

# Analyse génétique de l'ADN spécifique de canidés dans des échantillons-traces provenant d'animaux tués par des carnivores

-

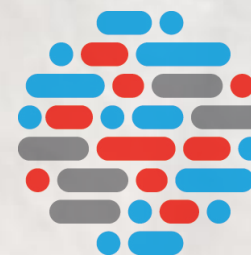
## le point de vue médico-légal

*Genetic analysis of canidae specific DNA in trace samples from animals killed by carnivores – the forensic point of view*

PD Dr.rer.nat.

Nicole von Wurmb-Schwark

ForGen, Forensische Genetik und Rechtsmedizin am Institut für Hämatopathologie Hamburg

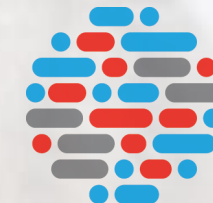


**ForGen**  
Forensische Genetik und Rechtsmedizin  
am Institut für Hämatopathologie GmbH

# A propos de ForGen : Qui sommes nous ?

*About ForGen: Who we are*

- **3 chercheurs** ayant de solides références médico-légales et en étude de traces génétiques  
*3 researchers with strong background in legal medicine and forensic genetic/trace analysis*
- **+ de 20 ans d'expérience** dans des instituts de recherche universitaires (Surtout des postes de direction)  
*>20 years of experience at university institutes (mostly leading positions)*
- Réalisation de nombreuses études dans différents domaines d'intérêt médico-légal  
*Conduction of many research studies on different fields of forensic interest*



**ForGen**  
Forensische Genetik und Rechtsmedizin  
am Institut für Hämatopathologie GmbH

# Ce que nous faisons : I. de l'analyse de lien de parenté

## What we do: I. Kinship analysis

- Analyse des liens de parenté (tests de paternité, cas compliqués, regroupement familial)

*Kinship analysis (paternity testing, complicated cases, family reunion)*

Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)  
SCIENCE @ DIRECT®  
Forensic Science International 159 (2006) 92–97  
[www.elsevier.com/locate/forensic](http://www.elsevier.com/locate/forensic)

**Forensic Science International**

Possible pitfalls in motherless paternity analysis with related putative fathers

Nicole von Wurmb-Schwark<sup>a,\*</sup>, Victoria Mályusz<sup>a</sup>, Eva Simeoni<sup>a</sup>, Eberhard Lignitz<sup>b</sup>, Micaela Poetsch<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Institute of Legal Medicine, Christian-Albrecht-University of Kiel, Arnold-Heller-Str.12, 24105 Kiel, SH, Germany  
<sup>b</sup>Institute of Forensic Medicine, Ernst-Moritz-Arndt-University, Greifswald, Germany

Received 5 July 2005; accepted 5 July 2005  
Available online 6 September 2005

Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)  
SCIENCE @ DIRECT®  
Forensic Science International 159 (2006) 98–103  
[www.elsevier.com/locate/forensic](http://www.elsevier.com/locate/forensic)

**Forensic Science International**

The problem of single parent/child paternity analysis—Practical results involving 336 children and 348 unrelated men

Micaela Poetsch<sup>a,\*</sup>, Christina Lüdcke<sup>a</sup>, Antje Repenning<sup>a</sup>, Lutz Fischer<sup>a</sup>, Victoria Mályusz<sup>b</sup>, Eva Simeoni<sup>b</sup>, Eberhard Lignitz<sup>a</sup>, Manfred Oehmichen<sup>b</sup>, Nicole von Wurmb-Schwark<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Institute of Forensic Medicine, Ernst-Moritz-Arndt-University, Kuhstrasse 30, D-17489 Greifswald, Germany  
<sup>b</sup>Institute of Legal Medicine, University of Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Germany

Received 30 June 2005; accepted 4 July 2005  
Available online 18 August 2005

ELSEVIER  
Legal Medicine 6 (2004) 125–130  
[www.elsevier.com/locate/legalmed](http://www.elsevier.com/locate/legalmed)

**LEGAL MEDICINE**

The use of different multiplex PCRs for twin zygosity determination and its application in forensic trace analysis

Nicole von Wurmb-Schwark<sup>a,\*</sup>, Thorsten Schwark<sup>a</sup>, Lene Christiansen<sup>b</sup>, Delia Lorenz<sup>c</sup>, Manfred Oehmichen<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Institute of Legal Medicine, Christian Albrecht University of Kiel, Arnold-Heller-Strasse 12, Kiel 24105, Germany  
<sup>b</sup>Department of Epidemiology, Institute of Public Health, University of Southern Denmark, Odense, Denmark  
<sup>c</sup>Department of Neurology, Christian Albrecht University of Kiel, 24105 Kiel, Germany

Received 27 August 2003; received in revised form 15 December 2003; accepted 17 December 2003

Kasuistik

Rechtsmedizin 2003 · 13 · 157–160  
DOI 10.1007/s00194-003-0188-4  
Online published: 15. März 2003  
© Springer-Verlag 2003

N. von Wurmb-Schwark · E. Simeoni · M. Matthiesen · L. Wessel · M. Oehmichen  
Institut für Rechtsmedizin, Universitätsklinikum Kiel

**Komplikationen in der Vaterschaftsbegutachtung durch reduzierten Untersuchungsauftrag**

# II. L'analyses de traces : Quelles difficultés ?

## II. Trace analysis: difficulties

- Etablir de nouvelles méthodes / Establishing new methods
- Optimiser les méthodes existantes / Optimizing of existing methods
- Mettre à l'essai des méthodes dans des conditions difficiles / Testing of methods on difficult conditions



Legal Medicine 5 (2003) S169–S172  
www.elsevier.com/locate/legalmed

LEGAL  
MEDICINE

Extraction and amplification of nuclear and mitochondrial DNA from ancient and artificially aged bones

Nicole von Wurmb-Schwark<sup>a,\*</sup>, Michaela Harbeck<sup>b</sup>, Urs Wiesbrock<sup>a</sup>, Inge Schroeder<sup>b</sup>, Stefanie Ritz-Timme<sup>a</sup>, Manfred Oehmichen<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Institute of Legal Medicine, Christian-Albrechts-University of Kiel, Arnold-Heller-Strasse 12, 24105 Kiel, Germany  
<sup>b</sup>Department of Zoology and Anthropology, Christian-Albrechts-University of Kiel, Kiel, Germany

Int J Legal Med (2011) 125:891–894  
DOI 10.1007/s00414-010-0537-2

SHORT COMMUNICATION

### Genetic identification of highly putrefied bodies using DNA from soft tissues

Thorsten Schwark · Anke Heinrich ·  
Nicole von Wurmb-Schwark



Forensic Science International 126 (2002) 34–39



www.elsevier.com/locate/forensic

### Quantification of human mitochondrial DNA in a real time PCR

N. von Wurmb-Schwark<sup>a,\*</sup>, R. Higuchi<sup>b</sup>, A.P. Fenech<sup>c</sup>, C. Elfstroem<sup>b</sup>,  
C. Meissner<sup>d</sup>, M. Oehmichen<sup>a</sup>, G.A. Cortopassi<sup>e</sup>

<sup>a</sup>Institute of Legal Medicine, Christian Albrecht University of Kiel, 24105 Kiel, Germany  
<sup>b</sup>Roche Molecular Systems, 1145 Atlantic Avenue, Alameda, CA 94501, USA  
<sup>c</sup>Department of Statistics, Kerr Hall, UC Davis, Davis, CA 95616, USA  
<sup>d</sup>Institute of Legal Medicine, Medical University of Luebeck, 23562 Luebeck, Germany  
<sup>e</sup>VM: Molecular Biosciences, UC Davis, 1311 Haring Hall, Davis, CA 95616, USA

Received 20 July 2001; received in revised form 14 January 2002; accepted 24 January 2002

Forensic Science International: Genetics Supplement Series 2 (2009) 253–254

Contents lists available at ScienceDirect



Forensic Science International: Genetics Supplement Series

journal homepage: www.elsevier.com/locate/FSIGSS

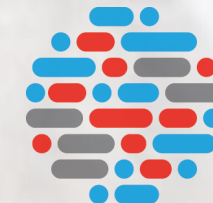


Research article

### Genetic identification of fire deaths

Anke Heinrich<sup>\*</sup>, Thorsten Schwark, Eva Simeoni, Nicole von Wurmb-Schwark

Institut of Legal Medicine, Christian-Albrechts-University of Kiel, Arnold-Heller-Str. 12, 24105 Kiel, Germany



**ForGen**  
Forensische Genetik und Rechtsmedizin  
am Institut für Hämatopathologie GmbH

# III. L'analyse de traces : Le problème des contaminations

## III. Trace analysis: contamination issues

- La contamination est un problème important en analyse médico-légale / *Contamination is a serious problem in forensic analysis*
- Pour faire une analyse fiable et digne de confiance, il est important d'identifier tous les problèmes / *To do reliable and trustfull analysis it is important to know all problems*



ELSEVIER

Legal Medicine 10 (2008) 125–130

LEGAL  
MEDICINE

www.elsevier.com/locate/legalmed

The impact of DNA contamination of bone samples in forensic case analysis and anthropological research

Nicole von Wurmb-Schwark <sup>a,\*</sup>, Anke Heinrich <sup>a</sup>, Mechthild Freudenberg <sup>b</sup>,  
Michael Gebühr <sup>b</sup>, Thorsten Schwark <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Legal Medicine, Christian-Albrechts-University of Kiel, 24105 Kiel, Germany  
<sup>b</sup> Schloß Gottorf, Schleswig, Ger

Received 8 August 2007; received in revised form 10 September 2007  
Available online 26 November 2007

Forensic Science International 216 (2012) 121–126

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Forensic Science International

journal homepage: www.elsevier.com/locate/forsciint



### Phantoms in the mortuary—DNA transfer during autopsies

T. Schwark <sup>a,1,\*</sup>, M. Poetsch <sup>b,1</sup>, A. Preusse-Prange <sup>a</sup>, T. Kamphausen <sup>b</sup>, N. von Wurmb-Schwark <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Legal Medicine, University Hospital of Schleswig-Holstein, Arnold-Heller-Str. 12, 24105 Kiel, Germany  
<sup>b</sup> Institute of Legal Medicine, University Hospital Essen, Germany

Forensic Science International: Genetics Supplement Series 2 (2009) 185–186

Contents lists available at ScienceDirect



ELSEVIER

Forensic Science International: Genetics Supplement Series

journal homepage: www.elsevier.com/locate/FSIGSS

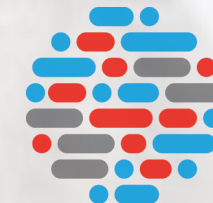


Research article

The problem of DNA contamination in forensic case work—How to get rid of unwanted DNA?

A. Preuß-Prange <sup>a,\*</sup>, R. Renneberg <sup>b</sup>, T. Schwark <sup>a</sup>, M. Poetsch <sup>c</sup>, E. Simeoni <sup>a</sup>, N. von Wurmb-Schwark <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Institute of Legal Medicine, University Hospital Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Germany  
<sup>b</sup> Institute of Experimental Medicine, Christian-Albrechts-University Kiel & University Hospital Schleswig-Holstein, Campus Kiel and Graduate School Human Development in Landscapes, Christian-Albrechts-University Kiel, Germany  
<sup>c</sup> Institute of Legal Medicine, University Hospital of Essen, Germany



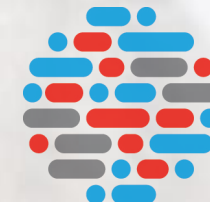
ForGen  
Forensische Genetik und Rechtsmedizin  
am Institut für Hämatopathologie GmbH

# Notre objectif

*Our Focus*

- I. Analyse de Parenté / *Kin ship analysis*
- II. Analyse de trace à partir de quantités infimes d'ADN. / *Trace analysis; special: minute amounts of DNA (single hairs, bone fragments, swabs from smooth surfaces...)*
- **III. Génétique Animale / *Animal genetic:***
  - **Projet de recherche : établir un test génétique similaire à celui existant pour les humains adapté aux "animaux d'intérêt médico-légal".**

*/ Research project: establishing genetic assay just as for human beings for "animals of forensic interest"*



**ForGen**  
Forensische Genetik und Rechtsmedizin  
am Institut für Hämatopathologie GmbH

# CHIENS : canis lupus familiaris

*Dogs: canis lupus familiaris*

- Les Canidés

- Loup / *wolf*
- Coyote
- Jackal (chien Sauvage / *wild dog*)
- Renard / *Fox*
- Domestique : Chien / *Domestic: dog*



# Contexte Scientifique

*Scientific background*

## Thèse de doctorat / *Doctoral thesis:*

- Début de thèse : échantillonnage d'environ **800 chiens** (races pures & mélangées – d'origines connues & inconnues). / *Start: sampling of about 800 dogs (pure breeds and mixtures (partly known, partly unknown origin))*
- Détection de profils génétiques spécifiques / *Detection of specific genetic profiles*
- Statistiques de populations, construction d'une base de donnée propre / *Populations statistics, built an own database*
- Création de différents groupes / *Set up of different groups:*
- Actuellement : environ **2000** ensembles de données sur + de 160 races de : chiens, loups, renards, Jackals et hybrides / *about 2000 datasets from >160 dog breeds, wolves, foxes, jackals, hybrids*

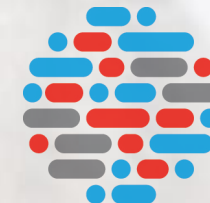




# Origine des échantillons

*Sample origin*

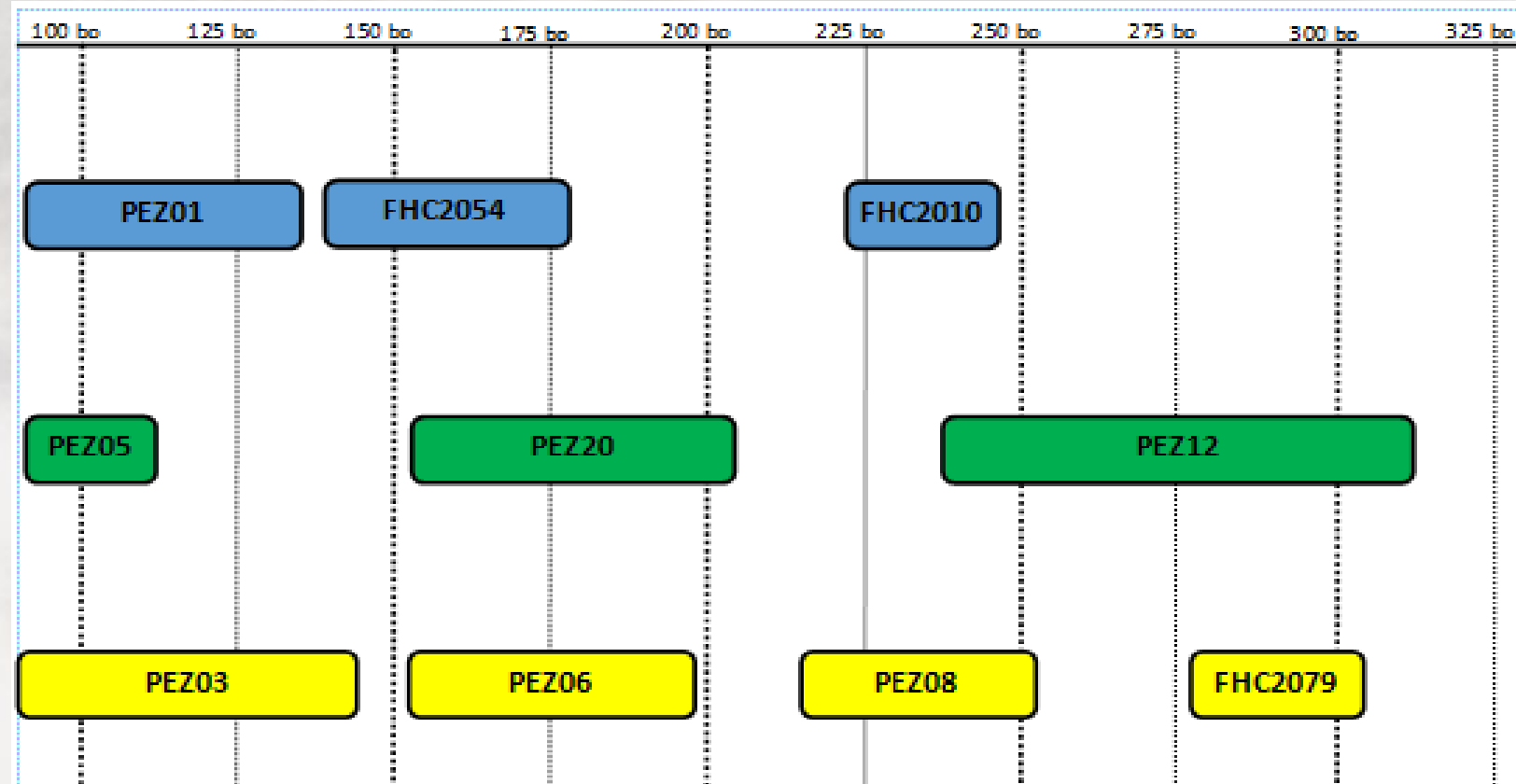
- **Important: Une source fiable d'échantillons** / *Important: trustfull source of samples*
  - Chiens purs : issus d'élevages / *Pure Dogs: from breeders*
  - Chiens purs et croisés : par des amis de confiance / *Pure dogs and mixtures: From friends we could trust*
  - Renards : de chasseurs locaux et de données issues de la littérature scientifique / *Fox: from local hunters and also data from the scientific literature*
  - Loups : de zoos partout en Allemagne et Autriche / *Wolf: from zoos all over Germany and Austria*
  - De chercheurs de confiance / *From also trustful researcher (russian and baltic origin)*
  - Loups Gris / *Grey wolves*
  - *Canis lupus arctos, lycaon, albus*



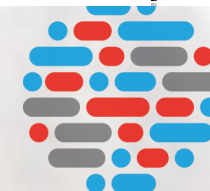
# Choix des Marqueurs Génétiques

*Choice of markers*

- 10 marqueurs **STR** / *10 STR-Marker*
- **Les STRs** sont autement polymorphes / *STRs are highly polymorphic*
- Utilisés en génétique médico-légale humaine / *Used in human forensic genetics*
- Faciles à détecter / *Very good to detect*
- Très sensibles / *Highly sensitive*



**Microsatellites STR** : Short Tandem Repeat  
= Marqueurs de choix de l'ADN

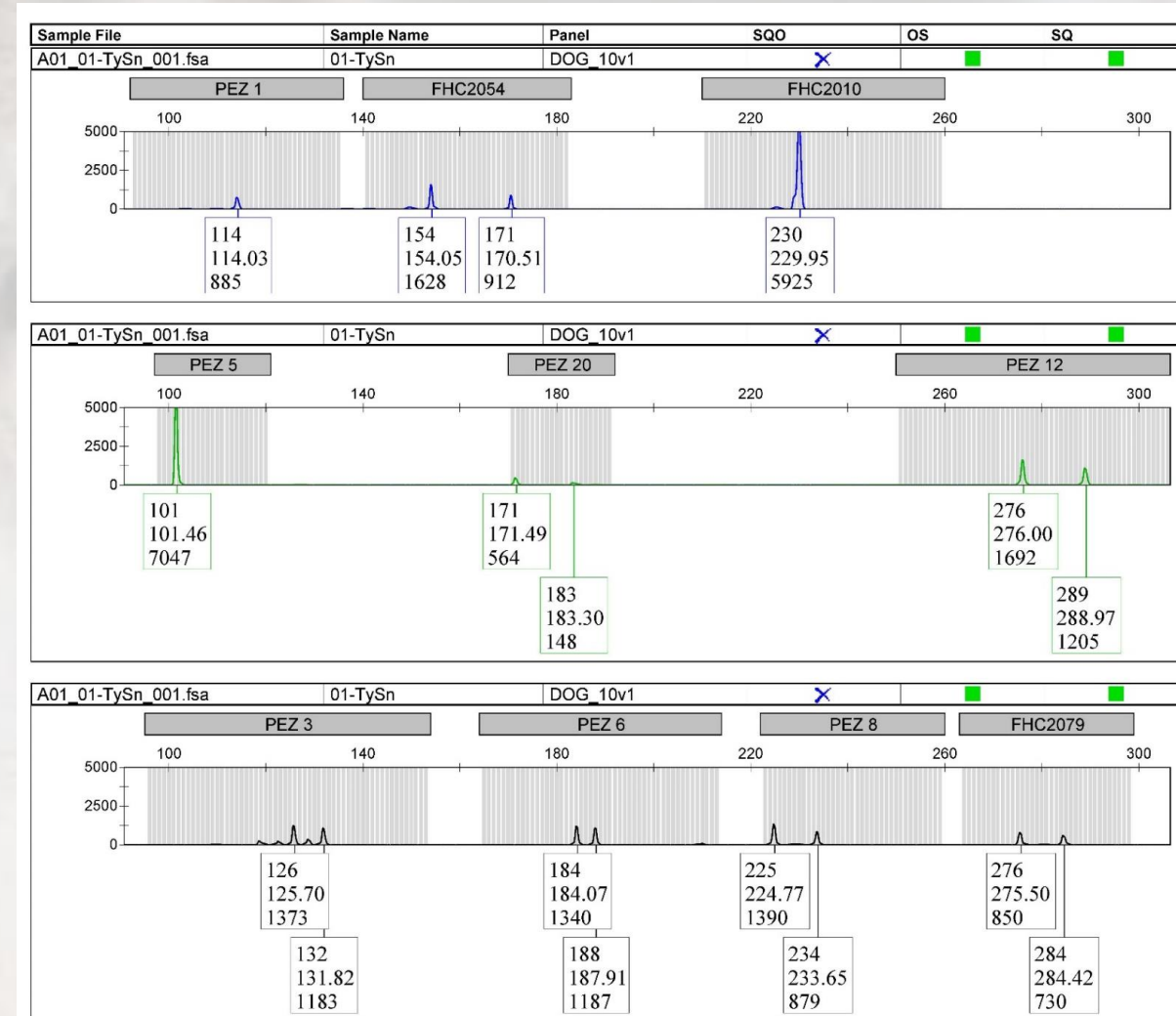


**ForGen**  
Forensische Genetik und Rechtsmedizin  
am Institut für Hämatopathologie GmbH

# STR spécifiques aux chiens/canidés: pouvoir discriminant

*Canine specific STRs: power of discrimination*

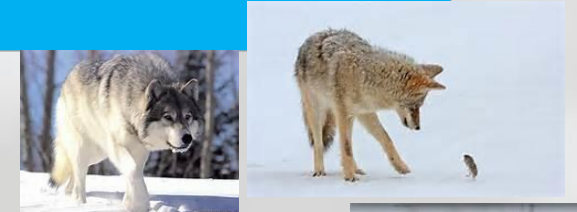
- **Pourquoi 10 marqueurs ?** / *Why only 10???*
- Utiliser 10 marqueurs avec notre base de données a un pouvoir discriminant de **1/10.000.000** / *Using our database 10 markers do have a discrimination power of 1/10.000.000*
- C'est suffisant pour nos objectifs / *Sufficient for our purpose*
- Cela donne un indice de différenciation (**FST Value**) de **0,52** entre le chien et le loup / *for differentiation of our dogs from the wolf*



# Application du protocole d'essai spécifique aux canidés

*Application of the canidae-specific assay*

- Identifier le canidé ! / *Identification of Canidae!!*
- Déterminer le nombre d'individus  
*Determination of number of individuals*
- Déterminer le sexe / *Sex determination*
- Type de Canidé / *kind of canidae: e.g. fox or hound*
  - Si c'est un chien, de quelle race ? *If dog: what breed?*
  - Si c'est un loup, de quel type ? *If wolf: what kind?*
  - Peut-être un individu croisé ? *Maybe a mixture?*



# Discrimination entre les groupes de canidés

*Discrimination between the canine groups*

- En utilisant 10 marqueurs STR, il est facile de distinguer le chien, le renard et le loup et les différentes races/espèces. */Using 10 STR markers, we can easily distinguish between dog and fox and wolf and between different breeds/species*
- En utilisant une **analyse d'association** et un modèle mathématique (réalisé par de nombreux groupes de recherche). */Using an association analysis and a mathematical model (as it is done by many other research groups, „structure“)*
- Comment cela fonctionne ? */How does it work ?*
  - **1ere étape** : Déterminer les modèles génétiques pour différents groupes (par ex: teckel & caniche, chien & loup ou renard). */First step: Determine genetic patterns for different groups (here e.g. dachshound and poodle, dog and wolf or fox)*
  - Identifier les similitudes & différences */ Find similarities and differences*
  - Réaliser une analyse statistique, déterminer la fréquence de chaque marqueur */ Do statistical analysis, determine frequencies of different markers*
  - **Deuxième étape** : Réaliser une analyse sur un animal inconnu */ Second step: do analysis on an unknown animal*
  - Comparer ces modèles aux autres modèles spécifiques pour différents groupes */ Compare this patterns to the others specific for different groups*



**ForGen**

Forensische Genetik und Rechtsmedizin  
am Institut für Hämatopathologie GmbH

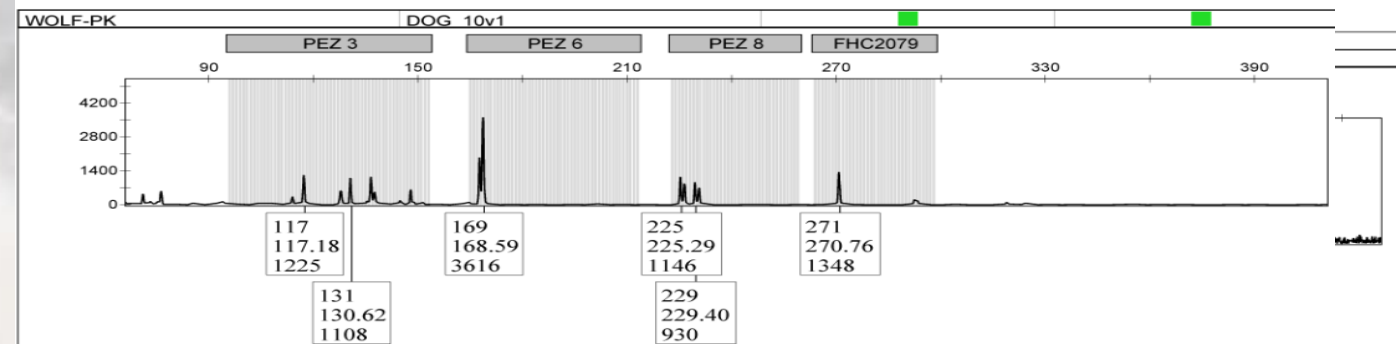
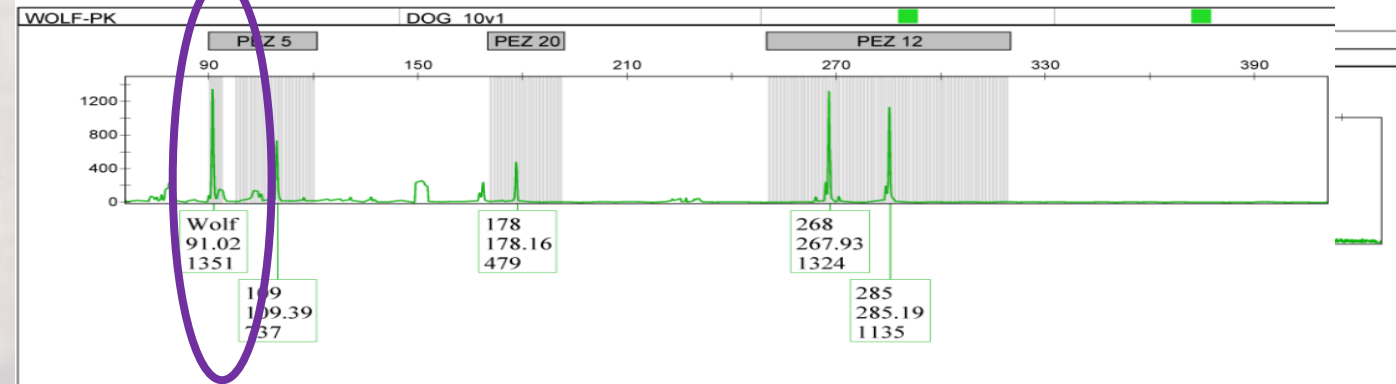
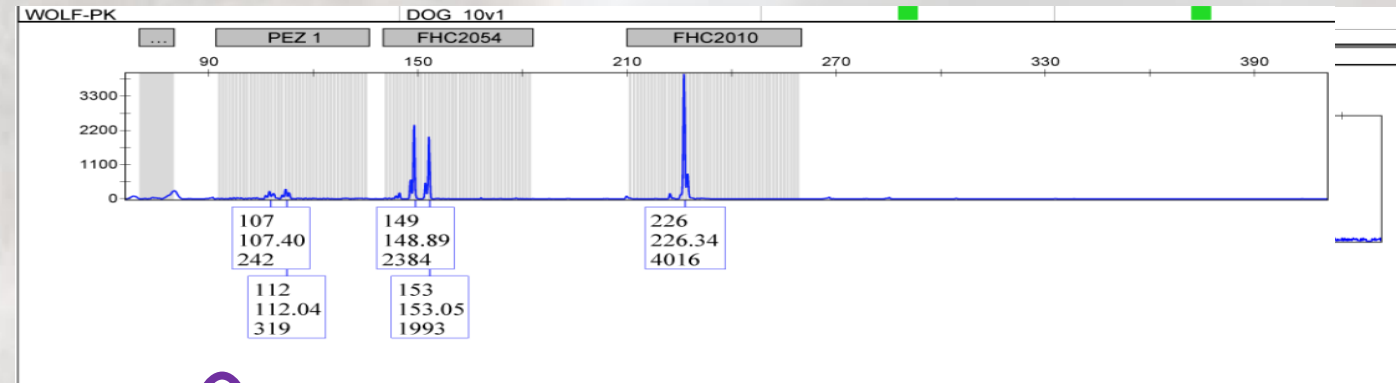
# Chien / Renard / Loup

Dog/Fox/Wolf

- Génotyper un chien / *Typing a dog !*

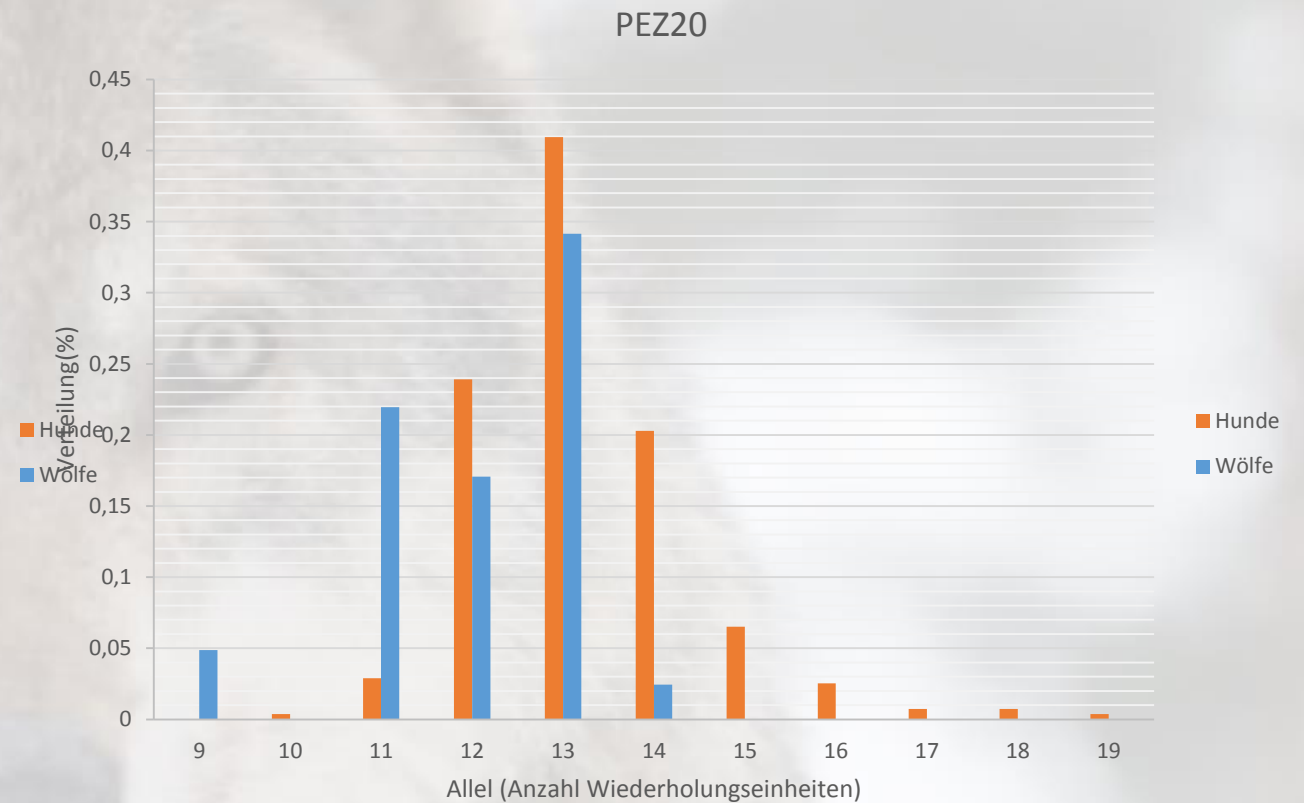
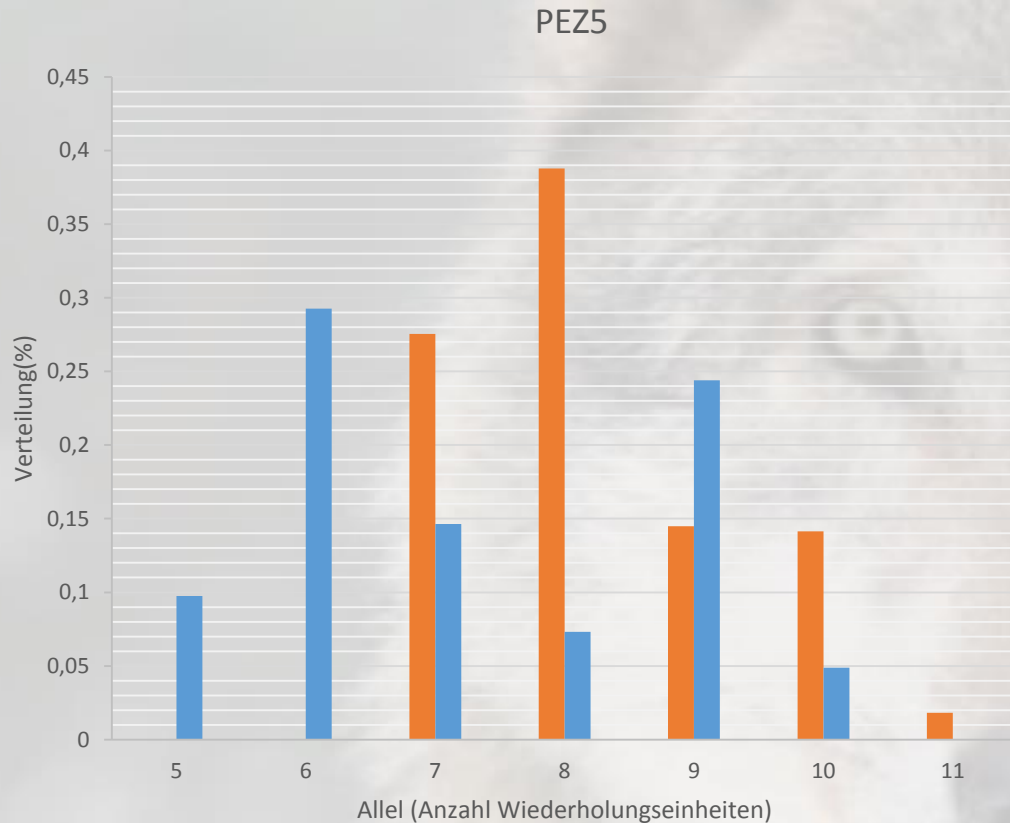
- Génotyper un Renard / *Typing a fox !*

- Génotyper un loup / *Typing a wolf !*



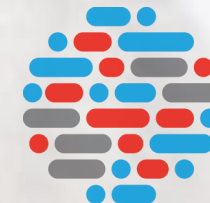
# Analyse Génétique de loups et de chiens

Genetic analysis of wolves and dogs



Des signaux spécifiques au loup ?  
Des signaux spécifiques au chien ?  
*Wolf-specific signals? Dog-specific signals? Shared signals!*

**Des signaux**  
**partagés !**



**ForGen**  
Forensische Genetik und Rechtsmedizin  
am Institut für Hämatopathologie GmbH

# L'ascendance des chiens

*Cave: ancestry of dogs*

- Chien-Loup Tschécoslovaque

*/Czech Wolfhound (29 %)*



- Chien-Loup de Sarloos */Saarloos*

*Wolfdog (30 %)*



- ELO */Elo (35 %)*



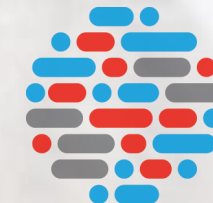
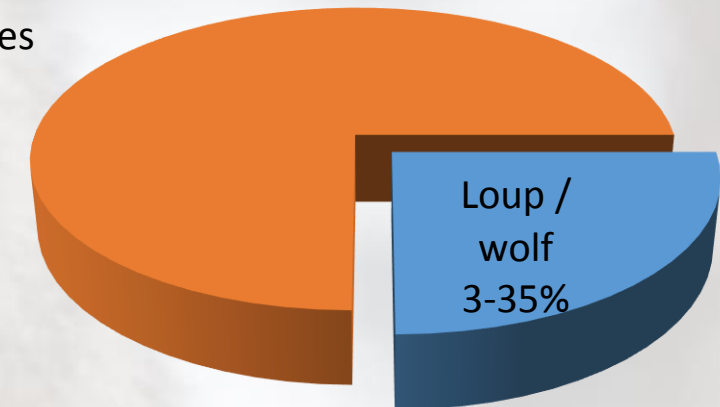
- Spitz-Loup */Wolfspitz (35 %)*



**Similarités génétiques avec le Loup**

*/ Genetic similarity to wolf*

>160  
races



**ForGen**  
Forensische Genetik und Rechtsmedizin  
am Institut für Hämatopathologie GmbH



# Allèles spécifiques du loup

*Wolf-specific alleles*

Prenons l'allèle 92 bp / E.g. 92 bp

Et l'allèle 96 bp / E.g. 96 bp

Décrits par d'autres groupes de travail

Described by different other working groups

67% de notre groupe loups „Russes“ affiche l'allèle 92 bp. /67 % of our „russian“ wolf group display 92 bp allele

60% de notre groupe de loups „baltiques“ affiche l'allèle 96 bp / 60 % of our “baltic“ wolf group display 96 bp allele

Aucun de nos loups américain (*Timberwolves*) n'affiche les allèles 92 ou 96 bp / None of our Timberwolves display 92 or 96 bp

Aucun de nos loups de Zoos n'affiche l'allèle 92 bp / None of our wolves from zoos display 92 bp

**L'allèle 92 bp est très commun dans les échantillons français !** / 92 bp is very common in samples from France!

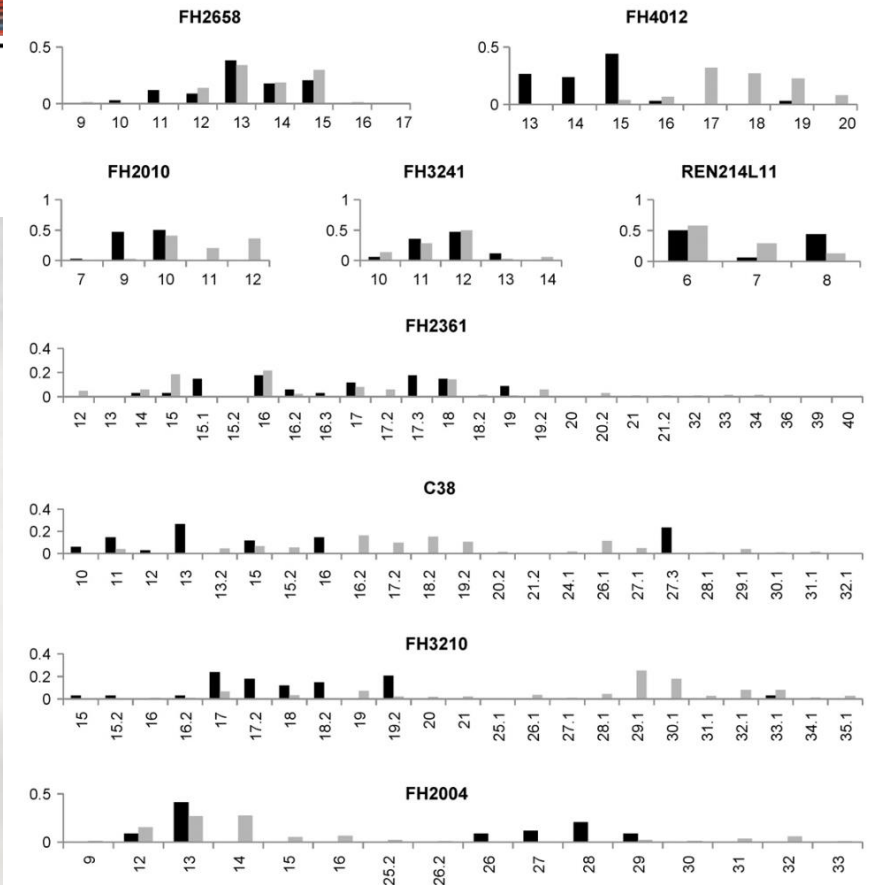
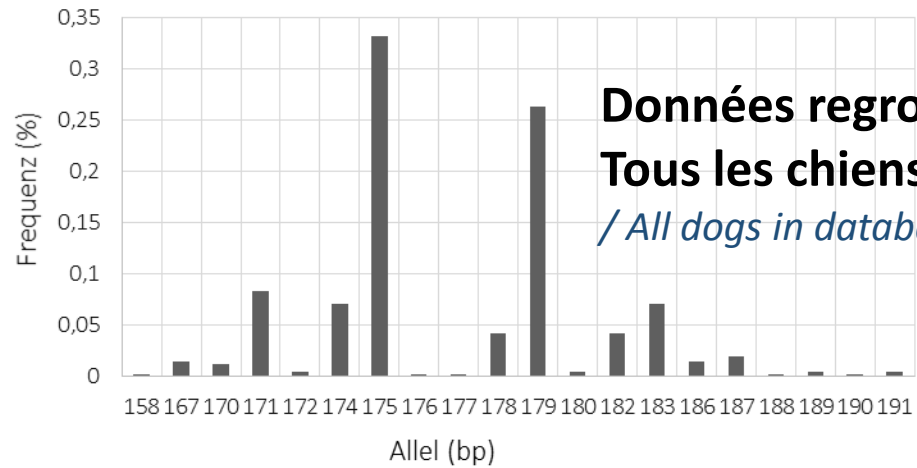


Fig. 2. Allelic frequencies observed in wolf (black) and dog (grey) [9] populations at 9-STR loci.

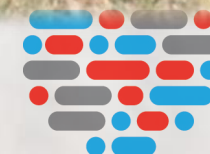
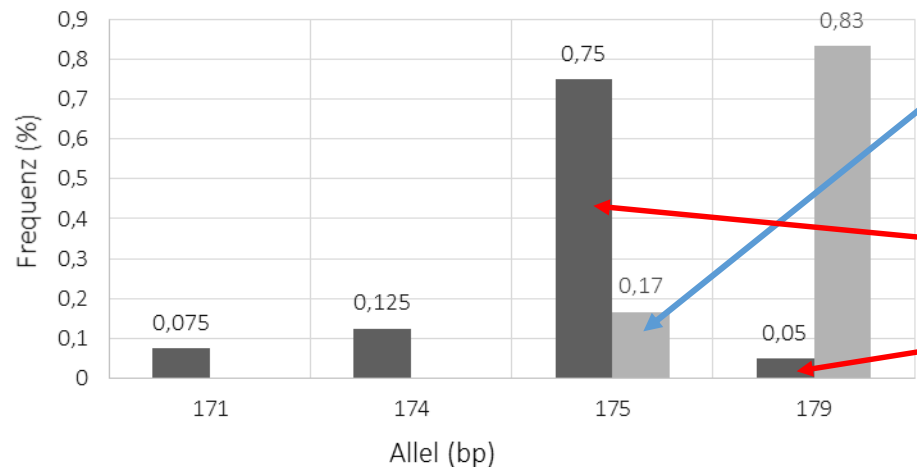
# Distinguer différentes races de chiens

*Distinguishing different dog breeds*

PEZ20



PEZ20



**ForGen**  
Forensische Genetik und Rechtsmedizin  
am Institut für Hämatopathologie GmbH

# Spécificités de la race canine

*Specification of dogs race*

- Met en évidence de bons écarts entre différentes races / Shows good differences between different races
- Met en évidence les races pures : par exemple le Bouledogue Français / Shows pure breeds: e.g. french bulldog



MischSTR v1.5.9 (c) 2014 by PetGene Group GmbH

Schritt 1: **Generiere Daten**, **Exclude Generierung**, **Rassen in der Datenbank: 81**, **Zeige**

Schritt 2: **Eingabe der Multi-Plex**, **Zertifikate erstellen**

Schritt 3: **Komplex-Analyse**, **Korrektur**, **NEU**

Rasse	PEZ12	PEZ12	Übereinstimmungen	WI	WI gesamt
Französische Bulldogge	276	289	1	0,99998283	99,9999
Deutsch-Drahthaar	0	289	0,65	0,99999999	65
Golden Retriever	276	289	0,65	0,99999999	65
Jack Russel Terrier	276	0	0,55	0,99999999	55
Parson Russel Terrier	0	0	0,55	0,99999744	55
Labrador Retriever	276	0	0,5	0,99999999	50
Rauhaar-Teckel	0	0	0,5	0,99999999	50
Riesenschnauzer	0	0	0,5	0,98461538	49
American Bulldog	0	0	0,45	0,99993896	45
Collie	0	0	0,45	0,99999618	45
Staffordshireterrier	0	0	0,45	0,99965718	45
Beagle	0	0	0,45	0,98780487	44
Norwich Terrier	0	0	0,4	0,99610894	40
Berner Sennenhund	0	0	0,4	0,99128751	40

# Croisement connu de chiens

*Known Dog mixtures*

- Similitudes génétiques entre différentes races / *Genetic similarities between different races*

**Nanuk!**



# Croisements inconnus de races

*Unknown mix*

- Chien de garde de Hongrie / *Shelter dog from Hungary*

**Pepe!**



**ForGen**  
Forensische Genetik und Rechtsmedizin  
am Institut für Hämatopathologie GmbH

# 10 STRs Suffisent-ils ?

*Are 10 STRs enough?*

- Plus il y en a mieux c'est ? / *The more the better!?!*
- Plus, c'est toujours mieux ?! / *More is always better !?!*

**Ce n'est pas vrai !** / *THIS IS NOT TRUE!*

- Par ex: détermination de la couleur des cheveux, des yeux et de la peau à l'aide de SNPs. / *E.g. determination of hair, eye and skin colour using SNPs*
- Par ex : 2 bons marqueurs hautement discriminants + 1 mauvais marqueur => moins bon pouvoir de discrimination que 2 marqueurs seuls. / *E.g. 2 good highly discriminative markers + 1 bad marker => worse discrimination power than using 2 markers alone*
- Nous pouvons montrer dans une étude très approfondie sur 400 individus du nord de l'Allemagne que beaucoup moins de SNPs (6) peuvent prédire le phénotype aussi bien qu'un nombre beaucoup plus grand (jusqu'à 40). / *We could show in a very thorough study on 400 individuals from North Germany that much less SNPs (6) can predict the phenotype as good as much larger numbers (up to 40)*

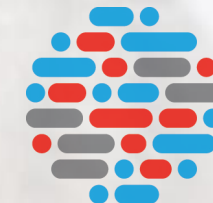
European Journal of Human Genetics (2016) 24, 739–747  
© 2016 Macmillan Publishers Limited. All rights reserved 1018-4813/16  
www.nature.com/ejhg



## ARTICLE

**The more the merrier? How a few SNPs predict pigmentation phenotypes in the Northern German population**

Amke Caliebe<sup>1,4</sup>, Melanie Harder<sup>2,4</sup>, Rebecca Schuett<sup>2,5</sup>, Michael Krawczak<sup>1</sup>, Almut Nebel<sup>3</sup> and Nicole von Wurmb-Schwark<sup>\*2,6</sup>

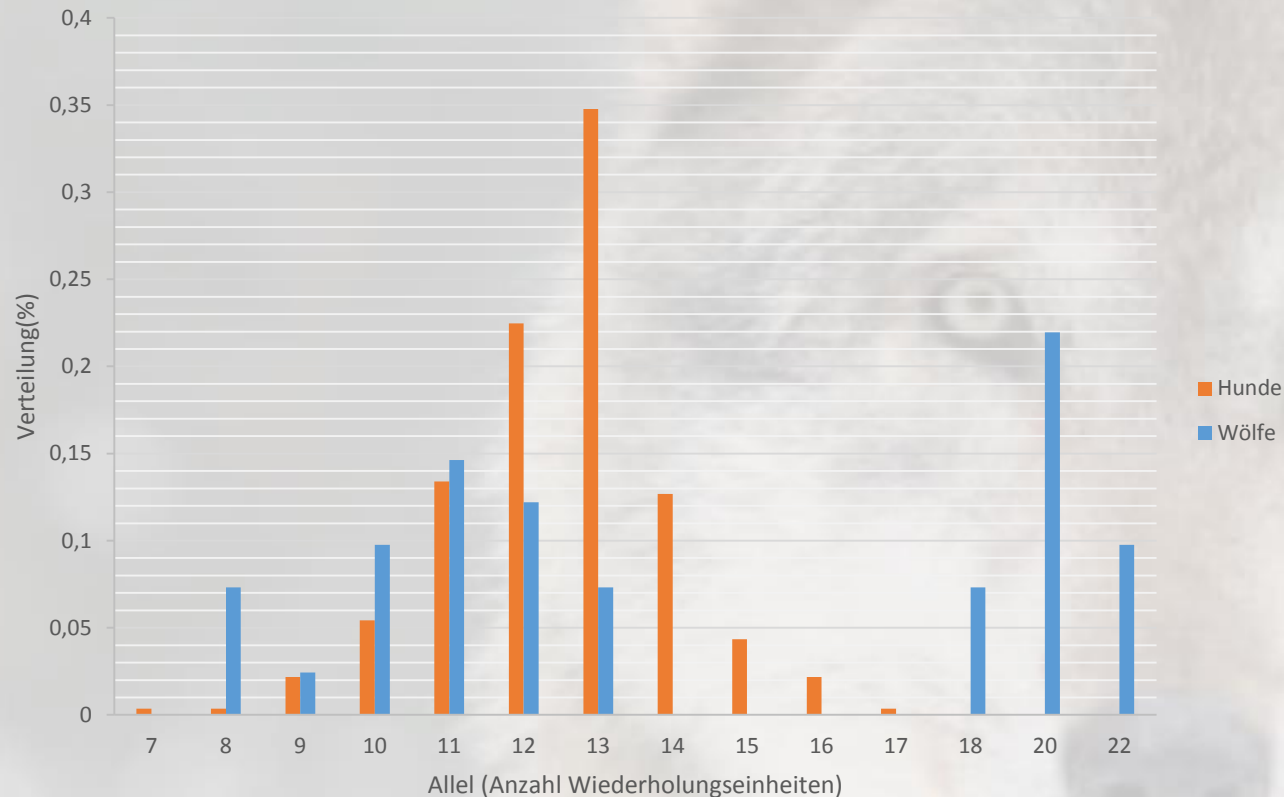


**ForGen**  
Forensische Genetik und Rechtsmedizin  
am Institut für Hämatopathologie GmbH

# Bon marqueur / Mauvais marqueur

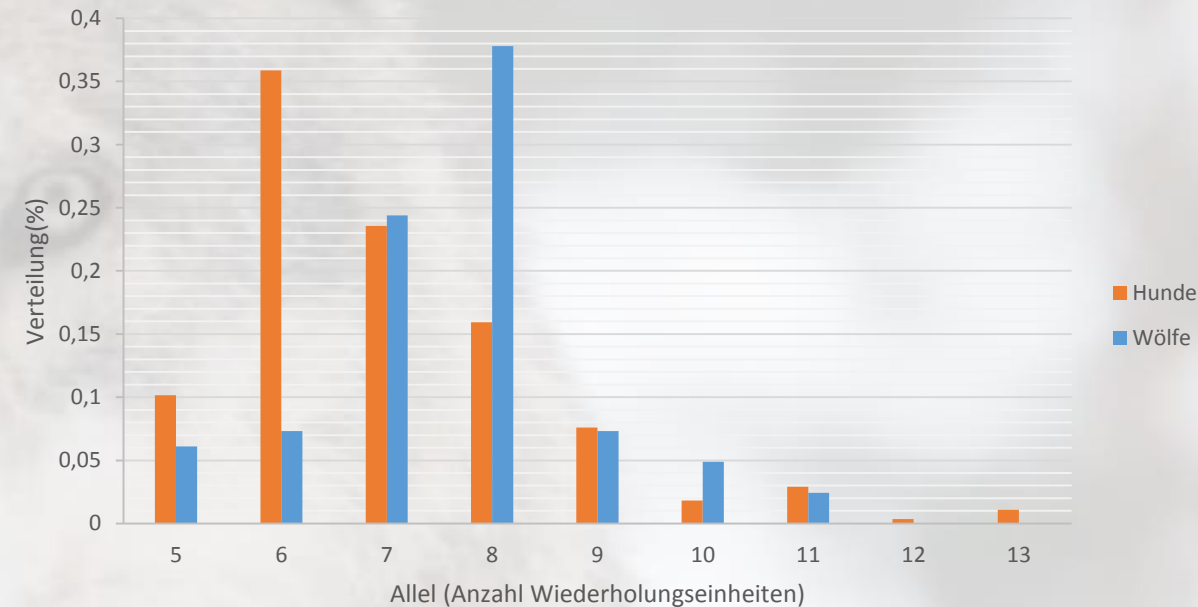
*Good marker / bad marker*

PEZ1



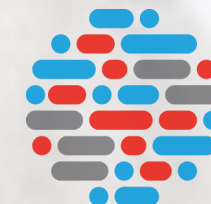
14 allèles, 8 spécifiques, 6 mixtes  
*/14 alleles, 8 specific, 6 „mixed“*

FHC2079



9 allèles, 2 spécifiques, 7 mixtes  
*/9 alleles, 2 specific, 7 „mixed“*

**Beaucoup de mauvais marqueurs peuvent donner de mauvais résultats** / *Many bad markers make a bad assay!*

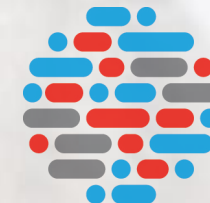


**ForGen**  
Forensische Genetik und Rechtsmedizin  
am Institut für Hämatopathologie GmbH

# Pourquoi devez-vous connaître l'origine de la trace?

*/Why should you know the „origin“ of the trace?*

- Était-ce un loup ou un chien? */Was it a wolf or a dog?*
- Question du dédommagement dans le cas d'un dommage causé par le loup */Question of compensation in case it was a wolf-based „damage“*
- Surveillance: les loups sont-ils présents dans la zone affectée? */Monitoring: are wolves in the affected area?*
- Si **oui**: combien y vivent? Un solitaire? Un couple ou une meute? */If yes: How many live here? The lonely tramp? A couple or a pack?*
- Si **non**: était-ce un chien? Et lequel? (dédommagement par le propriétaire?) */If no: Was it a dog? And which one was it? (compensation by the owner?)*
- Était-ce un chien „sauvage“? Peut être un hybride de chien/loup? */Was it a „wild dog“? May be a mixture of wolf/dog?*





# Les champs d'application: Marques de morsures? Analyses de trace?

*/The field application: Bite marks? Trace analysis?*

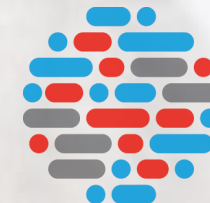
- Détection d'ADN de canidé sur les animaux tués?  
*/Detection of DNA from canidae on slaughtered animals?*
- **Problématique médico-légale** */Forensic/legal medicine issue*
- Longue expérience de la recherche et de l'analyse des traces ADN */Long experience in finding and analyzing DNA traces*
- Problème: ADN fréquemment de faible qualité et quantité */Problem: DNA usually of low quality and quantity*
- **La plus importante avancée dans l'analyse génétique:** */Most important step in genetic analysis*



# L'échantillonnage

*/The sampling*

- Savoir où trouver l'ADN! */Know where to find DNA!*
  - Marques de morsures */Bite marks*
  - Peau ou fourrure/toison déchirée */Torn fur or skin*
  - Penser comme le prédateur! */Think like the predator!*
- Utiliser le bon matériel */Use good materials*
  - Exemple de la lingette absorbante */E.g. self-dry*
  - Hautement absorbant */Highly absorbent*
  - Humidifier si nécessaire */Moisten it when necessary*



**ForGen**  
Forensische Genetik und Rechtsmedizin  
am Institut für Hämatopathologie GmbH

# Évaluation des traces I: résultats

*/Evaluation of traces I: results*

- Déterminer le profil */Determine pattern*
- Procéder à l'analyse d'association */Perform association analysis*



ID	Hit 1	Hit 2	Hit 3
Case 1	Canis Lupus 72%	Canis Lupus let 58 %	Canis Lupus II 49 %
Case 2	Canis Lupus 50%	Schäferhund 44%	-
Case 3	Canis Lupus 50%	Schäferhund 44%	-
Case 4	Labrador-Retriever 35 % Mallinois 33 %	Hovawart 24%	Canis Lupus 15%



# Chien? Loup? Hybride?

/Dog? Wolf? Mix?

- Hybridation de loup et de chiens de bergers connue /*Known mix of wolf (unknown origin) and shephard*
- Allele 92 bp /*92 bp allele*

**Auswertung**

100-80 %: 79-60 %: 59-40 %: 39-20 %: Hundehalter: Z  Word

FCI-1-Hütehunde (65±0 %, z.B. Belgischer Schäferhund) Canis\_lupus\_LET (45±0 %)

PDF  AG

Mischlings-Zertifikat

Fingerprint-Zertifikat

Wolf  Fuchs  
 Hybrid  Mischspur  
 Hund  kein Ergebnis

Riss-Zertifikat

Bemerkung:

Riss: 21.11.2017 Wolf (%): 45 % Fuchis (%):

Übersetztes Profil:

PEZ1: 102/114  
FHC2054: 150/155  
FHC2010: 229  
PEZ5: 92/102]  
PEZ20: 180]  
PEZ12: 270/282  
PEZ3: 117/131  
PEZ6: 171  
PEZ8: 225/229  
FHC2079: 275]

# Évaluation des traces: inconcluantes?

*/Evaluation of traces II: inconclusive?*

- Ni chien, ni loup? */No dog, no wolf?*
- Rien dans nos bases de données de chien ne ressemble à ça, rien dans celles de loup */None of our DB dogs looks like that, none of our wolfs looks like that*
- **Approche médico-légale: expliquer la donnée! Qu'est-ce qui est logique?**  
*Forensic approach: explain the data! What does make sense?*

ID	Kategorie 1	Kategorie 1	Kategorie 3
Case 1	Canis Lupus 72%	Canis Lupus let 58 %	Canis Lupus II 49 %
Fall 2	Canis Lupus 50%	Schäferhund 44%	-
Fall 3	Canis Lupus 50%	Schäferhund 44%	-
Fall 4	Labrador-Retriever 35 % Mallinois 33 %	Hovawart 24%	Canis Lupus 15%



# Évaluation des traces III :

*/Evaluation of traces III:*

- Si ce n'est pas un loup ni un chien... (comparé à nos données) */If it is no a wolf and not a dog...(compared to our data)*
- Peut-il être un hybride? */Could it be a mixture?*
  - 1) est-il possible qu'ils se soient croisés d'un point de vue biologique?  
**OUI!** */1) is it possible that they mate in a biological way? YES!*
  - 2) Est-ce possible en pratique? Vivent-ils ensemble/ peuvent-ils se rencontrer? **OUI!** */2) is it technically possible? Do they live together/can they meet each other? YES!*
  - 3) Y a-t'il des chiens qui soient de possibles partenaires proches? ...  
**Possible!** */3) Are there possible dog partners around? ...Can be!*
  - Y a-t'il une seule bonne raison d'impossibilité? **NON!** */Is there any good reason why not? NO!*

# L'hybridation existe-t-elle en Europe? Et est-ce une menace sérieuse?

*/Does hybridization exist in Europe and is it a serious threat?*

- De rares cas confirmés en Allemagne (2017) */Rare confirmed cases in Germany (2017)*
- Femelle loup et labrador! */Female wolf and Labrador!*
- Hybridation confirmée en France */Confirmed hybridization in France*
- Par ForGen ET indépendamment par Antagene */From ForGen AND independently from Antagene*
- Plusieurs études démontrent l'hybridation loup/chien dans toute l'Europe */Several studies show wolf-dog hybridization all over Europe*

Wie viele «falsche Wölfe» leben in der Schweiz?



Received: 4 July 2017 | Accepted: 3 January 2018  
DOI: 10.1111/evo.12595

ORIGINAL ARTICLE

WILEY **Evolutionary Applications**

Widespread, long-term admixture between grey wolves and domestic dogs across Eurasia and its implications for the conservation status of hybrids

Małgorzata Pilot<sup>1</sup> | Claudia Greco<sup>2</sup> | Bridgett M. vonHoldt<sup>3</sup> | Ettore Randi<sup>2,4</sup> | Włodzimierz Jędrzejewski<sup>5</sup> | Vadim E. Sidorovich<sup>6</sup> | Maciej K. Konopiński<sup>7</sup> | Elaine A. Ostrander<sup>8</sup> | Robert K. Wayne<sup>9</sup>

Thüringen  
Sechs Wolfmischlinge sollen getötet werden

In Thüringen haben eine Wölfin und ein Hund sechs Nachkommen gezeugt - Experten empfehlen die Tötung dieser. Es gibt Proteste.



OPEN ACCESS Freely available online

PLOS ONE

Bucking the Trend in Wolf-Dog Hybridization: First Evidence from Europe of Hybridization between Female Dogs and Male Wolves

Maris Hindrikson<sup>1</sup>, Peep Männil<sup>2</sup>, Janis Ozolins<sup>3</sup>, Andrzej Krzywinski<sup>4</sup>, Urmas Saarma<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Zoology, Institute of Ecology and Earth Sciences, University of Tartu, Tartu, Estonia, <sup>2</sup> Estonian Environment Information Centre, Tartu, Estonia, <sup>3</sup> State Forest Research Institute "Silava", Salaspils, Latvia, <sup>4</sup> Wildlife Park Kadzidlowo, Ruciane Nida, Poland

## Ecology and Evolution

Open Access

Comprehensive study of mtDNA among Southwest Asian dogs contradicts independent domestication of wolf, but implies dog-wolf hybridization

Arman Ardalan<sup>1,4,6,\*</sup>, Cornelya F. C. Kluetsch<sup>1,\*†</sup>, Ai-bing Zhang<sup>1,†</sup>, Metin Erdogan<sup>2</sup>, Mathias Uhlén<sup>3</sup>, Massoud Houshmand<sup>4</sup>, Cafer Tepeli<sup>5</sup>, Seyed Reza Miraei Ashtiani<sup>6</sup> & Peter Savolainen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Gene Technology, KTH-Royal Institute of Technology, Science for Life Laboratory, 171 21 Solna, Sweden

<sup>2</sup>Department of Medical Biology and Genetics, Atyon Kocatepe University, 03200 Atyonkarahisar, Turkey

<sup>3</sup>Department of Proteomics, KTH - Royal Institute of Technology, 106 91 Stockholm, Sweden

<sup>4</sup>Department of Medical Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), 14965/161 Tehran, Iran

<sup>5</sup>Department of Animal Science, Selcuk University, 42031 Konya, Turkey

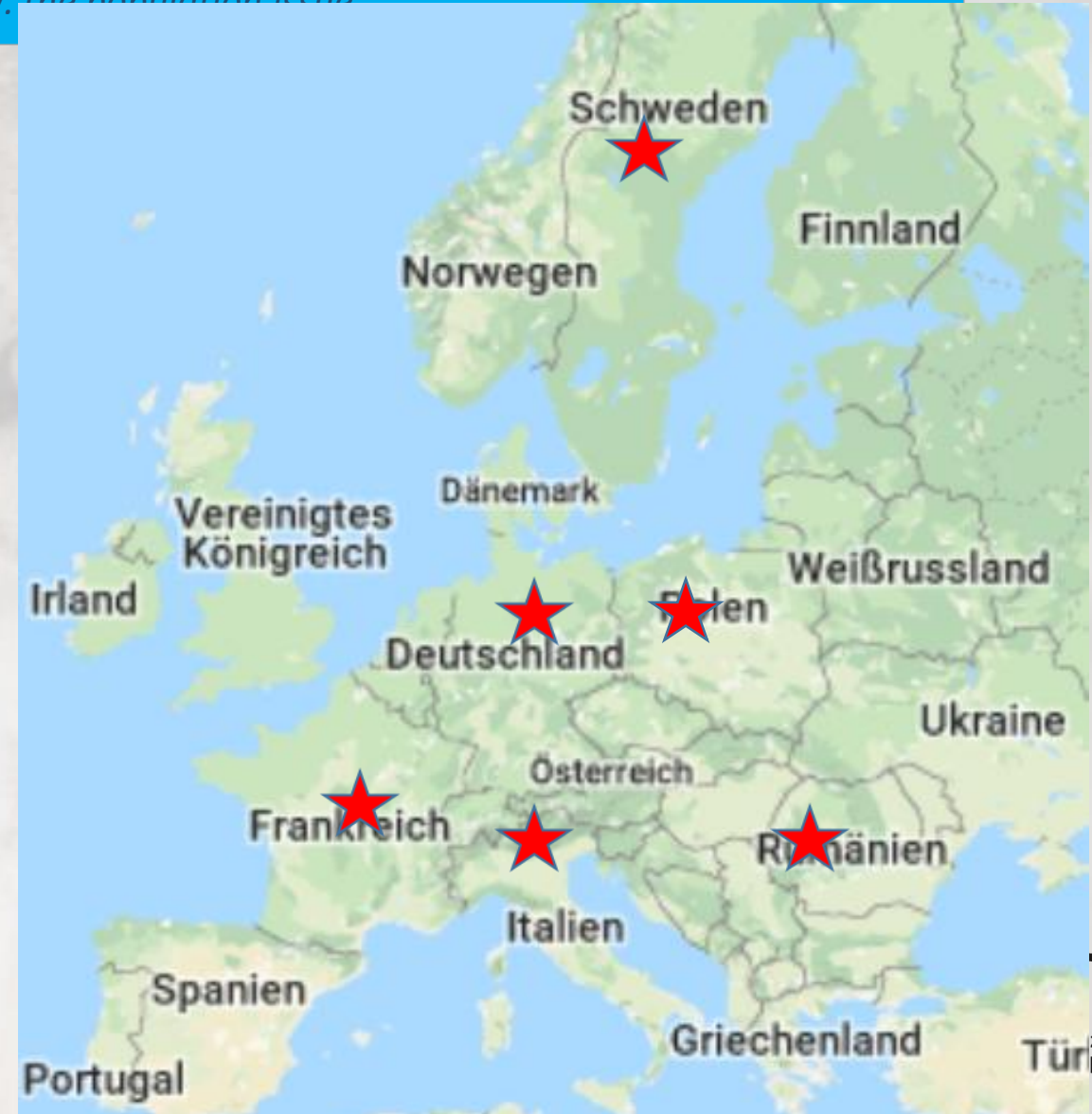
<sup>6</sup>

Gen  
und Rechtsmedizin  
topathologie GmbH

# Comment garder l'intégrité génétique: la problématique de la population

*/How to keep genetic integrity: the population issue*

- Fait: hybrides en Suède, Italie, France, Pologne, Roumanie ... */Fact: hybrids in Sweden, Italy, France, Poland, Rumania....*
- De rares cas en Allemagne */Rare cases in Germany*
- N'y a-t'il aucune menace pour l'intégrité génétique des loups en Allemagne, en Suisse... ? */No thread for the genetic integrity of the wolves in Germany, Switzerland....?*
- En Allemagne: „pas assez de chiens sauvages pour l'accouplement“ */In Germany: „not enough wild dogs for mating“*
- Augmentation du nombres de cas où des chiens ont prétendument tué du bétail */Increasing numbers of cases where dogs allegedly have killed livestock.....*







# Loups en Allemagne

*/Wolves in Germany*



- Le nombre du bétail tué augmente */Number of killed livestock increases*
- De plus en plus de chiens désignés comme responsables */More and more dogs are named to be responsible*
- Les prédateurs s'approchent plus, et apparaissent plus confiants et moins prudents */Predators come closer and seem to be more trustful and less cautious*
- Les personnes concernées arrivent à prendre des photos */Affected people take pictures*



# Comment détecter les hybrides?

*/How to detect hybrids?*

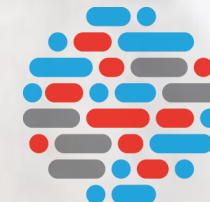
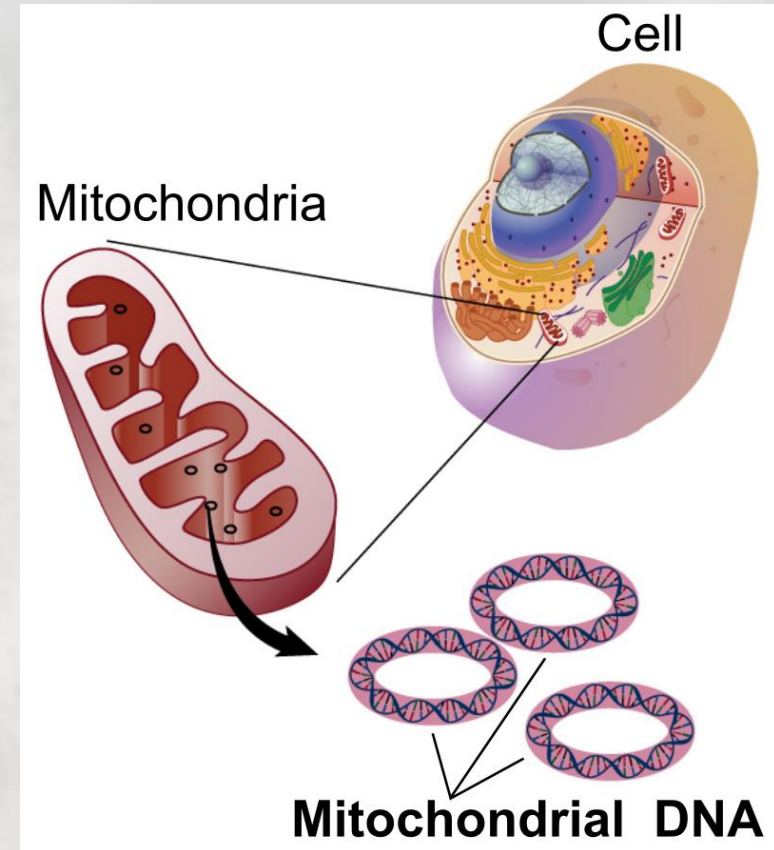
- Il n'y a sûrement pas d'hybrides en France, .....Suisse, .....Allemagne“ */„there are certainly no hybrids in France, ..... Switzerland, .....Germany“*
- Est-il possible de „surclasser“ les hybrides? */Is it possible to „oversee“ hybrids?*
- Oui: Quand votre donnée de référence est déjà altérée (exemple: hybrides reconnus comme des loups purs) */Yes: When you reference data are already spoiled (e.g. hybrids characterized as pure wolves)*
- Oui: Quand vous utilisez la mauvaise méthode */Yes: When you use the wrong method*



# Et l'ADN mitochondrial?

*/What about mitochondrial DNA?*

- L'ADN mitochondrial est **parfait** dans un but médico-légal */Mitochondrial DNA (mtDNA) is **great** in a forensic purpose*
- Il est dans la mitochondrie et est présent plusieurs milliers de fois par cellule */It is within the mitochondria and occurs up to several 1000 x in one cell*
- Donc vous pouvez avoir des résultats depuis des prélèvements hautement dégradés et de petite quantité */Thus you can get results from highly degraded and from tiny amounts of materials*
- Exemple un seul poil, excréments, vieux os... */E.g. single hairs, feces, old bones...*
- Obtenir une séquence D-Loop est techniquement facile dorénavant */Sequencing of the D-Loop is technically easy by now*
- Une méthode préférentielle dans l'analyse ADN */A preferred method in aDNA analysis*

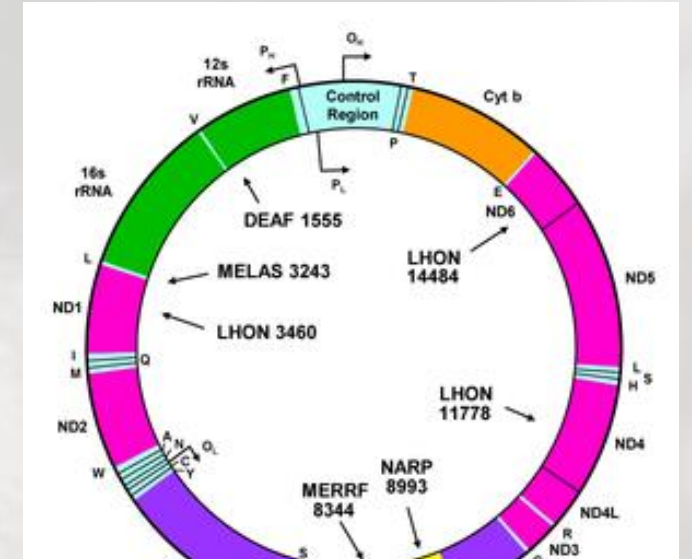


**ForGen**  
Forensische Genetik und Rechtsmedizin  
am Institut für Hämatopathologie GmbH

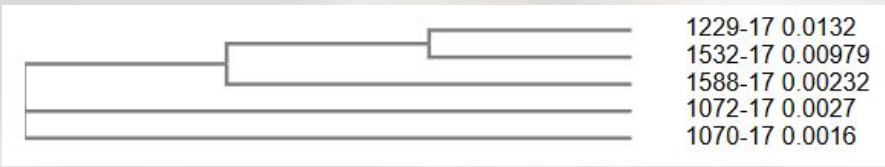
# Séquençage de l'ADN mitochondrial

*/Mitochondrial DNA sequencing*

- Analyse des parties spécifiques du génome de l'ADN mitochondrial (hypervariable/région de contrôle)  
*/Analysis of specific parts of the mtDNA genome (hypervariable/control region)*
- Séquençage de ces parties (détermination de paires de bases spécifiques de l'ADN)  
*/Sequencing of these parts (determination of specific basepairs of DNA)*
- Comparaison de ses séquences aux autres de la base de données (alignement)  
*/Compare these sequences to others in databases (alignment)*
- Détermination d'un haplogroupe et d'un haplotype spécifiques  
*/Determine specific haplogroup and haplotype*



1600-17	*	T	G	A	A	T	T	C	T	T	C	T	T	A	A	A	C	T	A	T	T	C	C	T	G	A	C	C	C	C	T	A	C	A	T	T	A	T	T	G	A	A	T	C	A	C	C	C	C	T		
1597-17	*	C	T	G	A	C	A	T	C	T	T	C	T	T	A	A	A	C	T	A	T	T	C	C	T	G	A	C	C	C	C	T	A	C	A	T	T	A	T	T	G	A	A	T	A	C	C	C	C	T		
1532-17	*	C	T	G	A	A	T	T	C	T	T	C	T	T	-	A	A	A	C	T	A	T	T	C	C	T	G	A	C	C	C	C	T	A	C	A	T	T	A	T	T	G	A	A	T	C	A	C	C	C	T	
1588-17	*	C	T	G	A	A	T	T	C	T	T	C	T	T	A	A	A	C	T	A	T	T	C	C	T	G	A	C	C	C	C	T	A	C	A	T	T	A	T	T	G	A	A	T	C	A	C	C	C	T		
1600-17	A	C	T	G	T	G	C	T	A	T	G	T	C	A	G	T	A	T	T	C	C	A	G	T	A	T	T	C	C	A	G	T	A	T	T	C	C	A	G	T	A	A	A	C	C	C	T	T	C	C	C	T
1597-17	A	C	T	G	T	G	C	T	A	T	G	T	C	A	G	T	A	T	T	C	C	A	G	T	A	T	T	C	C	A	G	T	A	T	T	C	C	A	G	T	A	A	A	C	C	C	T	T	C	C	C	T
1532-17	A	C	T	G	T	G	C	T	A	T	G	T	C	A	G	T	A	T	T	C	C	A	G	T	A	T	T	C	C	A	G	T	A	T	T	C	C	A	G	T	A	A	A	C	C	C	T	T	C	C	C	T
1588-17	A	C	T	G	T	G	C	T	A	T	G	T	C	A	G	T	A	T	T	C	C	A	G	T	A	T	T	C	C	A	G	T	A	T	T	C	C	A	G	T	A	A	A	C	C	C	T	T	C	C	C	T
1600-17	T	T	A	A	T	G	G	T	T	T	G	C	C	C	C	A	T	G	C	A	T	A	A	G	C	A	T	G	T	A	A	A	C	C	C	T	T	C	C	C	T	A	T	T	A	T	C	C	T	T		
1597-17	T	T	A	A	T	G	G	T	T	T	G	C	C	C	C	A	T	G	C	A	T	A	A	G	C	A	T	G	T	A	A	A	C	C	C	T	T	C	C	C	T	A	T	T	A	T	C	C	T	T		
1532-17	T	T	A	A	T	G	G	T	T	T	G	C	C	C	C	A	T	G	C	A	T	A	A	G	C	A	T	G	T	A	A	A	C	C	C	T	T	C	C	C	T	A	T	T	A	T	C	C	T	T		
1588-17	T	T	A	A	T	G	G	T	T	T	G	C	C	C	C	A	T	G	C	A	T	A	A	G	C	A	T	G	T	A	A	A	C	C	C	T	T	C	C	C	T	A	T	T	A	T	C	C	T	T		
1600-17	A	T	C	A	A	C	T	C	A	A	T	C	T	C	A	T	A	T	T	C	A	T	T	C	A	T	T	C	A	G	T	A	A	T	C	A	A	T	T	C	A	A	A	C	C	C	T	T	G	C	T	
1597-17	A	T	T	A	A	C	T	C	A	A	T	C	T	C	A	T	A	G	T	T	C	A	T	T	C	A	T	T	C	A	A	C	A	A	T	A	T	A	T	A	T	A	T	C	C	T	T	G	C	T		
1532-17	A	T	T	A	A	C	T	C	A	A	T	C	T	C	A	T	A	A	T	T	C	A	T	T	C	A	T	T	C	A	A	C	A	A	T	A	T	A	T	A	T	A	T	A	T	C	C	T	T	G	C	
1588-17	A	C	T	A	A	C	T	C	A	A	T	C	T	C	A	T	A	A	T	T	C	A	T	T	C	A	T	T	C	A	A	C	A	A	T	C	A	A	T	A	T	C	C	G	A	A	T	G	C	A	T	
1600-17	C	C	A	A	T	A	A	G	G	G	C	T	T	A	A	T	C	A	C	C	A	T	G	C	C	T	C	G	A	G	A	A	A	C	C	A	T	C	A	A	C	C	C	T	T	G	C	T	C	G		
1597-17	C	C	A	A	T	A	A	G	G	G	C	T	T	A	A	T	C	A	C	C	A	T	G	C	C	T	C	G	A	G	A	A	A	C	C	A	T	C	A	A	C	C	C	T	T	G	C	T	C			
1532-17	C	C	A	A	T	A	A	G	G	G	C	T	T	A	A	T	C	A	C	C	A	T	G	C	C	T	C	G	A	G	A	A	A	C	C	A	T	C	A	A	C	C	C	T	T	G	C	T	C			
1588-17	C	C	A	A	T	A	A	G	G	G	C	T	T	A	A	T	C	A	C	C	A	T	G	C	C	T	C	G	A	G	A	A	A	C	C	A	T	C	A	A	C	C	C	T	T	G	C	T	C			



# But: L'hérédité par l'ADN mitochondrial/nucléaire

*/But: Heridity of mitochondrial/nuclear DNA*

STR  
SNPs

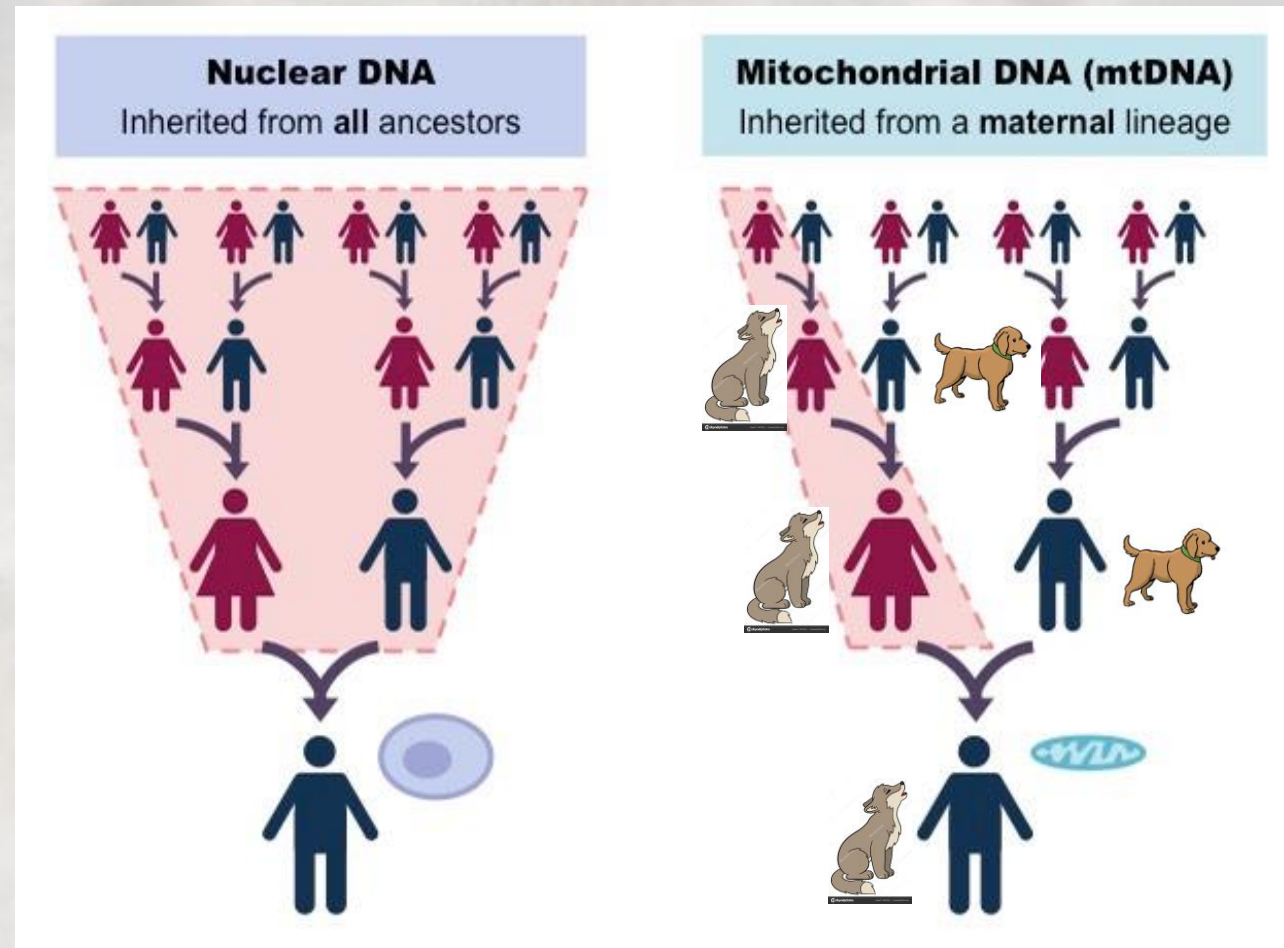
**Recombinaison!** */Recombination!*

Parenté */Kinship*

Individualisation */Individualisation*

Détermination de trace */Trace determination*

Analyse de l'hybridation  
**possible** */Hybridization analysis possible*



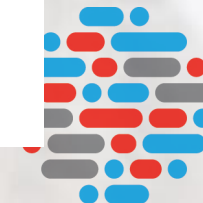
mtDNA control region

**Lignée maternelle!**  
*/Maternal line!*

Lien maternel strict */strict maternal relation*

Détermination de  
l'origine géographique  
*/Determination of geographical origin*

Analyse de  
l'hybridation  
**impossible** */Hybridization analysis impossible*

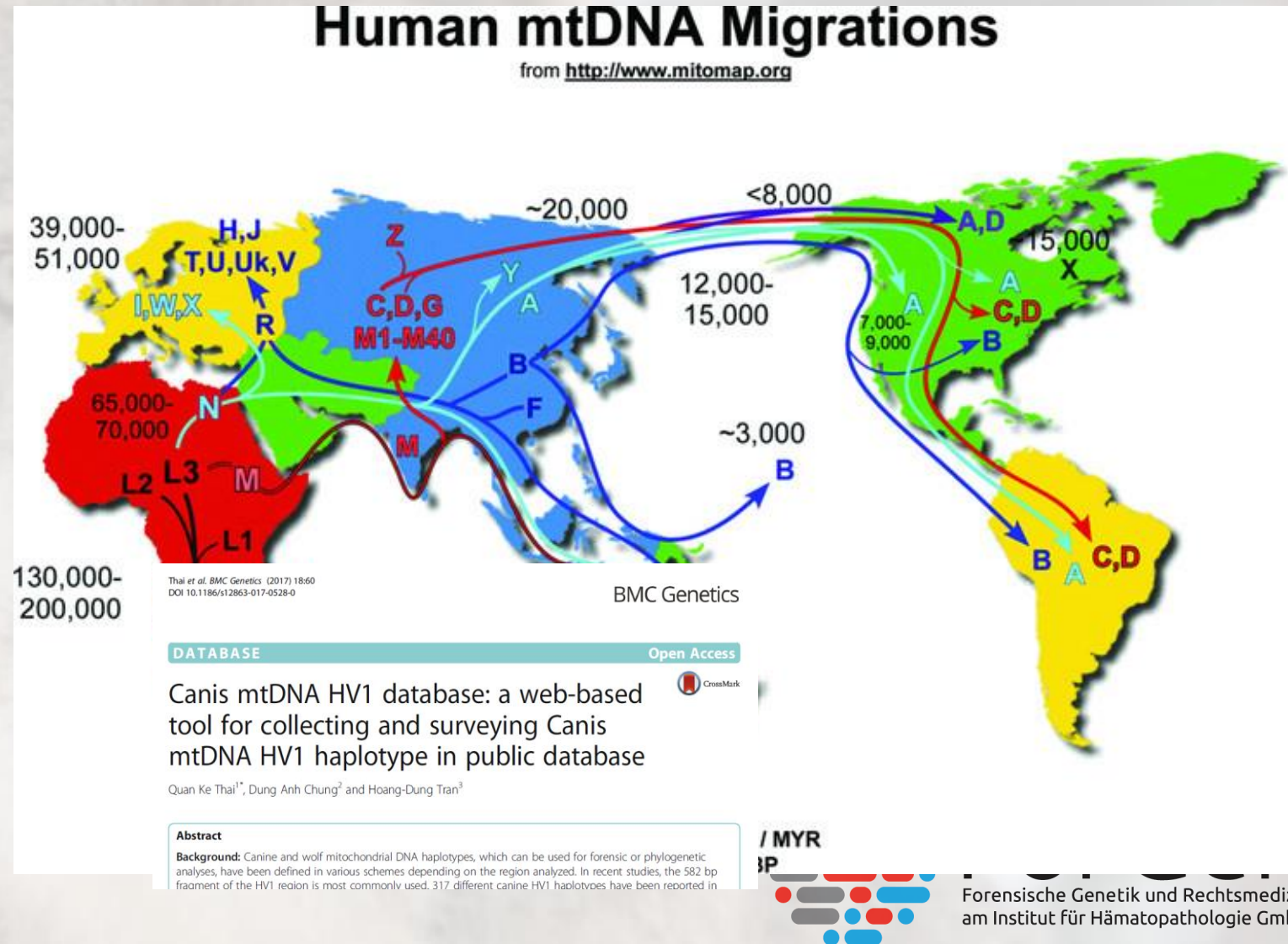


**ForGen**  
Forensische Genetik und Rechtsmedizin  
am Institut für Hämatopathologie GmbH

# Que peut faire l'ADN mitochondrial?

*/What can mitochondrial DNA do?*

- Héritage maternel */Maternal inheritance*
- Classification des halogroupes */Classification of haplogroups*
- Chez l'humain: spécifique pour chaque population */In humans: specific for different populations*
- Montrer l'origine („molecular eve“) */(Shows origin („molecular eve“)*
- Des possibilités similaires pour les canidés */Similar possibilities with canidae*



# L'ADN mitochondrial et les loups

*/Mitochondrial DNA and wolves*

Échantillon du nord de l'Allemagne */Sample from North Germany:*

ADN autosomique  
*/autosomal-DNA*

Analyse d'association  
*/Assoziationsanalysis*

Loup (55±0 %, issu de population russe)  
*/Wolf*  
(55±0 %, russian population)

FCI-2- Molloser (45±0 %, exemple Owtscharka)  
FCI-2-Molloser  
(45±0 %, e.g. Owtscharka)

ADN mitochondrial  
*/Mitochondrial DNA*

Job title: 0059-18

RID [Z2WEY8J8015](#) (Expires on 02-01 14:35 pm)

Query ID [Icl|Query\\_183407](#)  
Description None  
Molecule type nucleic acid  
Query Length 290

Database Name [nr](#)  
Description Nucleotide collection (nt)  
Program [BLASTN 2.8.0+](#) [Citation](#)

Other reports: [Search Summary](#) [Taxonomy reports](#) [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

[+ Graphic Summary](#)  
[- Descriptions](#)

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

[Alignments](#) [Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/> <a href="#">Canis lupus isolate Ukraine mitochondrion complete genome</a>	518	518	97%	4e-143	99%	<a href="#">KJ696397.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Canis lupus familiaris haplotype Be44_2 mitochondrion partial genome</a>	518	518	97%	4e-143	99%	<a href="#">KJ637108.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Canis lupus familiaris haplotype Be44_1 mitochondrion partial genome</a>	518	518	97%	4e-143	99%	<a href="#">KJ637107.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Canis lupus haplotype W21T control region partial sequence mitochondrial</a>	518	518	97%	4e-143	99%	<a href="#">JX508635.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Canis lupus isolate w8latvia cytochrome b gene partial cds: tRNA-Thr and tRNA-Pro genes complete sequence and D-loop partial sequence mitochondrial</a>	518	518	97%	4e-143	99%	<a href="#">JN182063.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Canis lupus isolate w20latvia cytochrome b gene partial cds: tRNA-Thr and tRNA-Pro genes complete sequence and D-loop partial sequence mitochondrial</a>	518	518	97%	4e-143	99%	<a href="#">JN182083.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Canis lupus isolate w10latvia cytochrome b gene partial cds: tRNA-Thr and tRNA-Pro genes complete sequence and D-loop partial sequence mitochondrial</a>	518	518	97%	4e-143	99%	<a href="#">JN182065.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Canis lupus isolate w13latvia cytochrome b gene partial cds: tRNA-Thr and tRNA-Pro genes complete sequence and D-loop partial sequence mitochondrial</a>	518	518	97%	4e-143	99%	<a href="#">JN182068.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Canis lupus familiaris isolate PE8 control region partial sequence mitochondrial</a>	518	518	97%	4e-143	99%	<a href="#">HQ126990.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Canis lupus isolate Tr.CI.D5 tRNA-Thr gene partial sequence: tRNA-Pro gene complete sequence and D-loop partial sequence mitochondrial</a>	512	512	97%	2e-141	99%	<a href="#">KY039993.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Canis lupus familiaris isolate Cf_tdz20 mitochondrion complete genome</a>	512	512	97%	2e-141	99%	<a href="#">KM061576.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Canis lupus familiaris isolate Cf_tdz12 mitochondrion complete genome</a>	512	512	97%	2e-141	99%	<a href="#">KM061569.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Canis lupus familiaris isolate Cf_stp82 mitochondrion complete genome</a>	512	512	97%	2e-141	99%	<a href="#">KM061565.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Canis lupus familiaris isolate Cf_psy2 mitochondrion complete genome</a>	512	512	97%	2e-141	99%	<a href="#">KM061548.1</a>

# L'ADN mitochondrial et les loups II

*/Mitochondrial DNA and wolves II*

Échantillon du nord de l'Allemagne */Sample from East Germany:*

ADN autosomique

*/Autosomal-DNA*

Analyse d'association

*/Assoziationsanalysis*

Impossible,  
Profil hybride, au moins deux animaux  
différents

1 allèle seulement de loup des pays  
baltes

*/Not possible,*

*Mixed profile, at least two different animals*

*1 allele only in wolves from the Baltic*

ADN mitochondrial

*/Mitochondrial DNA*

Query ID: lcl|Query\_115195  
Description: None  
Molecule type: nucleic acid  
Query Length: 277

Database Name: nr  
Description: Nucleotide collection (nt)  
Program: BLASTN 2.7.1+ [Citation](#)

Other reports: [Search Summary](#) [Taxonomy reports](#) [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

[Graphic Summary](#)  
[Descriptions](#)

**Latvia**  
**Estonia**

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

[Alignments](#) [Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Canis lupus x Canis lupus familiaris isolate_ely6 cytochrome b gene, partial cds; tRNA-Thr and tRNA-Pro genes, complete sequence; and D-loop, partial sequence; mitochondrial</a>	494	494	98%	7e-136	99%	<a href="#">JN182126.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Canis lupus isolate_w32latvia cytochrome b gene, partial cds; tRNA-Thr and tRNA-Pro genes, complete sequence; and D-loop, partial sequence; mitochondrial</a>	494	494	98%	7e-136	99%	<a href="#">JN182087.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Canis lupus isolate_w19latvia cytochrome b gene, partial cds; tRNA-Thr and tRNA-Pro genes, complete sequence; and D-loop, partial sequence; mitochondrial</a>	494	494	98%	7e-136	99%	<a href="#">JN182074.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Canis lupus isolate_w5latvia cytochrome b gene, partial cds; tRNA-Thr and tRNA-Pro genes, complete sequence; and D-loop, partial sequence; mitochondrial</a>	494	494	98%	7e-136	99%	<a href="#">JN182060.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Canis lupus isolate_w3latvia cytochrome b gene, partial cds; tRNA-Thr and tRNA-Pro genes, complete sequence; and D-loop, partial sequence; mitochondrial</a>	494	494	98%	7e-136	99%	<a href="#">JN182058.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Canis lupus isolate_w36estonia cytochrome b gene, partial cds; tRNA-Thr and tRNA-Pro genes, complete sequence; and D-loop, partial sequence; mitochondrial</a>	494	494	98%	7e-136	99%	<a href="#">JN182054.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Canis lupus isolate_w28estonia cytochrome b gene, partial cds; tRNA-Thr and tRNA-Pro genes, complete sequence; and D-loop, partial sequence; mitochondrial</a>	494	494	98%	7e-136	99%	<a href="#">JN182046.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Canis lupus isolate_w31estonia cytochrome b gene, partial cds; tRNA-Thr and tRNA-Pro genes, complete sequence; and D-loop, partial sequence; mitochondrial</a>	494	494	98%	7e-136	99%	<a href="#">JN182049.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Canis lupus isolate_w27estonia cytochrome b gene, partial cds; tRNA-Thr and tRNA-Pro genes, complete sequence; and D-loop, partial sequence; mitochondrial</a>	494	494	98%	7e-136	99%	<a href="#">JN182045.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Canis lupus isolate_w10estonia cytochrome b gene, partial cds; tRNA-Thr and tRNA-Pro genes, complete sequence; and D-loop, partial sequence; mitochondrial</a>	494	494	98%	7e-136	99%	<a href="#">JN182028.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Canis lupus isolate_w19estonia cytochrome b gene, partial cds; tRNA-Thr and tRNA-Pro genes, complete sequence; and D-loop, partial sequence; mitochondrial</a>	494	494	98%	7e-136	99%	<a href="#">JN182037.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Canis lupus isolate_w16estonia cytochrome b gene, partial cds; tRNA-Thr and tRNA-Pro genes, complete sequence; and D-loop, partial sequence; mitochondrial</a>	494	494	98%	7e-136	99%	<a href="#">JN182034.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Canis lupus isolate_w12estonia cytochrome b gene, partial cds; tRNA-Thr and tRNA-Pro genes, complete sequence; and D-loop, partial sequence; mitochondrial</a>	494	494	98%	7e-136	99%	<a href="#">JN182030.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Canis lupus isolate_w14estonia cytochrome b gene, partial cds; tRNA-Thr and tRNA-Pro genes, complete sequence; and D-loop, partial sequence; mitochondrial</a>	494	494	98%	7e-136	99%	<a href="#">JN182032.1</a>





- **Génotyper un chien** /*Typing a dog!*

- **Moyenne 78 %** /*Average 78 %*

- **Génotyper un renard** /*Typing a fox!*

- **Moyenne 71 %** /*Average: 71 %*

- **Génotyper un loup** /*Typing a wolf!*

- **Moyenne 70 %** /*Average: 70 %*

Tier	Hit 1	Hit 2	Hit 3
1 c lupus lupus	C II 59 %	CII 50	Wolfspitz 40 %
2 c lupus lupus	C II 55 %	Labrador Retriever 45 %	C I Iycaon 40 %
3 c lupus lupus	C II lupus Rus 60 %	C I I 50 %	Belgischer Schäferhund 35 %
4 C I Iycaon	C I Iycaon 75 %	C I I 55 %	Wolfspitz 45 %
5 C I Iycaon	C I Iycaon 60 %	C I I 35 %	Wolfspitz 45 %
6 C I Iycaon	C I Iycaon 70 %	C I 40 %	Sallus Wolfshund 35 %
7 C I Iycaon	C I Iycaon 65 %	Belgischer Schäferhund 40 %	C I 35 %
8 C I Iycaon	C I Iycaon 65 %	Deutscher Schäferhund 35 %	C I 30 %
9 C I Iycaon	C I Iycaon 60 %	C lupus albus 35 %	Sallus Wolfshund 35 %

# Synthèse: le concept médico-légal

*/Summary: the forensic concept*



- Soyez aussi honnête que possible! */Be as honest as possible!*
- Collez aux résultats et essayez de les expliquer */Stick with the results and try to explain them*
- Qu'est-ce qui est logique? */What makes sense?*
- Pouvez-vous expliquer les résultats? */Can you explain the results?*
- Soyez objectif, sans aucun préjugé */Be objective, without any bias*
- **Ne soyez pas focalisé sur le résultat d'ensemble!!!** */Do not be interested on the overall result!!!*
- **Ex: Dans un dossier de meurtre: s'il y a un ADN détectable, peut-il être réellement et de manière fiable relié au suspect? Y a-t'il une raison qui s'y oppose?** */E.g. murder case: if there is DNA detectable, can it really and reliably be linked to the suspect? Are there any reasons against this?*
- **=> même si nous travaillons pour notre client, nous sommes engagés au résultat de notre travail** */even though we work for our client, we are committed to the results of our data!*

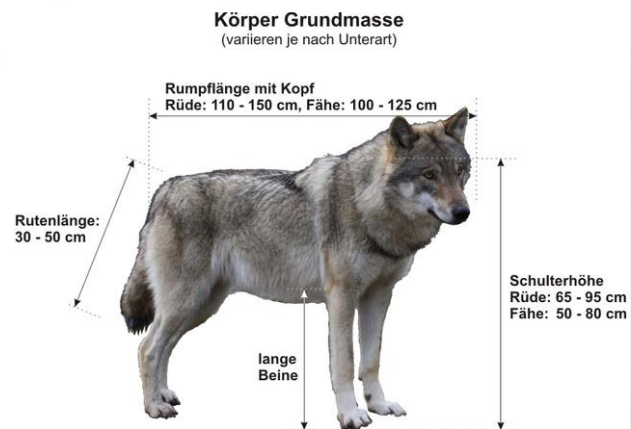
# Comment protéger l'intégrité génétique?!

*/How do protect genetic integrity?!*

- Définir des groupes de référence raisonnables */Define reasonable reference groups*
- Ex: phénotype: fourrure, couleur, queue, oreilles */E.g. phenotype: fur, colour, tail, ears*
- Concordance entre la morphologie et les expertises génétiques pour définir les vrais loups */cooperation between morphology and genetic experts to define real wolves*
- Et aussi une coopération avec les biologistes comportementalistes: les hybrides sont-ils plus dangereux? */Also cooperation with behavioral biologists: are hybrids more*

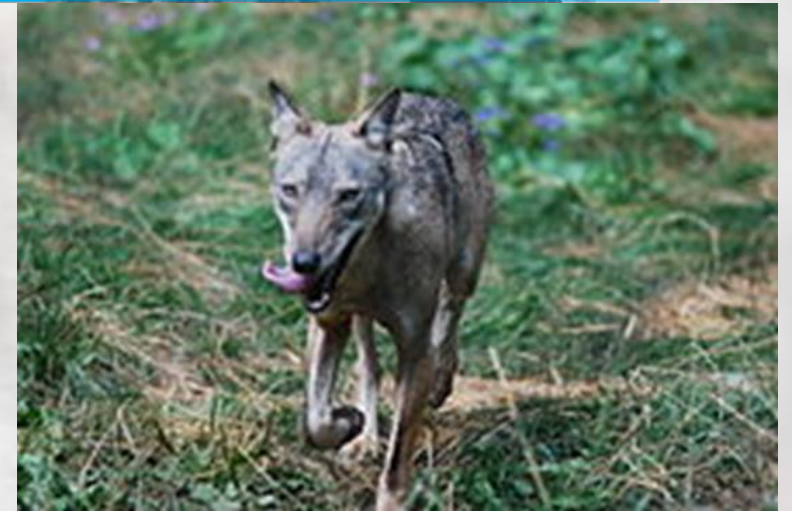
Die Körpergrößen variieren je nach Unterart erheblich.

Schulterhöhe: 50-95 cm  
Rumpflänge mit Kopf: 100-150 cm  
Rutenlänge: 30-50 cm



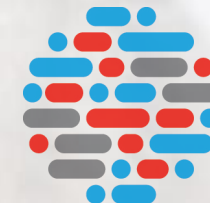
# Conclusion I

- Produire des investigations objectives et des comparaisons sans conflits d'intérêts */Perform objective investigations and comparisons with no conflicts of interests*
- Définir le „vrai“ loup en concordance avec les critères morphologiques */Define „real“ wolves according to morphological criteria*
- Construire des bases de données de référence d'après les loups et chiens et hybrides connus et minutieusement définis */Build reference databases from known and thoroughly defined wolves and dogs and hybrids*
- Éventuellement s'accorder sur un critère politique */Possibly according to political criteria*
- Ex: Le loup italien (français) : loup pur ou hybride de loup et de berger allemand? */E.g. the Italian (french) wolf (pure wolf or mix between wolf and e.g. belgian Shepherd?)*



# Conclusion II

- L'hybridation est déjà installée en Europe et est un phénomène commun  
*/Hybridization already takes place in Europe and is a common phenomenon*
- Il n'y a pas de frontières pour prévenir de manière fiable l'hybridation et le mélange des populations */ There are no borders to reliably prevent hybridization and mixing of populations*
- Certaines méthodes ne sont pas adaptées pour détecter l'hybridation */Some methods are not suited to detect hybridization (mtDNA)*
- La coopération entre les experts des différents domaines est nécessaire pour définir les critères permettant au loup européen d'être protégé */Cooperation between experts from different fields is necessary to define criteria for the european wolves to be protected*
- Il doit y avoir une transparence concernant les données de référence et la définition de „loup pur“ */There must be transparency regarding reference data and definition of „pure wolf“*

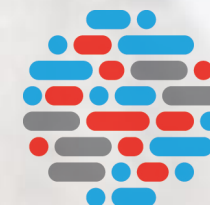


# Merci beaucoup de nous avoir écouté

*/Thank you very much for listening*



**„Mme B., une fois encore, votre fils ne respecte pas la chaîne alimentaire!!!“** */„Mrs. B., again, your son does not respect the natural food chain!!!“*



**ForGen**  
Forensische Genetik und Rechtsmedizin  
am Institut für Hämatopathologie GmbH