

Θεσσαλονίκη 10/10/2012

Εθνικό Συμφωνητικό Εργασίας

Συνάντηση Εθνικών Εταίρων: 16/9/2012

Ακρωνύμιο έργου: GOAT-TSE-FREE

Τίτλος έργου: Towards breeding of goats for genetically determined TSEs resistance

Αντικείμενο Συνάντησης: Προγραμματισμός δράσεων του έργου

Παραλήπτες: Τα μέλη της συνάντησης

Σκοπός έργου: Διασφάλιση και εισαγωγή αρσενικών τα οποία θα είναι φορείς αλληλόμορφων ανθεκτικών στην τρομάδη νόσο

Σκοπός

Σχεδόν πέντε εκατομμύρια γαλακτοπαραγωγά κατσίκια (5,024,946 καταγραφή 2011) αποτελούν το εθνικό κοπάδι στην Ελλάδα και εκτρέφονται είτε μεμονωμένα είτε σε μικτές εκτροφές με πρόβατα. Η πλειοψηφία των εκτροφών βρίσκεται στην μεν ηπειρωτική Ελλάδα στις περιοχές της Θεσσαλίας, Ηπείρου και Κεντρικής Μακεδονίας στη δε νησιωτική Ελλάδα στην Κρήτη και Κεφαλονιά, την Αλόνησο και την Σκόπελο. Στα δύο τελευταία νησιά εκτρέφονται και αυτόχθονες φυλές. Το μέσο μέγεθος των κοπαδιών στην Ελλάδα αποτελούν περίπου 250 ζώα. Ο βασικός στόχος των δραστηριοτήτων του προγράμματος αποτελεί η κινητοποίηση του αιγοτροφικού τομέα για την πραγματοποίηση ενός αναπαραγωγικού προγράμματος βασισμένο στην επιλογή γενετικά ανθεκτικών ζώων τα οποία παράλληλα θα είναι φορείς επιθυμητών παραγωγικών χαρακτηριστικών.

Δράσεις

Για την πραγματοποίηση του συγκεκριμένου στόχου θα προσπαθήσουμε για την

- Καθιέρωση μιας εθνικής βάσης δεδομένων με στοιχεία για την ανθεκτικότητα στην τρομάδη νόσο και των υποψηφίων ανθεκτικών αλληλομόρφων
- Δημιουργία μιας δεξαμενής φορέων ανθεκτικών αλληλομόρφων και καταγραφή της παραγωγής γάλακτος
- Ενημέρωση των στελεχών της Δημόσιας Διοίκησης, των κτηνιάτρων, και των κτηνοτρόφων, καθώς και παροχή συστάσεων για τα συστήματα ελέγχου/εκρίζωσης της τρομάδους νόσου σε εθνικό/περιφερειακό επίπεδο

Τις εργασίες του προγράμματος αποτελούν:

- 1) Ανίχνευση και διαλογή των φορέων των αλληλομόρφων 222K, 146S και 146D, καθώς και των παραγωγικών και μορφολογικών χαρακτηριστικών. Δειγματοληψία αίματος και ανάλυση DNA περίπου 1500 κατσικιών επιλεγμένων τυχαία από 30 μονάδες που εντοπίζονται στις περιοχές με τον υψηλότερο επιπολασμό και κυρίως από αυτές τις μονάδες που δεν εμφανίζουν συμπτώματα της νόσου. Η δειγματοληψία θα επικεντρωθεί στα αρσενικά άτομα. Από τις παραπάνω επιλεγμένες μονάδες θα συλλεχθούν δεδομένα, συμπεριλαμβανομένων των παραγωγικών χαρακτηριστικών.



Veterinary Research
Institute of Thessaloniki



Aristotle University of Thessaloniki



Ministry of Rural Development & Food

- 2) Εισαγωγή και αναπαραγωγή των φορέων ανθεκτικών αλληλομόρφων σε κατάλληλες υποψήφιες μονάδες και κυρίως σε έξι μονάδες που έχουν ήδη επιλεγθεί.

Η χαμηλή συχνότητα φορέων των αλληλομόρφων 222K, 146S και 146D αποτελεί ένα πρόβλημα. Το ΕΛ.Γ.Ο. (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.) και το Α.Π.Θ. σε συνεργασία με το τη Διεύθυνση Υγείας των Ζώων - ΥΠ.Α.Α.Τ., θα αναλάβει μια εκτεταμένη έρευνα για την ανεύρεση των κατάλληλων φορέων. Η έρευνα θα επικεντρωθεί κυρίως στις περιοχές της Ελασσόνας, της Λάρισας, της Θεσσαλονίκης, της Πέλλας και της Χαλκιδικής (περιοχές υψηλού επιπολασμού). Οι επιλεγμένοι φορείς θα είναι επιπρόσθετα κατάλληλοι και για παραγωγικούς σκοπούς και γι' αυτό θα πρέπει να καταγραφούν τα παραγωγικά χαρακτηριστικά, ώστε να χρησιμοποιηθούν σε τοπικά αναπαραγωγικά προγράμματα. Η ανάλυση των δειγμάτων από τις 30 μονάδες θα δώσει την πιθανότητα της δημιουργίας μιας βάσης δεδομένων εκτροφών – φορέων ανθεκτικών αρσενικών. Η εκτροφή τέτοιων ζώων θα τους παρέχει επιπλέον εμπορική αξία.

Για τη συλλογή επιπλέον δεδομένων για τους πολυμορφισμούς του PRNP γονιδίου, ήδη αρχειοθετημένα θετικά δείγματα στην τρομώδη νόσο (≈ 300) προερχόμενα από σφαγεία, θα αναλυθούν με τη μέθοδο της αλληλούχησης του DNA και μεθόδους τυποποίησης της τρομώδους νόσου στο ΕΛ.Γ.Ο. (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.) και το Α.Π.Θ. Επιπλέον, ήδη αρχειοθετημένα αρνητικά δείγματα για την τρομώδη νόσο προερχόμενα από σφαγεία θα αναλυθούν με τη μέθοδο της αλληλούχησης του DNA στο ΕΛ.Γ.Ο (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.). Τα συγκεκριμένα δείγματα θα υποβληθούν σε αποτύπωση κατά western για τον αποκλεισμό της παρουσίας ανθεκτικών τμημάτων στην πρωτεΐνωση (Α.Π.Θ.). Τα αρχειοθετημένα θετικά και αρνητικά δείγματα θα προέλθουν από το Εθνικό Εργαστήριο Αναφοράς- Διεύθυνση Υγείας των Ζώων, ΥΠΑΑΤ..

Προγραμματισμός έργου

Οκτώβριος 2012 – Δεκέμβριος 2012

1. Συνεργασία με κτηνοτρόφους και οργάνωση συναντήσεων για την επιλογή των κατάλληλων μονάδων. **Π1:** Λίστα κτηνοτρόφων και στοιχεία επικοινωνίας των συνεργαζόμενων κτηνοτρόφων.
2. Έναρξη της έρευνας για την ανεύρεση φορέων ανθεκτικών αλληλομόρφων, σε συνδυασμό με τα κατάλληλα παραγωγικά χαρακτηριστικά. Συνεντεύξεις κτηνοτρόφων για τη συμπλήρωση των ερωτηματολογίων.
3. Δημιουργία τράπεζας δειγμάτων αποτελούμενη από τα αρχειοθετημένα θετικά και αρνητικά δείγματα για την τρομώδη νόσο. **Π2:** Τράπεζα δειγμάτων

Ιανουάριος 2013 – Μάρτιος 2013

1. Ολοκλήρωση της συμπλήρωσης των ερωτηματολογίων και δημιουργίας μιας βάσης δεδομένων. Η βάση δεδομένων θα υπόκειται σε συνεχή ενημέρωση μέχρι την ολοκλήρωση του προγράμματος. **Π3:** Βάση δεδομένων για τα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά.
2. Ανάλυση των αρχειοθετημένων θετικών και αρνητικών δειγμάτων για την τρομώδη νόσο



NAGREF
NATIONAL AGRICULTURAL
RESEARCH FOUNDATION

Veterinary Research
Institute of Thessaloniki



Aristotle University of Thessaloniki



Ministry of Rural Development & Food

3. Δειγματοληψία αίματος, ανίχνευση SNPs. Περίπου 500 κατσίκια θα αναλυθούν από μια μεγάλη συλλογή παραγωγικών ζώων, δίνοντας προτεραιότητα στα καλύτερα αρσενικά άτομα. **Π4:** Κατάλογος των φορέων των 222K, 146S και 146D αλληλομόρφων.
4. Επικοινωνία με τους κτηνοτρόφους για το σχεδιασμό αναπαραγωγικών σχημάτων με στόχο την αύξηση της συχνότητας των φορέων των 222K, 146S και 146D αλληλομόρφων.

Μάρτιος 2013 – Ιούλιος 2013

1. Εφαρμογή των επιλεγμένων/προτεινόμενων αναπαραγωγικών σχημάτων. Παράλληλα, νωπό σπέρμα θα χρησιμοποιηθεί για την εισαγωγή ανθεκτικών αλληλομόρφων στις έξι επιλεγμένες μονάδες.
2. Ανάλυση των θετικών και αρνητικών δειγμάτων για την τρομώδη νόσο. **Π5:** Δεδομένα για τους πολυμορφισμούς του PRNP γονιδίου.

Ιανουάριος 2014 – Μάρτιος 2014

1. Δειγματοληψία αίματος, ανίχνευση SNPs. Περίπου 500 νεογέννητα αρσενικά κατσίκια θα συλλεχθούν για ανάλυση, με στόχο την αύξηση της υπάρχουσας δεξαμενής των φορέων των 222K, 146S και 146D αλληλομόρφων. Ενημέρωση του καταλόγου ανθεκτικότητας με τους νεογέννητους φορείς.
2. Συλλογή παραγωγικών και μορφολογικών χαρακτηριστικών από τα επιλεγμένα νεογέννητα αρσενικά κατσίκια. Ενημέρωση της βάσης δεδομένων για τα παραγωγικά και τα μορφολογικά χαρακτηριστικά.
3. Ανάλυση των θετικών και αρνητικών δειγμάτων για την τρομώδη νόσο. Βάση δεδομένων για τους πολυμορφισμούς του PRNP γονιδίου.

Μάρτιος 2014 – Ιούλιος 2014

1. Εφαρμογή των επιλεγμένων/προτεινόμενων αναπαραγωγικών σχημάτων. Παράλληλα νωπό σπέρμα θα χρησιμοποιηθεί για την εισαγωγή ανθεκτικών αλληλομόρφων στις έξι επιλεγμένες μονάδες
2. Ανάλυση των νέων θετικών και αρνητικών δειγμάτων για την τρομώδη νόσο που έχουν επιβεβαιωθεί από το Εθνικό Εργαστήριο Αναφοράς.

Ιανουάριος 2015 – Μάρτιος 2015

1. Δειγματοληψία αίματος, ανίχνευση SNPs. Περίπου 500 νεογέννητα αρσενικά κατσίκια θα συλλεχθούν για ανάλυση, με στόχο την αύξηση της υπάρχουσας δεξαμενής των φορέων των 222K, 146S και 146D αλληλομόρφων. Ενημέρωση του καταλόγου ανθεκτικότητας με τους νεογέννητους φορείς
3. Συλλογή παραγωγικών και μορφολογικών χαρακτηριστικών από τα επιλεγμένα νεογέννητα αρσενικά κατσίκια. Ενημέρωση της βάσης δεδομένων για τα παραγωγικά και τα μορφολογικά χαρακτηριστικά.

Μάρτιος 2015 – Ιούλιος 2015

1. Εφαρμογή των επιλεγμένων/προτεινόμενων αναπαραγωγικών σχημάτων. Παράλληλα νωπό σπέρμα θα χρησιμοποιηθεί για την εισαγωγή ανθεκτικών αλληλομόρφων στις έξι επιλεγμένες μονάδες
2. Ανάλυση των νέων θετικών και αρνητικών δειγμάτων για την τρομώδη νόσο που έχουν επιβεβαιωθεί από το Εθνικό Εργαστήριο Αναφοράς. Ενημέρωση της βάση δεδομένων για τους πολυμορφισμούς του PRNP γονιδίου.



Aristotle University of Thessaloniki



Ministry of Rural Development & Food

Συνεργάτες

Δρ. Λουκία Αικατερινιάδου, Καθ. Θ. Σκλαβιάδης, Αναπλ. Καθ. Νίκος Παπαιωάννου, Αναπλ. Καθ. Μαρία Παπαναστασοπούλου, Αναπλ. Καθ. Γ. Αρσένος, Επικ. Καθ. Ν. Γιαδίνης, Επικ. Καθ. Χρυσόστομος Δόβας, Δρ.. Ε. Μπουκουβάλα, κα Β. Παλάσκα, κος Σ. Ντουνουνάκης, κα. Ειρήνη Κανατά και ένας νέος επιστήμονας.

Πρόσωπο Επικοινωνίας

Δρ. Λουκία Αικατερινιάδου
Αναπληρώτρια Ερευνήτρια
Ινστιτούτο Κτηνιατρικών Ερευνών Θεσσαλονίκης
Ελληνικός Γεωργικός Οργανισμός ΔΗΜΗΤΡΑ (πρώην ΕΘΙΑΓΕ)
Κτήμα Θέρμης
57001 Θέρμη
ekateriniadou@vri.gr

Greek National Working Document

Meeting date: September 9, 2012

Project acronym: GOAT-TSE-FREE

Project full title: Towards breeding of goats for genetically determined TSEs resistance

Subject: Planning of the activities

Tabled to: All attendees

WP2: Safeguarding and introduction of resistance allele carriers

Aim

About five million (5,024,946 registered in 2011) dairy goats comprise the national flock in Greece. The goats are raised either alone or in mixed flocks with sheep. The majority of flock are located in mainland regions of Thessaly, Epirus and Central Macedonia, as well as in the islands of Crete, Kefallonia, Alonissos and Skopelos (in the two latter islands is raised the most productive indigenous breed of Skopelos goat). The average size of flocks in Greece is about 250 animals. The main target of the activities is to mobilize the goat sector for implementing a breeding programme based on genetic selection for TSEs resistance allele carriers.

Activities

To achieve the above target the consortium will try to do the following:

- establish a national data basis for scrapie resistance and candidate resistant alleles
- generate a reservoir of resistance allele carriers and recording milk production
- Provide information to policy makers and goat sector (involved in the project) and to give recommendations about the scrapie control/eradication schemes at national/regional levels

The work consists of:

1) Screening for 222K, 146S and 146D allele carriers as well detailed recording of production traits and morphology characteristics. Blood sampling and DNA extraction and analysis in a random population of around 1,500 animals that will be selected from about 30 flocks located in areas with the estimated highest prevalence and especially from flocks without confirmed evidence of the disease. Blood samples will be obtained exclusively from bucks. All flocks that will be chosen for blood sampling will be monitored to gather detailed data regarding production traits.

2) the introduction and multiplication of resistance allele carriers in suitable candidate flocks and especially in six already selected herds.

The existing knowledge suggests that there is low frequency of the 222K, 146S and 146D allele carriers, which is an issue for consideration. NAGREF and AUTH in collaboration with the Directorate of Animal Health - MRDF will undertake a large survey to find carriers. The survey will be focused mainly in the regions of Ellassona, Larissa, Thessaloniki, Pella and Chalikidiki (areas with reported high prevalence). The selected carriers will also be also considered for their production output and therefore their production traits will be recorded and will be made available for regional breeding programs. The dense blood sample analysis from the 30 flocks will give the opportunity to establish a concise database of farms with –bucks with resistant allele carriers. The breeding of such animals will give them an extra value.

A further activity will focus on collecting more data on PRNP gene polymorphisms. About 300 scrapie-positive samples will be analyzed by DNA sequencing and scrapie

typing techniques at NAGREF and AUTH. Those samples have been obtained from slaughterhouse screenings and have been kept in deep freezer. In the same activity, scrapie-negative samples derived from slaughterhouse screenings (already in archive) will be analyzed by DNA sequencing at NAGREF and will also be subjected to western blotting to exclude presence of protease resistant fragments (AUTH). All samples will be obtained from the National Reference Laboratory – Directorate of Animal Health.

Work Plan

October 2012 – December 2012

1. Establishment a collaboration network with goat farmers. Organization of several meetings with farmers and farm visits to identify the suitable flocks. **D1:** List and contact details of participating farmers.
2. Commencement of survey to find resistance allele carriers in combination with suitable production traits. Perform interviews with farmers using a purpose built questionnaire.
3. Establishment of the sample bank consisted of scrapie-positive and scrapie-negative samples already in archive. **D2:** Samples Bank.

January 2013– March 2013

5. Completion of questionnaires, establishment of an initial database. The latter database will be under continuous update up to the end of project implementation. **D3:** Database concerning records of production traits and morphology characteristics.
6. Analysis of samples from scrapie-positive and scrapie-negative specimens already in archive.
7. Blood sampling, SNPs detection. About 500 goats will be selected and analyzed by a large panel as much as possible derived from production animals including a preference for promising bucks. **D4:** List of 222K, 146S and 146D allele carriers.
8. Communication with participating farmers to implement reproductive schemes to increase the frequency of 222K, 146S and 146D allele carriers.

March 2013–July 2013

3. Implementation of the proposed reproductive schemes. Moreover, at the same time, fresh semen will be used for the introduction of the resistance alleles in six already selected flocks.
4. Analysis of the samples from the scrapie-positive and scrapie-negative samples already in archive. **D5:** Data on PRNP gene polymorphisms.

January 2014 – March 2014

1. Blood sampling, SNPs detection. About 500 newborn bucks will be selected and analyzed to increase the available pool of 222K, 146S and 146D allele carriers. Update of the resistance list with newborn allele carriers.
2. Collection of flock data, recording of production traits and morphology characteristics from the selected newborn bucks. Database update with recording of production traits and morphology characteristics..
3. Analysis of the samples from the scrapie-positive and scrapie-negative samples already in archive. Data on PRNP gene polymorphisms.

March 2014–July 2014



**Veterinary Research
Institute of Thessaloniki**



Aristotle University of Thessaloniki



Ministry of Rural Development & Food

4. Implementation of the proposed reproductive schemes. In parallel fresh semen will be used for the introduction of the resistance alleles to the six already selected flocks.
5. Analysis of samples derived from new scrapie-positive and scrapie-negative cases confirmed by the National Reference Laboratory.

January 2015– March 2015

1. Blood sampling, SNPs detection. About 500 newborn bucks will be selected and analyzed to increase the available pool of 222K, 146S and 146D allele carriers. Update of the resistance list with newborn allele carriers.
2. Collection of data recording production traits and morphology characteristics from the selected newborn bucks. Data basis recording production traits and morphology characteristics. Update of the database recording production traits and morphology characteristics.

March 2015–July 2015

3. Implementation of the proposed reproductive schemes. Moreover, at the same time fresh semen will be used for the introduction of the resistance alleles to the six already selected herds.
4. Analysis of samples derived from new scrapie-positive and scrapie-negative cases confirmed in the National Reference Laboratory. Data on PRNP gene polymorphisms.

Partners

Dr. L. Ekateriniadou, Prof. T. Sklaviadis, Assoc. Prof. Nikos Papaioannou, Assoc. Prof. Maria Papanastopoulou, Assoc. Prof. G. Arsenos, Assist. Prof. N. Giadinis, Assist. Prof. Chrysostomos Dovas, Dr. E. Boukouvala, Mrs V. Palaska, Mr. S. Doudounakis, Mrs. Eirini Kanata and a young researcher.

Contact Person

Dr. Loukia Ekateriniadou
Associated Researcher
Veterinary Research Institute of Thessaloniki – NAGREF
Hellenic Agricultural Organization – DEMETER
Campus of Thermi
57001 Thermi
Greece
ekateriniadou@vri.gr