

# 2F-stemcells



Die Stammzellen-Therapie für ihr Tier

## Protokoll zur Gewinnung von Knochenmark aus dem Sternum des Pferdes

### Schritt 1:

Sedieren Sie das Pferd mit 0,02 mg/kg Detomidinhydrochlorid (Domosedan, Pfizer Animal Health)

### Schritt 2:

Palpieren Sie das Sternum zwischen den Vorderbeinen des Pferdes beginnend bis 16 cm kaudal dieses Punktes um die Größe abzuschätzen.

### Schritt 3:

Bereiten Sie das Gebiet großzügig chirurgisch vor (Abb. 1)



Abb. 1

### Schritt 4:

Setzen Sie eine Lokalanästhesie mit ca. 6 ml Mepivacainhydrochlorid, ca.8 cm kranial vom Ende des Sternum aus (Abb. 2).

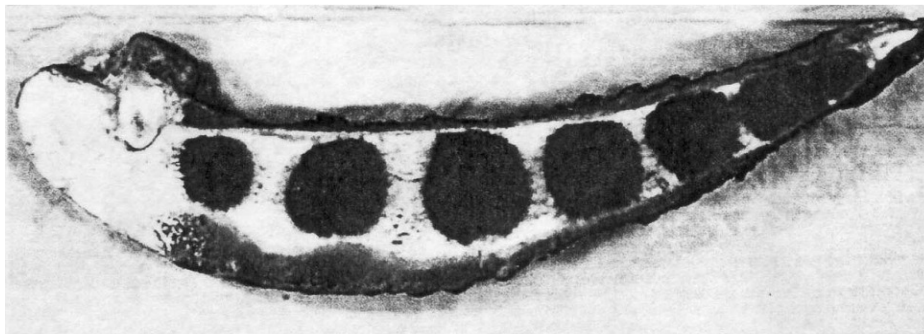


Abb. 2

**Anmerkung: Achten Sie darauf, dass die Lokalanästhesie sowohl die Haut, Unterhaut, Muskulatur als auch das Periost des Sternums anästhesiert. Je kaudaler die Biopsienadel in das Sternum eingeführt wird, desto dünner ist das Sternum (Abb. 2)**

Schritt 5:

Setzen Sie einen kleinen Schnitt z.B. mit einer No.15 Skalpellklinge durch Haut und Unterhaut über dem Sternum.

Schritt 6:

Führen Sie eine 11G4" Biopsiekanüle etwa 2 cm tief in das Sternum ein.

**Anmerkung: Palpieren Sie mit der Biopsiekanüle vorsichtig in alle Richtungen, um das Sternum zu explorieren.**

Schritt 7:

Ist der Kontakt zum Sternum gefunden, bringen Sie die Biopsiekanüle durch eine rotierende Bewegung ca 2-3 cm tief in das Sternum ein.

**Anmerkung: Um das Sternum nicht zu durchstoßen, ist es wichtig die Biopsiekanüle nicht tiefer als 3 cm einzuführen.**

Schritt 8:

Entnehmen Sie den Mandrain und setzen Sie eine heparinisierte 60 ml Spritze auf den Konus (Abb. 3)

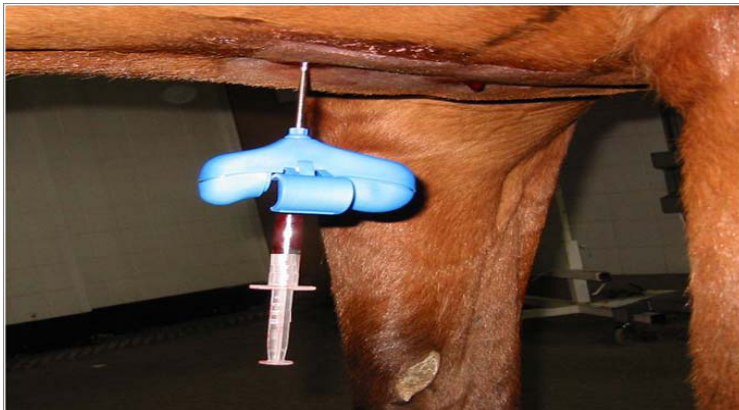


Abb. 3

**Anmerkung: Verwenden Sie kein Verlängerungsset, da es zu Blutgerinnung und somit verminderter Zellausbeute führen kann.**

Schritt 9:

Gewinnen Sie 5-7 ml Knochenmarkspunktat. Hierzu ist es wichtig, genügend negativen Druck in der Spritze aufzubauen.

**Anmerkung: Ziehen Sie dazu den Kolben aus der Spitze und durchbohren ihn mit einer dicken Kanüle (Abb. 4 und 5).**



**Abb. 4**



**Abb. 5**

Schritt 10:

Nach dem Aufsetzen auf den Konus der Biopsienadel, ziehen Sie den Kolben aus der Spritze und fixieren ihn mit der Nadel.

**Anmerkung: Es kann bis zu 2 Minuten dauern bis das dickflüssige Knochenmarkspunktat in die Spritze läuft.**

Schritt 11:

Um das zweite Knochenpunktat zu entnehmen ist es wichtig, die Biopsienadel um 1-2 cm vorsichtig nach kranial oder kaudal zu korrigieren. Eventuell ist es sogar nötig, das neue Areal erneut lokal zu anästhesieren. Wiederholen Sie nun die Schritte 8-9. Sie benötigen ein Gesamtvolumen von 10-14ml.

Schritt 12:

Entfernen Sie nach Entnahme des Knochenmarkmaterials die Biopsiekanüle. Die entstandene Wunde wird mit einem Hautstich geschlossen werden.

Schritt 13:

Entnehmen Sie Ihrem Patienten 12 ml venöses Blut, dieses wird als Serum für die Gefrierkonservierung der Zellen benötigt.

Schritt 14:

Verpacken Sie Serum, Knochenmarkspunktat und Versandbegleitschein gemäß des Versandprotokolls von 2F-stemcells.

**Anmerkung:**

**Für jeweils 5 ml Knochenmarkspunktat wird vorher in die 60 ml Spritze 1500 I.U. Natrium Heparin aufgezogen.**

**Falls Sie 1000 I.U. Heparin Lösung verwenden, entspricht das 1,5 ml Heparin für 5 ml Knochenmarkspunktat. Bei Verwendung einer anderen Heparinkonzentration füllen Sie bitte Ihre errechnete Menge mit gepufferter steriler phys. Lösung auf 1,5ml Gesamtvolumen pro 5 ml Knochenmarkspunktat auf.**