapel. Elk staal werd geïdentificeerd aan de hand van zijn Sanitel- en/of stamboeknummer.

DNA-isolatie

De Vrijstelling van het DNA uit de witte bloedcellen (WBC) gebeurde in het kort als volgt: om de rode bloedcellen (deze bevatten geen DNA) te verwijderen en de WBC te isoleren wordt 200 µl ongestold bloed 3 maal gewassen in 500 µl T₁₀E₁. Het DNA wordt uit de WBC vrijgesteld door ze over te brengen in 100 µl lysesbuffer (10 mM Tris; 50 mM HCl; 0,5 % Tween 20) waaraan proteïnase K (100 µg/ml uiteindelijke concentratie) werd toegevoegd. De oplossing wordt 45

Tabel 1. PRNP-genotypen onderverdeeld per risicoklasse.
Table 1. PRNP-genotypes divided by risk class.

Risicoklasse: risico	Genotype
R1: zeer laag	ARR/ARR
R2: laag	ARR/ARQ ARR/ARH ARR/AHQ AHQ/AHQ AHQ/ARQ AHQ/ARH
R3: middelmatig	ARQ/ARQ ARQ/ARH ARH/ARH
R4: hoog	VRQ/ARR VRQ/AHQ VRQ/ARQ VRQ/ARH
R5: zeer hoog	VRQ/VRQ

minuten bij 56 °C geplaatst en daarna nog 10 minuten bij 95 °C om het proteïnase K te inactiveren.

Genotypering

PRNP-genotypering gebeurde volgens een gemodificeerde vorm van de methode beschreven door Yuzbasiyan-Gurkan en medewerkers (1999). De test maakt gebruik van drie primerparen waarmee via PCR 3 verschillende DNA-fragmenten van respectievelijk 266, 159 en 162 nucleotidenparen (nt) worden vermeerderd. Het 266 nt-fragment wordt behandeld met het restrictie-endonuclease *Bsp*HI. Met deze reactie wordt het genotype van de codons 136 en 154 bepaald. Het 159 nt-fragment wordt geknipt met *Bs*I en het 162 nt-fragment met *Acc*I. Met deze twee laatste reacties wordt het genotype van codon 171 achterhaald.

Na de behandeling met de vermelde restrictie-enzymen werden de fragmenten gescheiden in 3 % LE-agarosegels (BIOzym, Landgraaf, Nederland) en de verkregen patronen werden geregistreerd en opgeslagen met een Gel Doc 1000 (Biorad, Eke-Nazareth). De resultaten werden telkens door twee personen onafhankelijk van elkaar afgelezen en daarna vergeleken.

RESULTATEN

In totaal werd van 854 schapen het PRNP-genotype bepaald. De getypeerde schapen behoren tot de volgende

rassen: Texel (647), Suffolk (71), Scottish Blackface (27), Bleu du Maine (32), Swifter (22), kruisingen (30) en enkele dieren van andere rassen samengenomen in overige (25).

In Tabel 2 wordt per ras de frequentie van de vijf allelen weergegeven. In Tabel 3 wordt de frequentie van de voornaamste genotypen weergegeven en in Tabel 4 wordt het aantal dieren per risicoklasse vermeld.

DISCUSSIE

In zijn vergaderingen van februari en juli 2002 heeft het Permanent Veterinair Comité van de EC een aantal richtlijnen opgesteld ter bestrijding van TSE's, ervan uitgaande dat op basis van een aantal BSE-infectieproeven bij schapen, BSE zich zal gedragen zoals scrapie, ook voor wat betreft de genotype geregelde gevoeligheid. Het hoofddoel van dit programma is op het aandeel van het ARR-allel in de populaties op te drijven en tegelijk de frequentie van de scrapiegevoelige allelen te verlagen. Elke lidstaat dient ernaar te streven de scapiestatus van zijn schapenkudden te kennen. De schapenkudden zouden aldus opgedeeld worden in vier niveaus: kudden die uitsluitend bestaan uit ARR/ARR-dieren krijgen een niveau I label. Niveau II kudden bestaan uitsluitend uit schapen met minstens één ARR-allel, niveau III-kudden bestaan uit schapen waarvan de afstammelingen uitsluitend door ARR/ARR-rammen worden verwekt en niveau IV kudden bestaan uit schapen waarvan de afstammelingen uitsluitend door ARR/ARR-, ARR/AHQ-, ARR/ARH- of

Tabel 2. De vijf PRNP-allelen van het schaap met hun frequentie weergegeven in %. N= aantal werkelijk getelde allelen. SBF = Scottish Blackface; BDM = Bleu du Maine.

Table 2. The five sheep PRNP-alleles with their frequencies in %. N= number of alleles counted. SBF = Scottish Blackface; BDM = Bleu du Maine.

Ras	ARR		ARQ		ARH		AHQ		VRQ	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Texel	473	36,55	436	33,69	353	27,28	6	0,46	26	2,01
Suffolk	98	69,01	40	28,17	1	0,70	0	0,00	3	2,11
SBF	28	51,85	24	44,44	0	0,00	2	3,70	0	0,00
BDM	37	57,81	6	9,38	0	0,00	0	0,00	21	32,81
Swifter	27	61,36	3	6,82	4	9,09	5	11,36	5	11,36
Overige	24	48,00	18	36,00	3	6,00	3	6,00	2	4,00
Kruising	22	36,67	25	41,67	10	16,67	1	1,67	2	3,33
Totaal	709	41,51	552	32,32	371	21,72	17	1,00	59	3,45

Tabel 3. De vijftien mogelijke PRNP-genotypen met hun frequentie weergegeven in %. N= aantal werkelijk getelde allelen. SBF = Scottish Blackface; BDM = Bleu du Maine.

Table 3. Frequencies in % of the 15 possible PRNP-genotypes. N= number of counted alleles. SBF = Scottish Blackface; BDM = Bleu du Maine.

Ras	ARR/ARR		ARR/ARQ		ARR/ARH		ARR/AHQ		AHQ/ARQ	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Texel	91	14,06	161	24,88	114	17,62	2	0,31	2	0,31
Suffolk	29	40,85	36	50,70	1	1,41	0	0,00	0	0,00
SBF	8	29,63	12	44,44	0	0,00	0	0,00	2	7,41
BDM	9	28,13	6	18,75	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Swifter	7	31,82	2	9,09	3	13,64	3	13,64	0	0,00
Overige	6	24,00	10	40,00	2	8,00	0	0,00	1	4,00
Kruising	2	6,90	16	55,17	2	6,67	0	0,00	1	3,33
Totaal	152	17,80	243	28,45	122	14,29	5	0,59	6	0,70
Ras	AHQ/ARH		AHQ/AHQ		ARQ/ARH		ARH/ARH		ARQ/ARQ	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Texel	2	0,31	0	0,00	130	20,09	51	7,88	69	10,66
Suffolk	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	2,82
SBF	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	5	18,52
BDM	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Swifter	0	0,00	1	4,55	1	4,55	0	0,00	0	0,00
Overige	0	0,00	1	4,00	1	4,00	0	0,00	2	8,00
Kruising	0	0,00	0	0,00	5	16,67	1	3,33	1	3,33
Totaal	2	0,23	2	0,23	137	16,04	52	6,09	79	9,25
Ras	VRQ/AHQ		VRQ/ARQ		VRQ/ARR		VRQ/ARH		VRQ/VRQ	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Texel	0	0,00	5	0,77	14	2,16	5	0,77	1	0,15
Suffolk	0	0,00	0	0,00	3	4,23	0	0,00	0	0,00
SBF	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
BDM	0	0,00	0	0,00	13	40,63	0	0,00	4	12,50
Swifter	0	0,00	0	0,00	5	22,73	0	0,00	0	0,00
Overige	0	0,00	2	8,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Kruising	0	0,00	1	3,33	0	0,00	1	3,33	0	0,00
Totaal	0	0,00	8	0,94	35	4,10	6	0,70	5	0,59

Tabel 4. Aantal dieren ingedeeld per risicoklasse. SBF = Scottish Blackface; BDM = Bleu du Maine.
Table 4. Number of animals per risk class. SBF = Scottish Blackface; BDM = Bleu du Maine.

Ras	R1		R2		R3		R4		R5	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Texel	91	14,06	281	43,43	250	38,64	24	3,71	1	0,15
Suffolk	29	40,85	37	52,11	2	2,82	3	4,23	0	0,00
SBF	8	29,63	14	51,85	5	18,52	0	0,00	0	0,00
BDM	9	28,13	6	18,75	0	0,00	13	40,63	4	12,50
Swifter	7	31,82	9	40,91	1	4,55	5	22,73	0	0,00
Overige	6	24,00	14	56,00	3	12,00	2	8,00	0	0,00
Kruising	2	6,67	19	63,33	7	23,33	2	6,67	0	0,00
Totaal	152	17,80	380	44,50	268	31,38	49	5,74	5	0,59

ARR/ARQ-rammen werden verwekt. Hoe deze doelstelling exact dient gerealiseerd te worden, is momenteel onderwerp van debat binnen de lidstaten. Een belangrijk startpunt voor deze fokprogramma's is de huidige frequentieverdeling van de PRNP-allelen bij de verschillende schapenrassen. De EC-richtlijn stipuleert dan ook dat elke lidstaat, indien nog niet uitgevoerd, een steekproef dient uit te voeren om de PRNP-allelenfrequenties binnen zijn schapenpopulaties te achterhalen. De hier beschreven studie kan als eerste bijdrage voor de Belgische situatie beschouwd worden.

In de navolgende discussie zullen we het bijna uitsluitend hebben over de Texel (75,76 % van de getypeerde dieren), Suffolk (8,31 %) en het totaal aantal geteste dieren. Alhoewel voor de volledigheid in de tabellen ook gegevens voor SBF (3,16 %), BDM (3,75 %) en Swifter (2,58 %) apart zijn opgenomen, is het aantal getypeerde dieren behorende tot deze rassen te gering om er conclusies te kunnen aan vastknopen. Deze waarden dienen dan ook als louter indicatief te worden beschouwd. Het aantal getypeerde dieren per soort is een vrij goede reflectie van hun prevalentie in België. Volgens de telling van 1998 uitgevoerd door het Ministerie van Middenstand en Landbouw (brochure Schapenhouderij – vakkundig 1) is de verdeling van de werpende stamboekooien de volgende: 73,1 % Texel, 16,1 % Suffolk, 7,1 % Hampshire, 3,4 % Bleu du Maine en 2,3 % voor de overige rassen. Enkel voor de Hampshire werd geen representatief aantal dieren aangeboden voor de genotyperingstest.

Uit Tabel 2 blijkt dat het "positieve" ARR-allel over het algemeen behoorlijk goed is vertegenwoordigd bij de Belgische schapen (41,51 %) en dat de frequentie van het "negatieve" VRQ-allel laag is (3,45 %), wat uiteraard een gunstige startsituatie is om de eerder geschetste doelstelling te bereiken. Worden ook de gegevens verzameld in de Tabellen 3 en 4, in de analyse betrokken, dan kan vastgesteld worden dat de situatie het gunstigst is bij de Suffolk: 40,85 % van de dieren behoren tot risicoklasse 1 (ARR/ARR) en nog eens 52,11 % behoren tot risicoklasse 2 (50,70 % ARR/ARQ en 1,41 % ARR/ARH). Met een ARR-allelfrequentie van bijna 70 % en ongeveer 93 % van de dieren die minstens één ARR bezitten (ARR/VRQ-dieren zijn hierbij niet meegerekend, omdat deze door de aanwezigheid van het VRQ-allel tot risicoklasse 4 behoren en daardoor beter niet gebruikt worden), is het fokken naar een Suffolkpopulatie met uitsluitend ARR/ARR-dieren haalbaar, zonder de algemene genenpoel van de populatie negatief te beïnvloeden. Er dient ook opgemerkt te worden dat het allel VRQ, aan een lage frequentie (3,33 %) aangetroffen tijdens deze studie binnen de Belgische Suffolklijnen, in de UK enkel voorkomt in één welbepaalde lijn waarvan in het verleden een aantal fokdieren naar België gebracht werd. Dit toont nogmaals aan dat allelen- en genotypenfrequenties fluctuerende momentopnamen zijn die sterk onderhevig zijn aan kunstmatige selectie (fokschemas) en bijgevolg aanzienlijk kunnen verschillen tussen rassen onderling en zelfs tussen populaties binnen hetzelfde ras.

De genetische variatie in PRNP is relatief hoog bij de Texel. Alle vijf de allelen zijn vertegenwoordigd en de drie meest prevalentie, ARR, ARQ en ARH, hebben ongeveer dezelfde frequentie wat voorkomen betreft. Een gelijkaardige bevinding werd ook gedaan voor de Texelpopulaties in andere landen (Belt *et al.*, 1995). De hoge frequentie (27,28 %) van het ARH-allel bij de Texel is vrij opvallend, aangezien dit allel eerder marginaal voorkomt bij de meeste andere rassen. De scrapiegevoeligheid van ARH is vergelijkbaar met die van ARQ. Met 14,06 % van de geteste dieren in risicoklasse 1 (ARR/ARR) en met ongeveer 43,43 % van de dieren ARR-dragers (risicoklasse 2) is de situatie beduidend minder gunstig dan bij de Suffolk. Aangezien slechts ongeveer 57 % van de startpopulatie minstens één ARR-allel bezit (ARR/VRQ-dieren niet meegerekend), wordt de selectie naar homozygote ARR/ARR-populaties minder evident en zeker niet raadzaam over een klein aantal generaties, daar dit een aanzienlijke verarming van de genenpoel zou betekenen en een nefaste invloed zou kunnen hebben op een aantal foktechnische kenmerken, zoals geboortegewicht, groeisnelheid, vleeskwiteit en gevoeligheid voor andere ziekten. Er dient sowieso de vraag gesteld te worden of het fokken naar niveau I-populaties, dus met enkel ARR/ARR-dieren wel raadzaam is, ook in het licht van de scrapieproblematiek. Het is immers tot op heden niet geweten of een dier met een ARR/ARR-genotype dat in aanraking komt met het infectieuze BSE- of scrapieagens de klinische symptomen zal ontwikkelen na een heel lange incubatieperiode (eventueel langer dan het leven van het dier) of dat het dier drager is zonder zelf de klinische symptomen te ontwikkelen. Daarenboven zijn er aanwijzingen dat resistente dieren gevoelig kunnen worden wanneer ze in aanraking komen met een andere scrapiestam. Indien latente dragers van TSE, en zeker in het geval van BSE, bij ARR/ARR-dieren worden aangetoond, zal het ganse fokprogramma wellicht moeten worden herzien, eventueel in de richting van TSE-gevoelige dieren. Tot op heden werd er in de literatuur één ARR/ARR-dier (Japanse Suffolk) met scrapie beschreven (Ikeda *et al.*, 1995). Deze alleenstaande bevinding werd niet bevestigd door andere onderzoekers en het is mogelijk dat het om een verkeerde genotypering of een andere vergissing ging, maar het is zeker niet geheel ondenkbaar dat zich in de toekomst scrapiestammen zullen ontwikkelen die zich specifiek richten op het ARR-allel. De sterke selectiedruk tegen VRQ-dieren en dieren homozygoot QQ¹⁷¹ kan mogelijk een niche vrijmaken voor scra-

piestammen gericht op ARR. Een argument hiertegen kan misschien gevonden worden in de heel moeilijke omzetting van het ARR-PrP^C-eiwit naar het pathogene ARR-PrP^{Sc} onder invloed van toegediend PrP^{Sc}, terwijl bijvoorbeeld VRQ-PrP^C heel gemakkelijk werd omgezet in VRQ-PrP^{Sc} (Bossers *et al.*, 2000). Daar geen ARR-PrP^{Sc} beschikbaar is, maakten deze *in vitro* experimenten noodgedwongen gebruik van ARQ-PrP^{Sc} en VRQ-PrP^{Sc}, wat mogelijk een invloed had op de omzetting.

Het lijkt ons hoe dan ook raadzamer te fokken naar niveau II-populaties, zodanig dat de genenpoel breed wordt gehouden en er gemakkelijker op verdere evoluties kan ingespeeld worden. Tevens wordt op die wijze ook de selectiedruk voor de ontwikkeling van ARR/ARR-gerichte scrapiestammen lager gehouden. Een bijkomend argument is dat nog niet is geweten of ARR/ARR-homozygotie in geen enkel ras bepaalde fenotypische kenmerken nadelig zou kunnen beïnvloeden.

Alhoewel slechts een beperkt aantal dieren (32) gegenotypeerd werd, vallen bij BDM de hoge frequentie op van het scrapiegevoelige VRQ-allel (32,81 %) en de relatief lage frequentie van het minder ongunstige ARQ-allel (9,38 %). In een studie uitgevoerd in de UK bleek maar liefst 62 % van de BDM's minstens één VRQ-allel te bezitten (Hunter *et al.*, 1997). Daar de frequentie van het ARR-allel (57,81 %) en het aantal homozygote ARR/ARR-dieren (28,13 %) ook relatief hoog zijn, hoeft de toestand evenwel niet meteen dramatisch te zijn.

Tot besluit kunnen we stellen dat met 17,80 % ARR/ARR en nog eens 43,32 % dieren met minstens één ARR-allel (ARR/VRQ-dieren niet meegerekend) globaal genomen de situatie in de Belgische schapenpopulaties vrij gunstig is om binnen een beperkt aantal generaties te fokken naar niveau I- en II-populaties.

DANKWOORD

De auteurs wensen Dominique Vander Donkt te danken voor haar gewaardeerde hulp bij het uitvoeren van de genotyperingen.

LITERATUUR

Belt P.B.G.M., Muileman I.H., Schreuder B.E.C., Bos-de Ruijter J., Gielkens A.L.J., Smits M.A. (1995). Identification of five allelic variants of the sheep PrP gene and

- their association with natural scrapie. *Journal of General Virology* 76, 509-517.
- Bossers A., De Vries R., Smits M.A. (2000). Susceptibility of sheep for scrapie as assessed by in vitro conversion of nine naturally occurring variants of PrP. *Journal of Virology* 74, 1407-1414.
- Castiglioni B., Cominicini S., Drisaldi B., Motta T., Marchitelli C., Valentini A., Pagnacco G., Leone P., Ferretti L. (1998). Physical mapping of the prion genes in cattle, sheep and man by fluorescence in situ hybridisation. *Proceedings of the 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production* 27, 343-346.
- Hunter N., Goldmann W., Foster J.D., Cairns D., Smith G. (1997). Natural scrapie and PrP genotype: case-control studies in British sheep. *The Veterinary Record* 141, 137-140.
- Ikeda T., Horiuchi M., Ishiguro N., Muramatsu Y., Kai-Uwe G.D., Shinagawa M. (1995). Amino acid polymorphisms of PrP with reference to onset of scrapie in Suffolk and Corriedale sheep in Japan. *Journal of General Virology* 76, 2577-2581.
- O'Rourke K.I. (2001). Ovine scrapie: new tools for control of an old disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 17, 283-300.
- Peelman L.J., Van Poucke M. (2002). Genetische aspecten van scrapie bij schapen: een overzicht. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 71, 1-8.
- Prusiner S.B. (1989). Scrapie prions. *Annual Review Microbiology* 43, 345-374.
- Thorgeirsdottir S., Sigurdarson S., Thorisson H.M., Georgsson G., Palsdottir A. (1999). PrP gene polymorphism and natural scrapie in Icelandic sheep. *Journal of General Virology* 80, 2527-2534.
- Yuzbasiyan-Gurkan V., Krehbiel J.D., Cao Y., Venta P.J. (1999). Development and usefulness of new polymerase chain reaction-based tests for detection of different alleles at codons 136 and 171 of the ovine prion protein gene. *American Journal of Veterinary Research* 60, 884-887.