



**MEIO DE CONGELAMENTO DE ESPERMATOZÓIDES
FERTIPRO SSP
INSTRUÇÕES DE USO**

NOME: MEIO DE CONGELAMENTO DE ESPERMATOZÓIDES FERTIPRO SSP

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 espermática intracitoplasmática
FIV	Fertilização in vitro

DESCRIÇÃO DO PRODUTO:

Meio de Congelamento de Espermatozoides FERTIPRO SSP é um meio de criopreservação pronto para o uso para congelamento de células espermáticas a baixíssimas temperaturas (-196°C), em nitrogênio líquido.

PRODUTO ESTÉRIL

CÓDIGO	NOME DO PRODUTO	QT
SSP001	Meio de Congelamento de Espermatozoides FERTIPRO SSP	5x 1mL

COMPOSIÇÃO

Meio de Congelamento de Espermatozoides FERTIPRO SSP é um meio solução-tampão HEPES para congelamento de espermatozoides humanos. Meio de Congelamento de Espermatozoides FERTIPRO SSP contém 0,4% albumina sérica humana e 26,76% glicerol para proteger o espermatozoide do dano proveniente do procedimento de congelamento.

Nota: A concentração de glicerol no Meio de Congelamento de Espermatozoides FERTIPRO SSP é significativamente maior que no Meio de Congelamento de Espermatozoides FERTIPRO, isso é importante para o uso correto dos valores de diluição quando usando o Meio de Congelamento de Espermatozoides FERTIPRO contra o Meio de Congelamento de Espermatozoides FERTIPRO SSP.

NOME	IDENTIFICADOR DO PRODUTO	FUNÇÃO
Água Ultra Pura	(CAS No) 7732-18-5 (EC no) 231-791-2	Solvente

Glicerol	(CAS No) 56-81-5 (EC no) 200-289-5	Propriedade protetora I
Sacarose	(CAS No) 57-50-1 (EC no) 200-334-9	Agente hiperosmótico
Glicina	(CAS No) 56-40-6 (EC no) 200-272-2	Agente osmótico orgânico
Cloreto de Sódio	(CAS No) 7647-14-5 (EC no) 231-598-3	Sais Básicos
HEPES (4-(ácido 2-hidroxi-etil)-1-piperazina etano sulfônico)	(CAS No) 7365-45-9 (EC no) 230-907-9	Tampão
Albumina Sérica Humana - 25% (Albumina Sérica Humana, Caprilato de Sódio, N-Acetil-DL-Triptofano e Água pra Injeção)	(CAS No) 70024-90-7	Propriedade protetora II
Hidrogenocarbonato de Sódio	(CAS No) 144-55-8 (EC no) 205-633-8	Sais Básicos
Glicose Monohidratada	(CAS No) 14431-43-7	Substratos energéticos
Lactato Pentahidratado de Cálcio	(CAS No) 5743-47-5	Sais Básicos
Dihidrogenofosfato de sódio di-hidratado	(CAS No) 13472-35-0	Sais Básicos
Cloreto de potássio	(CAS No) 7447-40-7 (EC no) 231-211-8	Sais Básicos
Sulfato de Magnésio Heptahidratado	(CAS No) 10034-99-8	Sais Básicos

FUNÇÃO	DESCRIÇÃO
Solvente	Para dissolver todas as matérias-primas em pó.
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.

Propriedade protetora I	Crioprotetor permeável.
Agente hiperosmótico	Desde 1988, Freedman et al. Introduziu sacarose para melhorar a criorecuperação de zigotos pronucleares humanos (Freedman, Farber, Farmer et al., 1988). A adição de agentes não permeantes, como a sacarose, resulta em uma solução extracelular hiperosmótica, promovendo a desidratação celular e a diminuição da formação de cristais de gelo.
Agente osmótico orgânico	Aminoácido que age como osmólito orgânico.
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 (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid). HEPES estabiliza o pH sob ar (Clark e Swain 2014), portanto, a incubação de CO ₂ não é necessária.
Propriedade protetora II	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).
Substratos energéticos	Existem duas formas principais pelas quais os mamíferos podem gerar ATP: pela oxidação de substratos energéticos em CO ₂ e H ₂ O 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 espermatozóide 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 espermatozóide humano através da glicólise e para suportar a motilidade ótima, mesmo quando o espermatozóide 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 espermatozóides 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:

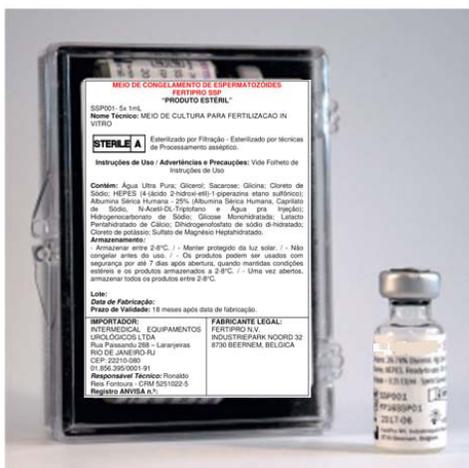
Meio de Congelamento de Espermatozóides FERTIPRO SSP é esterilizado por técnicas de processamento asséptico (filtração estéril).

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 entre 7,20 – 7,90 (Critério de liberação: 7,20–7,60)
- Esterilidade: estéril (SAL 10^{-3})
- Endotoxinas: < 0.25 EU/ml
- Teste de sobrevivência espermática: $\geq 80\%$ sobrevivência após 4 horas de exposição do sêmen ao meio de teste
- Uso dos produtos de classificação Ph Eur ou USP, se aplicável

FORMAS DE APRESENTAÇÃO:



EMBALAGEM PRIMÁRIA:

COD.	QT.	DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO	DIMENSÃO Altura x Diâmetro
SSP001	1mL	Frascos de vidro tipo 1 hermeticamente fechados, com lacre revestidos de teflon (em concordância com as exigências da Farmacopéia Européia) e tampas de alumínio.	38,75 x 16,25mm (3mL)

EMBALAGEM SECUNDÁRIA:

CÓD.	QT	DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO	DIMENSÃO Altura x Largura x Comprimento
SSP001	5	Embalados em caixa plástica de poliestireno. - Acompanha com as instruções de uso.	90 x 66 x 20mm

EMBALAGEM DE TRANSPORTE:

QT.	DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO	DIMENSÃO Altura x Largura x Comprimento	IMAGEM
*	São embalados em caixas de isopor (Resina de Poliestireno Grau GP31). - Existem 3 tamanhos conforme pedido.	12.5x14.5x23cm	
		22.5x31x16cm	
		40x33x29cm	
*	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

Meio de Congelamento de Espermatozóides FERTIPRO SSP é um meio de criopreservação pronto para o uso para congelamento de células espermáticas a baixíssimas temperaturas (-196°C), em nitrogênio líquido.

INSTRUÇÕES DE USO DO PRODUTO:

PREPARAÇÃO DO ESPERMA

Meio de Congelamento de Espermatozóides FERTIPRO SSP pode ser usado em combinação com o gradiente Sil-Select Plus™.

Antes do congelamento

No caso de concentrações muito baixas de espermatozóides é aconselhável concentrar o esperma antes do congelamento. Isso pode aumentar a qualidade do esperma após o descongelamento e irá reduzir o número de palhetas a serem congeladas.

Após descongelamento

Se necessário, usar as técnicas de preparação do esperma após descongelamento para eliminar células espermáticas mortas e restos. Diluir o concentrado de esperma em meio de lavagem ou qualquer outro meio de costume.

CHECAGENS PRÉ-USO

- Não usar o produto se ele se tornar turvo ou mostrar qualquer sinal de contaminação microbiana.
- Não usar o produto se o lacre do frasco estiver aberto ou defeituoso quando o produto for entregue.

MATERIAL NÃO INCLUIDO

- Palhetas de congelamento espermático (ex: CBS™ paletas de congelamento)
- Pipetas estéreis
- Tanque de congelamento com nitrogênio líquido
- Fluxo laminar (ISO Classe 5)

MÉTODOS

Assegurar-se de que todo o meio está bem misturado antes do uso.

Congelamento

1. Permitir que todo o sêmen se liquefaça a temperatura ambiente por 30 minutos.
2. Misturar 3 partes de esperma com 1 parte de Meio de Congelamento de Espermatozóides FERTIPRO SSP. Adicionar o meio em gotas enquanto gira suavemente.

Atenção: para evitar choque térmico, assegurar-se de que o Meio de Congelamento de Espermatozóides FERTIPRO SSP está a temperatura ambiente.

3. Deixar a mistura por 10 minutos a temperatura ambiente para equilíbrio.
4. Puxar a amostra/mistura com meio para dentro das palhetas de congelamento, deixando aproximadamente 1.5cm de ar no final da palheta.
5. Lacrar as palhetas.
6. Secar individualmente com pano livre de linho.
7. Agitar para mover a bolha de ar para o centro da palheta.
8. Congelar verticalmente por 15 minutos, rente ao nível do nitrogênio líquido.
9. Armazenar em nitrogênio líquido.

Descongelamento

1. Remover quantas palhetas for necessário do nitrogênio líquido.
2. Colocar as palhetas em água da pia por 5 minutos.
3. Cortar o final da palheta, colocar a parte final cortada dentro de um recipiente (ex. tubo de ensaio) e tocar a palheta contra o recipiente para permitir a saída completa da mistura.

4. Diluir o esperma concentrado em um meio de inseminação adequado (pelo menos 3 ml por 0.5 ml de sêmen) e misturar completamente.
5. Centrifugar durante 15 minutos a 300-350g.
6. Ressuspender pellet em meio de inseminação adequado (ex. meio FertiCult Flushing).

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.
- Manter protegido da luz solar.
- Os produtos podem ser usados com segurança por até 7 dias após abertura, quando mantidas condições estéreis e os produtos armazenados a 2-8°C.
- Não usar após data de expiração.

TRANSPORTE:

- Transporte entre (2-8°C).
- Não congelar.
- Pior das hipóteses: estável 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 infecções resultantes da utilização de produtos médicos preparados a partir de sangue ou plasma humano incluem a seleção de doadores, triagem de doações individuais e agregados plasmáticos para marcadores específicos de infecções e a inclusão de passos de fabricação eficazes para inativação/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 descartada. Isso também se aplica para vírus desconhecidos/emergentes e outros patógenos. Não há trabalhos que comprovem

transmissão viral com albumina fabricada nas especificações da Farmacopéia Européia por processos estabelecidos.

Portanto, lidar com espécimes como potenciais transmissões de HIV e hepatites.

Sempre usar vestimenta protetora quando lidando com espécimes. Sempre trabalhar sob condições rígidas de higiene (ex. Fluxo laminar ISO Classe 5) para evitar possível contaminação. Somente para uso pretendido.

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: XXXXXXXXX

RESPONSÁVEL TÉCNICO: Ronaldo Reis Fontoura - CRM 5251022-5

PRAZO DE VALIDADE: 18 meses após data de fabricação.

RESPONSÁVEL TÉCNICO

Ronaldo Reis Fontoura
CRM 5251022-5

REPRESENTANTE LEGAL

Ronaldo Reis Fontoura