

10% PVP NO MEIO DE LAVAGEM FERTICULT™

INSTRUÇÕES DE USO

NOME: 10% PVP NO MEIO DE LAVAGEM FERTICULT™

NOME TÉCNICO: MEIO DE CULTURA PARA FERTILIZACAO IN VITRO

MARCA: FERTIPRO

CLASSIFICAÇÃO NORMATIVA:Resolução RDC 185/2001

Regra: 13

Classe: Classe IV

ABREVIações USADAS

ICSI	Injeção Intracitoplasmática de Espermatozóide
PVP	Polivinilpirrolidona

DESCRIÇÃO DO PRODUTO:

O meio é usado em laboratórios especializados em realizar técnicas de reprodução assistida, incluindo ICSI. Os usuários pretendidos são profissionais de fertilização in vitro (técnicos de laboratório, embriologistas e médicos).

O contato físico direto ocorre somente entre os produtos do meio e os espermatozóides humanos.

PRODUTO ESTÉRIL

CÓDIGO	NOME DO PRODUTO	QT
PVP1	10% PVP no meio de Lavagem FertiCult	1mL
PVP0.2	10% PVP no meio de Lavagem FertiCult	5x 0.2mL
PVP0.2S	10% PVP no meio de Lavagem FertiCult (tampa roscável)	5x 0.2mL

COMPOSIÇÃO

10% (w/v) dialisado. Meio Ph Eur polivinilpirrolidona (PVP) em meio de Lavagem FertiCult™. O meio de Lavagem FertiCult™ é uma solução aquosa contendo sais fisiológicos, HEPES, lactato, piruvato, glicose e solução de albumina humana

NOME	IDENTIFICADOR DO PRODUTO	FUNÇÃO
Água ultrapura	(CAS No) 7732-18-5 (EC no) 231-791-2	Solvente
Polivinilpirrolidona	(CAS No) 9003-39-8	Viscosidade
Cloreto de sódio	(CAS No) 7647-14-5 (EC no) 231-598-3	Sais Básicos

HEPES (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazina etano sulfônico)	(CAS No) 7365-45-9 (EC no) 230-907-9	Tampão
Albumina sérica humana	(CAS No) 70024-90-7	Propriedade protetora I
Lactato de sódio	(CAS No) 867-56-1 (EC no) 212-762-3	Propriedade protetora II
Glicose mono-hidratada	(CAS No) 14431-43-7	Substratos energéticos
Carbonato de hidrogênio de sódio	(CAS No) 144-55-8 (EC no) 205-633-8	Sais Básicos
Cloreto de Potássio	(CAS No) 7447-40-7 (EC no) 231-211-8	Sais Básicos
Cloreto de cálcio di-hidratado	(CAS No) 10035-04-8	Sais Básicos
Di-hidrogenofosfato di-hidratado de sódio	(CAS No) 13472-35-0	Sais Básicos
Sulfato de magnésio hepta-hidratado	(CAS No) 10034-99-8	Sais Básicos
Piruvato de sódio	(CAS No) 113-24-6 (EC no) 204-024-4	Substratos energéticos

FUNÇÃO	DESCRIÇÃO
Solvente	Para dissolver todas as matérias-primas em pó.
Viscosidade	A polivinilpirrolidona (PVP) é utilizada para aumentar a viscosidade das soluções, facilitando o manuseio e imobilização do esperma.
Sais Básicos	O papel dos sais equilibrados diluídos em água purificada é proporcionar um ambiente iônico que promove o metabolismo celular e equilíbrio osmótico extracelular.
Tampão	Quando se manipulam células fora da incubadora, o bicarbonato não é um tampão adequado uma vez que o pH do meio aumentará para níveis não fisiológicos. Por conseguinte, quando se manipulam células fora da incubadora no ar ambiente, são utilizados outros tampões com níveis de pKa apropriados, por exemplo HEPES (ácido 4-(2-

	hidroxietil)-1-piperazina etano sulfônico). HEPES estabiliza o pH sob ar (Clark e Swain 2014), portanto, a incubação de CO₂ não é necessária.
Propriedade protetora I	É amplamente aceito que a presença de albumina nos meios de preparação de esperma proporciona propriedades protetoras que ajudam a manter a viabilidade e motilidade do esperma. Também, as proteínas em meios tipicamente servem como agentes estabilizadores de membrana e transportadores (bem como uma fonte) de moléculas essenciais (Malda, et al., 2008). Além disso, a albumina de soro humano (HSA) facilita a manipulação de gametas ou embriões impedindo a adsorção à superfície através da saturação dos locais de ligação potenciais. Além disso, tem sido formulada a hipótese de que as proteínas poderiam ajudar a desintoxicar meios de comunicação através da ligação de contaminantes (Blake, Svalander, Jin, Silversand, & Hamberger, 2004).
Propriedade protetora II	Monóxido de glicose e piruvato de sódio são substratos metabólicos essenciais. O lactato é também frequentemente adicionado ao meio de cultura como xarope de lactato de sódio. Sabe-se que os espermatozóides geram energia principalmente através de frutólise (glicólise uma vez removida do plasma seminal), acumulando ácido láctico como subproduto metabólico. Portanto, adicionar lactato ao esperma pode parecer desnecessário. Contudo, a admissão de ar numa população de espermatozóides anaeróbios glicolizantes diminui a taxa de utilização de açúcar e o ácido láctico sofre oxidação como substrato para a respiração exógena. Como os espermatozóides humanos são expostos a uma atmosfera de ar ambiente durante o manuseio, processamento e análise, geralmente é adicionado algum lactato em meios de esperma (Mortimer e Mortimer, 2014).
Substratos energéticos	Existem duas formas principais pelas quais os mamíferos podem gerar ATP: pela oxidação de substratos energéticos em CO₂ e H₂O e pela conversão da glicose em ácido láctico por glicólise. Os oócitos têm um consumo baixo de oxigênio (Magnusson, Hillensjö,

Hamberger, & Nilsson, 1986). Eles dependem de baixos níveis de oxidação do piruvato. O último é metabolizado diretamente para produzir ATP e conseqüentemente pode refletir a viabilidade do oócitos. De fato, demonstrou-se que os oócitos com níveis reduzidos de trifosfato de adenosina (ATP) têm um reduzido potencial de desenvolvimento (Van Blerkom, Davis, & Lee, 1995).

Em embriões humanos, o piruvato suporta o desenvolvimento da fertilização e revelou-se essencial para o desenvolvimento pre-implantação precoce de embriões humanos (Conaghan, Handyside, Winston, & Leese, 1993). O lactato é adicionado aos meios de cultura de embriões para a maioria das espécies de mamíferos. Ele regula o metabolismo do piruvato e mantém potenciais redox ($\text{NAD}^+ / \text{NADH}$) (Bavister, 1995). Embora a captação de glicose esteja presente em níveis muito baixos, acredita-se geralmente que a glicose não é necessária para a sobrevivência de embriões humanos pré-implantação precoce (Bavister, 1995). Contudo, a incorporação de glicose aumenta dramaticamente na transição entre a mórula e o estágio de blastocisto (Wales, Whittingham, Hardy & Craft, 1987) e torna-se a fonte de energia preferida.

A energia para a motilidade do esperma e as características de movimento necessárias para a fertilização são produzidas pelas mitocôndrias na parte central do espermatozóide (Mitchell, Nelson, & Hafez, 1976). A glicose é necessária para manter uma concentração ótima de ATP no esperma humano através da glicólise e para suportar a motilidade ótima, mesmo quando o esperma é fornecido com lactato e piruvato adequados para suportar a respiração mitocondrial (Williams & Ford, 2001). De fato, a adição de glicose 5 mM resultou em valores mais elevados de VAP de espermatozoides quando comparados com meio contendo glicose a 2,8 mM. Além disso, a glicose aumenta a hiperatividade do espermatozóide do tipo “whiplash”, o que aumenta a fertilização (Mahedevan, Miller, & Moutos, 1997).

ESTERILIZAÇÃO:

10% PVP no meio de Lavagem FertiCult é esterilizado por técnicas de processamento asséptico (filtração estéril).

Os meios de cultura celular descritos nesse documento são soluções sensíveis ao calor, para os quais uma esterilização terminal resultaria em um nível de segurança de esterilidade (SAL) 10^{-6} não alcançado. A integridade dos componentes do meio só pode ser assegurada com o uso de técnicas de processamento assépticas (filtração) levando a um SAL de $< 10^{-3}$.

ESPECIFICAÇÕES DO PRODUTO

- Composição química
- pH: 7,20-7,60
- Osmolalidade: 280-320 mOsm/kg
- Viscosidade: > 170 cP à 25°C
- Esterilidade: estéril (SAL 10^{-3})
- Endotoxinas: $< 1,00$ EU/ml
- Ensaio de embrião de Camundongo (blastocistos após 96h): $\geq 80\%$ após 30min de exposição
- Uso de produtos da escala Ph Eur ou USP se aplicável

FORMAS DE APRESENTAÇÃO:

EMBALAGEM PRIMÁRIA:

COD.	QT.	DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO	DIMENSÃO Altura x Diâmetro	IMAGEM
PVP1	1mL	Frasco de vidro tipo 1 hermeticamente fechado, com lacre revestido de teflon (em concordância com as exigências da Farmacopéia Européia) e tampas de alumínio cinza.	38,75 x 16,25mm	

PVP0.2	0.2mL	Frasco de vidro Cromacol fechado usando tampa de pressão.	12 x 32mm	
PVP0.2S	0.2mL	Frasco de vidro Cromacol fechado usando tampa de rosca.	12 x 32mm	

EMBALAGEM SECUNDÁRIA:

COD.	QT	DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO	DIMENSÃO Altura x Largura x Comprimento	IMAGEM
PVP1	1	Embalado unitariamente em caixa de papel cartolina branca (Tambrite) - Acompanha com as instruções de uso.	37 x 21 x 58mm	
PVP0.2	5	Embalados em caixa de plástico transparente de Poliestireno. - Acompanha com as instruções de uso. - Uma camada interna de espuma (poliuretano) absorvente de choque protege os frascos de quebrarem.	90 x 66 x 20mm	

PVP0.2S	5	Embalados em caixa de plástico transparente de Poliestireno. - Acompanha com as instruções de uso. - Uma camada interna de espuma (poliuretano) absorvente de choque protege os frascos de quebrarem.	90 x 66 x 20mm	
---------	---	---	----------------	---

EMBALAGEM DE TRANSPORTE:

COD.	QT.	DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO	DIMENSÃO Altura x Largura x Comprimento	IMAGEM
PVP1 PVP0.2 PVP0.2S	*	São embalados em caixas de isopor (Resina de Poliestireno Grau GP31). - Existem 3 tamanhos conforme pedido.	12.5x14.5x23cm 22.5x31x16cm 40x33x29cm	
PVP1 PVP0.2 PVP0.2S	*	A caixa de isopor é embalada em caixa de papelão. - Existem 3 tamanhos conforme pedido.	34x41x32cm 15x24.5x16cm 22.5x31x15.5cm	
* Depende da quantidade solicitada.				

DESEMPENHO PREVISTO NOS REQUISITOS GERAIS DA REGULAMENTAÇÃO DA ANVISA QUE DISPÕE SOBRE OS REQUISITOS ESSENCIAIS DE SEGURANÇA E EFICÁCIA DE PRODUTOS MÉDICOS, BEM COMO QUAISQUER EVENTUAIS EFEITOS SECUNDÁRIOS INDESEJÁVEIS:

INDICAÇÃO

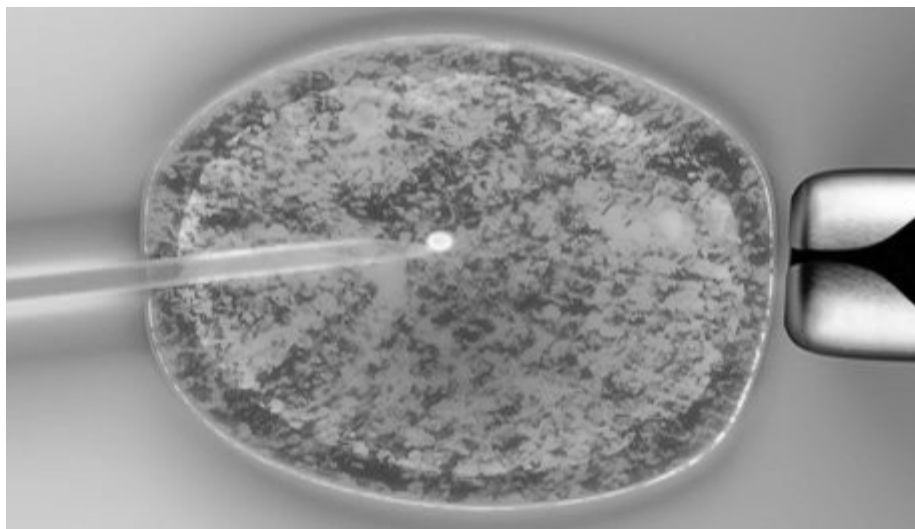
10% PVP no meio de Lavagem FertiCult é um meio viscoso que pode ser usado em procedimentos de ICSI (injeção intracitoplasmática de espermatozóide).

DESCRIÇÃO DO PRINCÍPIO FÍSICO E FUNDAMENTOS DA TECNOLOGIA APLICADOS PARA O SEU FUNCIONAMENTO E SUA AÇÃO:

ICSI - INJEÇÃO INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZÓIDE

Após coletar os óvulos através da punção, os mesmos serão observados e selecionados com relação ao seu potencial para gerar um embrião. De forma paralela, os espermatozoides terão sido preparados de acordo com critérios de melhor motilidade e morfologia.

A união entre o óvulo e espermatozoide de melhor qualidade é realizado através da **Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoide**, ou seja, da **ICSI**. Para introduzir o espermatozoide no óvulo, primeiro requer a captura de um espermatozoide individual em uma pipeta de vidro para posterior injeção no óvulo. Após a introdução do espermatozoide, observamos o processo natural de óvulo fecundado a estágio de embrião. O período dessa evolução observada em laboratório é de até 5 a 6 dias, quando o embrião atinge o estágio de blastocisto e está pronto para ser introduzido no útero materno.



Esse procedimento é facilitado por imobilização inicial do espermatozoide. O método mais utilizado é a colocação dos espermatozoides em um meio viscoso antes de cortar a cauda, imobilizando o mesmo por completo. A polivinilpirrolidona (PVP) foi utilizada com sucesso para aumentar a viscosidade das soluções, facilitando o manuseio e imobilização do esperma.

Além disso, o PVP é usado para evitar que as células espermáticas aderem à pipeta de injeção durante o procedimento ICSI e para dar mais controle sobre o fluxo de fluido na agulha ICSI (Gianaroli et al., 2000).

Quando indicado pelo especialista, poderá ser realizado o estudo genético de algumas células do embrião para comprovar que o mesmo é geneticamente saudável (PGS) e, portanto, terá mais chances de implantação e de nascimento. O procedimento de PGS requer a retirada de algumas células do embrião para envio ao laboratório de genética, enquanto o embrião permanece do laboratório da clínica de reprodução humana.

INSTRUÇÕES DE USO DO PRODUTO:

MATERIAL NÃO INCLUSO:

- Incubadora a 37°C (sem CO²)
- Placas de Petri
- Pipetas de vidro
- Óleo Mineral FertiCult™
- Meio de Lavagem FertiCult™

- Fluxo laminar
- Microscópio

VERIFICAÇÕES PRÉ-USO

- Não use o produto se o mesmo estiver turvo ou mostrar qualquer sinal de contaminação bacteriana.
- Não use o produto se o lacre do frasco estiver aberto ou defeituoso quando o produto for entregue.

INSTRUÇÕES DE USO

Evaporação da solução de PVP na lâmina ou placa e a presença de albumina humana pode ocasionalmente causar uma pequena quantidade de precipitado no meio.

Procedimento padrão

1. Aquecer a solução PVP a 37°C.
2. Colocar uma pequena gota da solução PVP (5µl – 10µl) em uma placa e cubra com Óleo Mineral FertiCult™.
3. Adicionar um pequeno volume (1µl – 2µl) de esperma lavado no centro da gotícula de PVP.
4. Incubar por alguns minutos para permitir a migração do espermatozóide para a periferia da gotícula.
5. Selecionar e recuperar o espermatozóide para injeção.

Procedimentos alternativos com passo de lavagem extra

1. Aquecer a solução PVP e o meio de Lavagem FertiCult™ a 37°C.
2. Colocar uma pequena gota da solução PVP (5µl – 10µl) e uma ou mais pequenas gotas de meio de Lavagem FertiCult™ em uma placa e cubra com Óleo mineral FertiCult™.
3. Adicionar um pequeno volume (1µl – 2µl) de esperma lavado no centro da gotícula de PVP.
4. Incubar por alguns minutos para permitir a migração do espermatozóide para a periferia da gotícula.

5. Selecionar o espermatozóide para injeção e cortar (quebrar) a cauda com a ponta da pipeta de vidro.
6. Transferir o espermatozóide do meio de Lavagem FertiCult™ e lavar transferindo a célula espermática para dentro e fora do meio de lavagem diversas vezes.
7. Sugar a célula espermática com a pipeta de vidro e utilizar para o procedimento de ICSI.

ADVERTÊNCIAS, PRECAUÇÕES, CUIDADOS ESPECIAIS E ESCLARECIMENTO SOBRE O USO DO PRODUTO BEM COMO SEU ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE:

ARMAZENAMENTO E CONSERVAÇÃO

- Armazenar entre 2-8°C.
- Não congelar antes do uso.
- Mantenha afastado da luz solar.
- O produto pode ser usado com segurança até 7 dias depois de aberto, quando mantidas condições estéreis e os produtos armazenados a 2-8°C.
- Não usar após data de expiração.

TRANSPORTE:

- Transporte refrigerado (2-8°C).
- Não congelar.
- Pior das hipóteses: estabilizar após o transporte (máx.5 dias) a temperatura elevada ($\leq 37^{\circ}\text{C}$).

AVISOS E PRECAUÇÕES E PROCEDIMENTO DE DESCARTE:

Medidas padronizadas para prevenir infecção resultante do uso de produtos médicos preparados a partir do sangue ou plasma humano incluem uma seleção de doadores, triagem de doações individuais e agregados de plasma para marcadores específicos de infecção/remoção de vírus. Apesar disso, quando produtos médicos preparados a partir de sangue ou plasma humano são administrados, a possibilidade de

transmissão de agentes infecciosos não pode ser totalmente excluída. Isso também se aplica a vírus desconhecidos ou emergentes e outros patógenos. Não há relatos da transmissão viral comprovada com albumina manufaturada a partir das especificações da Farmacopéia Européia a partir de métodos estabelecidos.

Logo, manusear todos os espécimes como possíveis transmissores de HIV ou hepatites.

Sempre usar vestimenta protetora quando manuseando espécimes. Sempre trabalhar sob condições rígidas de higiene (ISO 5 ambiente, ex. fluxo laminar) para evitar possível contaminação. 10% PVP em meio de Lavagem FertiCult™ não contém nenhum antibiótico.

A segurança a longo prazo da ICSI, incluindo o uso do PVP, em crianças nascidas através desse procedimento é desconhecido.

AS PRECAUÇÕES A ADOTAR EM CASO DE ALTERAÇÃO DO FUNCIONAMENTO DO PRODUTO MÉDICO:

Se o produto estiver danificado não deve ser utilizado, devendo ser descartado.

IMPORTADOR:

INTERMEDICAL EQUIPAMENTOS UROLÓGICOS LTDA

RUA PAISSANDU 288 – LARANJEIRAS

RIO DE JANEIRO-RJ

CEP: 22210-080

01.856.395/0001-91

FABRICANTE LEGAL:

FERTIPRO N.V.

INDUSTRIEPARK NOORD 32

8730 BEERNEM, BELGICA

REGISTRO ANVISA N.º: XXXXXXXXXX

RESPONSÁVEL TÉCNICO: Ronaldo Reis Fontoura - CRM 5251022-5

PRAZO DE VALIDADE: 09 meses após data de fabricação.

RESPONSÁVEL TÉCNICO

Ronaldo Reis Fontoura
CRM 5251022-5

REPRESENTANTE LEGAL

Ronaldo Reis Fontoura