

Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
 Tierärztliche Hochschule Hannover
 Bünteweg 17
 30559 Hannover



Standardarbeitsvorschrift im Rahmen des BMBF Verbundvorhabens

Validierungsstudie zur Prüfung auf Hautpenetration mit Hilfe von
 biotechnologisch hergestellten Hautmodellen

Standard Operating Procedure (SOP)

Titel Gewinnung von Euterhaut zur Untersuchung der Hautpenetration an der Franz-Diffusionszelle		Version 04	Dokumentennr.: SOP_M_EH_04	
Erstausgabedatum 15.1.2003	gültig ab 8.4.2003	Ersteller Dr. Frank Niedorf	Seite 1	von 5
Ausgabe	gültig ab	Beschreibung der Änderung		
01	15.1.2003	Erste Ausgabe		
02	26.3.2003	Inhaltsverzeichnis zugefügt, Mikrotompräparation		
03	08.4.2003	Entfernung der Haare auf Schermaschine umgestellt		
04	08.02.2008	Redaktionelle Anpassung		
Genehmigung: Prof. Dr. Monika Schäfer-Korting				
Erstellt: Dr. Frank Niedorf	Geprüft: Prof. Dr. Manfred Kietzmann	Genehmigt: Prof. Dr. Monika Schäfer-Korting		
Verteiler: BMBF-Partner der Phase 1 und 2				
Freie Universität Berlin (FU), Tierärztliche Hochschule Hannover (TiHo), Universität des Saarlandes (US), Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU), ZEBET Berlin, Across Barriers (ACB), Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik, Fraunhofer (IGB), BASF AG (BASF), Beiersdorf AG (BDF), Cognis Deutschland GmbH & Co.KG (CND)				

Titel Gewinnung von Euterhaut zur Untersuchung der Hautpenetration an der Franz-Diffusionszelle		Version 04	Dokumentennr.: SOP_M_EH_04	
Erstausgabedatum 15.1.2003	gültig ab 8.4.2003	Ersteller Dr. Frank Niedorf	Seite 2	von 5

Inhaltsverzeichnis

1. Zweck	3
2. Einsatzbereich	3
3. Grundlagen	3
4. Einschlusskriterien	3
5. Geräte, Geräteeinstellungen und Material	4
5.1 Geräte und Materialien allgemein	4
5.2 Inhalt Schlachthofkoffer	4
5.3 Spendertiere	4
5.4 Chemikalien	4
6. Durchführung des Verfahrens	5
6.1 Schlachtung	5
6.2 Hautgewinnung und Transport	5
6.3 Reinigung und Lagerung der Haut	5
6.4 Entsorgung von Hautresten	5

Titel Gewinnung von Euterhaut zur Untersuchung der Hautpenetration an der Franz-Diffusionszelle		Version 04	Dokumentennr.: SOP_M_EH_04	
Erstausgabedatum 15.1.2003	gültig ab 8.4.2003	Ersteller Dr. Frank Niedorf	Seite 3	von 5

1. Zweck

Diese Standardarbeitsanweisung beschreibt die Anforderungen an die Spendertiere sowie den Vorgang der Entnahme, des Transports sowie der Präparation der Haut zur Gewährleistung einer reproduzierbaren, optimalen Organqualität.

2. Einsatzbereich

Gewinnung von Haut zum Einsatz in der medizinischen/biotechnologischen Forschung als *in vitro* Testsystem.

3. Grundlagen

Die Entnahme der Haut soll möglichst keimarm und schnell erfolgen.

4. Einschlusskriterien

Vor der Schlachtung werden die Tiere einer Schlacht tieruntersuchung, geregelt in der Fleischhygieneverordnung (FLHV) unterzogen. Bei dieser werden Störungen des Allgemeinbefindens sowie auf Mensch und Tier übertragbare Krankheiten ausgeschlossen.

Alle Organe werden vor der Hautentnahme auf ihren Laktationszustand sowie auf das Vorliegen von Erkrankungen der Haut oder des Drüsengewebes untersucht. Es werden nur wenig pigmentierte Organe mit geringer Behaarung ausgewählt.

Titel Gewinnung von Euterhaut zur Untersuchung der Hautpenetration an der Franz-Diffusionszelle		Version 04	Dokumentennr.: SOP_M_EH_04	
Erstausgabedatum 15.1.2003	gültig ab 8.4.2003	Ersteller Dr. Frank Niedorf		Seite von 4 5

5. Geräte, Geräte-Einstellungen und Material

5.1 Geräte und Materialien allgemein

- Instrumente (2 Skalpelle, 2 Chirurgische Pinzetten, 2 Anatomische Pinzetten, Schermaschine)
- Leinentücher
- Aluminiumfolie
- Aluminiumfolie
- PE-Gefrierbeutel

5.2 Inhalt Schlachthofkoffer

- Instrumente (2 Skalpelle, 2 chirurgische Pinzetten)
- Kittel, Plastikschrürze, Stiefel, Schutzhelm, Handschuhe
- Protokoll, Uhr, Kugelschreiber, wasserfester Stift
- Kühlbox mit Eis
- 2 Leinentücher

5.3 Spendertiere

Spenderspezies: Rind (Deutsche Schwarz-Bunte)

Geschlecht der Spendertiere: weiblich

Gewicht der Organe: 15 – 25 kg

Laktationszustand: laktierend

5.4 Chemikalien

PBS-Puffer (normale Pufferkapazität; siehe SOP_M_LÖS_04)

Titel Gewinnung von Euterhaut zur Untersuchung der Hautpenetration an der Franz-Diffusionszelle		Version 04	Dokumentennr.: SOP_M_EH_04	
Erstausgabedatum 15.1.2003	gültig ab 8.4.2003	Ersteller Dr. Frank Niedorf		Seite von 5 5

6. Durchführung des Verfahrens

6.1 Schlachtung

Die Tiere werden nach gesetzlichen Richtlinien geschlachtet. Sie werden mittels eines Bolzenschusses betäubt und durch Endbluten getötet. Der Zeitpunkt der Schlachtung ist im Protokoll zu notieren.

6.2 Hautgewinnung und Transport

An der lateralen Euterwand werden im Bereich der behaarten Haut bis zu 20 x 10 cm große Hautstücke mit dem Skalpell unter Zuhilfenahme der chirurgischen Pinzetten entnommen. Die Entnahmestelle soll dabei mindestens 5 cm dorsal der unbehaarten Zitzenhaut sowie 10 cm vom Rand der abgesetzten Haut entfernt liegen. Das Lösen vom unterliegenden Drüsenparenchym erfolgt in der Tela subcutanea. Die Haut wird in Leinentücher eingeschlagen, um eine Kontamination mit subkutanem Fettgewebe zu vermeiden. Der Transport erfolgt innerhalb von 30 Minuten in einer Kühlbox bei ca. 4 °C auf Eis.

6.3 Reinigung und Lagerung der Haut

Die Hautoberfläche wird unter fließendem lauwarmem Wasser gründlich gereinigt und die Haare mit einer elektrischen Schermaschine entfernt. Dabei ist darauf zu achten, dass die Hautoberfläche nicht beschädigt wird. Verbliebene größere Reste subkutanen Fettgewebes werden mit dem Skalpell entfernt, so dass die Haut eine einheitliche Dicke aufweist. Anschließend wird die Haut in Alufolie eingeschlagen und in einem Gefrierbeutel bei -20°C für 12 Stunden eingefroren. Sie ist dabei mit dem Stratum corneum nach unten mit Hilfe von Kanülen auf einer Styroporschale zu fixieren.

6.4 Entsorgung von Hautresten

Hautreste sind der Tierkörperbeseitigung zuzuführen.