

Informationen zur Probennahme und Konservierung von Probenmaterial für genetische Analysen

1 Allgemeine Hinweise zur Probennahme

Die Probennahme sowie eine fachgerechte und schnellstmögliche Konservierung der gesammelten Proben sind für eine erfolgreiche genetische Analyse von entscheidender Bedeutung. Zur Vermeidung von Verunreinigungen mit Fremd-DNA (Kontaminationen) sollte die Probennahme stets mit höchster Sorgfalt durchgeführt werden. Daher sollten folgende Grundregeln beachtet werden:

- A. Bei allen Schritten der Probennahme werden Einweghandschuhe⁶ getragen. Diese dienen neben der Vermeidung von Kontaminationen auch dem Schutz vor Krankheitserregern, die etwa durch Kotproben von Wildtieren übertragen werden können. Handschuhe sollten auch während einer Beprobung gewechselt werden, wenn etwa verschmutzte Verpackungen, Stifte oder andere Gegenstände berührt wurden. Nach Abschluss der Beprobung werden die Handschuhe entsorgt. Das Wechseln von Handschuhen zwischen jeder einzelnen Probe, z.B. auch bei der mehrfachen Beprobung eines gerissenen Beutetiers, wird dringend angeraten.
- B. Nach jeder Probennahme müssen alle verwendeten Materialien, die in Kontakt mit dem Probenmaterial gekommen sind, ausgetauscht bzw. gründlich gereinigt werden. Die Verwendung von Einwegpinzetten⁹, -skalpellen⁸, etc. ist stets zu bevorzugen. Sind Einwegartikel nicht vorhanden, muss jegliches Beprobungsmaterial vor der Wiederverwendung mit Wasser und Ethanol gereinigt und zusätzlich abgeflammt werden (z. B. mit einem Gasbrenner).
- C. Nach der Probennahme sollten die Proben schnellstmöglich konserviert werden, z.B. durch Trocknung, Kühlung oder Einlegen in 96%igem Ethanol. Niemals sollte Probenmaterial in unbehandeltem Zustand verschickt werden. Je nach Probenart sind bestimmte Konservierungsmethoden besser geeignet (vgl. Abs. 3). Alternative Konservierungsmethoden sollten vor Verwendung mit uns abgeklärt werden.

Eine gewissenhafte Beachtung der Hinweise zur Behandlung von Proben führt nach unserer langjährigen Erfahrung zu einer Erhöhung der Erfolgsraten und besseren Ergebnissen. Nach Rücksprache können wir Ihnen geeignetes Sammelmateriale zusammenstellen und zusenden. Bitte zögern Sie nicht, bei Fragen und Unklarheiten zur Beprobung und Behandlung von Probenmaterial Rücksprache mit uns zu halten.

Kontakt Wildtiergenetik

Telefon: **06051-61954-3138**

Email: **wildtiergenetik@senckenberg.de**

2 Beauftragungs- und Versandinformationen

Die Beauftragung von genetischen Analysen erfolgt über ein Online-Auftragsmanagementsystem (www.wildtiergenetik.de) und erfordert die Einrichtung eines Nutzerkontos. Ohne einen angelegten Auftrag können eingesandte Proben nicht bearbeitet werden. Bitte achten Sie darauf, dass die Probenanzahl sowie die Angaben auf den Proben mit denen im Online-Auftrag exakt übereinstimmen, da es sonst zu Verzögerungen im Ablauf kommen kann. Nach Anlegen des Online-Auftrags können die Proben an folgende Adresse versendet werden:

**Senckenberg Gesellschaft
Zentrum für Wildtiergenetik
Probenannahme
Clamecystraße 12
63571 Gelnhausen**



Bestellinformation zu den Verbrauchsmaterialien

- ¹ Medishop, Mehrzweck-Becher 70 ml gelb, SAR759922721
- ² Carl Roth, FTA®-Karten, CL93.1
- ³ Carl Roth, Rotilabo®-Probenbeutel, P280.2
- ⁴ Carl Roth, Trockenmittelbeutel Silica Gel Orange, N077.2
- ⁵ Carl Roth, FTA®-Karten mit Farbindikator, CL94.1
- ⁶ Carl Roth, Rotiprotect-Latex **puderfrei**, L950.1
- ⁷ Carl Roth, Rotilabo®-Rundfilter, AP80.1
- ⁸ Carl Roth, Einmal-Skalpelle Cutfix®, X006.1
- ⁹ Carl Roth, Rotilabo®-Einmal-Pinzetten steril, KL05.1
- ¹⁰ Carl Roth, Ethanol 96 % (reinst), P075.3
- ¹¹ Sarstedt, Forensik-Abstrichtupfer, mit Belüftungsmembran, ISO 18385, 95, EH12.1, Bestellnr. 80.629.001

Links: Verschlussdichter Plastikbecher¹ mit 33 ml unvergälltem Ethanol¹⁰ (96%) zur Konservierung von Lösung oder Muskelgewebe; **Mitte:** Ziplock-Beutel³ zur Aufbewahrung von Haarproben mit Filterpapier⁷, Trocknungsmittel⁴ und Probenbeschriftung. **Rechts:** Sarstedt Forensic Swab für Riss-, Speichel- und Blutabstriche

3 Spezifikationen zur Beprobung und Konservierung unterschiedlicher Probenarten

NICHTINVASIVE PROBENNAHME

Haare werden in ein gefaltetes Filterpapier⁷ gegeben und anschließend in einem Ziplock-Beutel³ mit Trocknungsmittel⁴ bei Raumtemperatur gelagert (siehe umseitige Abb.). Notfalls können Haare auch im trockenen Zustand ohne Trocknungsmittel verschickt werden. Grundsätzlich ist zu beachten, dass sich mit steigender Anzahl trocken gelagerter Haare mit Haarwurzel die Chance für eine erfolgreiche genetische Analyse erhöht. Bitte Haare nicht auf Klebeflächen fixieren, dies behindert die späteren Analysen. Fixieren der Haare auf Klebestreifen etc. ist nur in Ausnahmefällen nützlich (z. B. wenn man Flächen auf Haar- und Gewebereste absucht, etwa bei forensischen Untersuchungen) und sollte vorher mit uns abgesprochen werden.

Losung (Kot) wird in ein mit ca. 33 ml unvergälltem Ethanol¹⁰ (96%) gefülltes Plastikgefäß¹ gegeben (siehe umseitige Abb.). Das Ethanol sollte die Losungsprobe vollständig bedecken. Die Lagerung erfolgt bei Raumtemperatur oder im Kühlschrank. Bei längeren Lagerzeiten (mehrere Monate bis Jahre) empfiehlt sich die Lagerung bei -20°C. *Achtung: größere Mengen an Probengefäßen dürfen nur in explosionsgeschützten Kühl-/Gefrierschränken gelagert werden.* Idealerweise benutzt man zum Einsammeln von Losung einen sterilen Gegenstand (Skalpell, Pinzette, gesäuberte, abgeflamte Klinge eines Taschenmessers; auch ein zurechtgeschnittenes Holzstäbchen ist geeignet; so verhindert man eine Kreuzkontamination über eine unsaubere Klinge, wenn keine geeigneten Reinigungsmöglichkeiten vorhanden sind). Bei größeren Losungen sollte ein Stück von 3-5 cm von einem der Enden abgetrennt und in das Ethanol-gefüllte Probengefäß gegeben werden. Häufig ist an der Oberfläche der Losung eine glänzende Schleimschicht (Mucus) der Darmschleimhaut vorhanden. Die Mucus-Schicht ist besonders gut für DNA-Analysen geeignet und sollte unbedingt mit in das Probengefäß überführt werden. Das Probengefäß sollte mit Bleistift beschriftet werden (vermeidet Verwischen).

Urin enthält ebenfalls DNA und kann am besten im Winter als Urinspur im Schnee gewonnen werden. Urinproben werden in mit 96% Ethanol gefüllten Plastikgefäßen¹ (keine Gefrierbeutel o.ä.) gesammelt und bei Raumtemperatur gelagert. Wenn kein Gefäß mit Ethanol vorhanden ist, sollte der Urin im Schnee eingefroren und unter Einhaltung der Kühlkette zu uns gesendet werden. Alternativ (z.B. bei geringen Urinmengen & Oestrusblut) kann der Urin mit einem bis zwei Tupfern aufgenommen werden. Dazu die Urintropfen in gefrorenem Schnee auf dem Einmalhandschuh antauen lassen und den/die Tupfer darin trinken.

Rissabstriche werden an geeigneten Stellen (Kehlbiss, den Kehlbiss umgebender Bereich, Wundränder) mit sterilem Sarstedt Forensic Swab¹¹ genommen, um an vermutlich gerissenen Tieren Speichelproben des Verursachers zu gewinnen. Dabei wird mit dem Tupfer an der geeigneten Stelle mehrfach hin- und her gerieben und dieser dabei auch um die eigene Achse gedreht, um möglichst viel DNA/Speichel aufzunehmen. Der Tupfer sollten unmittelbar vor der Beprobung mit sterilem Wasser oder besser 1x TE-Puffer angefeuchtet werden (durch die hohe Kontaminationsgefahr empfehlen wir, den in unserem Labor hergestellten Puffer oder gleichwertige Produkte vom Fachhandel zu beziehen). Nach der Beprobung wird der Tupfer in das Röhrchen mit Belüftungsmembran überführt. Empfohlen wird, neben dem Kehlbiss auch Proben von anderen Stellen (siehe oben) zu nehmen, um die Chance für eine erfolgreiche Analyse zu erhöhen (bitte neue Tupfer verwenden und separat lagern). *Bitte beachten: In einem Röhrchen kann auch nur ein Tupfer gelagert werden.* Wichtig ist, dass eine Beprobung möglichst innerhalb von 24 h nach dem Rissvorfall geschieht, da die Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen Analyse mit der Zeit stetig abnimmt. Eine trockene und kalte Witterung wirkt sich günstig aus und kann eine längere Konservierung von DNA-Spuren am Kadaver bewirken. Bitte die Probe möglichst zeitnah versenden.

Knochen u. Zähne von aufgefundenen Kadavern oder Museumsproben werden in einen Ziplock-Beutel³ mit Trocknungsmittel⁴ gegeben und bei Raumtemperatur gelagert.

INVASIVE PROBENNAHME

Gewebe (idealerweise Muskelgewebe von der Größe einer Olive) wird in ein mit 33 ml unvergälltem Ethanol¹⁰ (96%) gefülltes Plastikgefäß¹ (siehe umseitige Abbildung) gegeben und bei Raumtemperatur gelagert. Bei längeren Lagerzeiten (Monate bis Jahre) empfiehlt sich die Lagerung in der Tiefkühltruhe. *Achtung: größere Mengen an Probengefäßen dürfen nur in explosionsgeschützten Kühl-/Gefrierschränken gelagert werden.* Sind keine geeigneten Probengefäße oder 96%iges Ethanol vorhanden, kann das Gewebe **notfalls** auch in einem Gefäß mit anderem (möglichst hochprozentigen) Alkohol gelagert werden. Die verwendeten Gefäße sollten vor Versand auf Dichtigkeit überprüft werden. In Ausnahmefällen können Gewebestücke direkt tiefgefroren werden und unter Einhaltung der Kühlkette zur genetischen Analyse eingereicht werden. Das Probengefäß sollte mit Bleistift beschriftet werden (vermeidet Verwischen).

Blut sollte je nach vorhandener Menge mit Sarstedt Forensic Swabs¹¹ aufgenommen werden. Alternativ kann Blut mit sterilen Wattestäbchen beprobt, in ein gefaltetes Filterpapier⁷ gegeben und anschließend in einem Ziplock-Beutel³ mit Trocknungsmittel⁴ bei Raumtemperatur gelagert werden (vgl. umseitige Abbildung). Für die Beprobung von getrockneten Blutspuren empfiehlt es sich, die Wattestäbchen zuvor mit 1x TE-Puffer anzufeuchten. Alternativ können wenigen Tropfen auf das Feld einer FTA-Karte² geträufelt und anschließend getrocknet werden. Die Karte wird danach in einen Ziplock-Beutel³ mit Trocknungsmittel⁴ gegeben und bei Raumtemperatur gelagert. Sind keine Wattestäbchen oder FTA-Karten² zur Hand, können Blutproben im Freiland auch in handelsüblichen EDTA-Röhrchen (Gerinnungshemmer) gesammelt werden, wie es bei Veterinären üblich ist. Die Proben müssen dann **sofort** und **gekühlt** verschickt werden. Alternativ können Blutproben (bis maximal 3 ml) in Gefäße mit 33 ml reinem (mind. 96%) Ethanol¹⁰ gegeben, bei Raumtemperatur gelagert und verschickt werden. Sind keine Sammelmaterialien vorhanden, kann Blut mit einem Taschentuch o. Papierstück aufgenommen und getrocknet werden.

Mundschleimhautabstriche werden bevorzugt mittels Sarstedt Forensic Swabs¹¹ gesammelt. Diese können analog zu anderen Tupferproben (Rissabstriche, Blut) in dafür vorgesehenen Röhrchen oder falls nicht vorhanden, Ziplock-Beuteln mit Filterpapier und Trocknungsmittel gelagert werden.

In besonderen Fällen, z.B. bei Verdacht eines Angriffs auf Menschen durch ein Wildtier, nehmen Sie bitte vor der Probenahme Kontakt mit uns auf!