



MEIO DE LAVAGEM FERTICULT™
INSTRUÇÕES DE USO

NOME: 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 espermática intracitoplasmática
FIV	Fertilização in vitro
IUI	Inseminação intrauterina

DESCRIÇÃO DO PRODUTO:

Meio de cultura celular para lavagem de óvulos, espermatozoides e embriões humanos, para subida dos espermatozoides, injeção de espermatozoides na ICSI, IUI e transferência de embrião.

PRODUTO ESTÉRIL

CÓDIGO	NOME DO PRODUTO	QT
FLUSH005PRG	Meio de Lavagem FertiCult com vermelho de fenol e Gentamicina	1x 5ml
FLUSH020PRG	Meio de Lavagem FertiCult com vermelho de fenol e Gentamicina	5x 20ml
FLUSH050PRG	Meio de Lavagem FertiCult com vermelho de fenol e Gentamicina	5x 50ml
FLUSH100PHR_G	Meio de Lavagem FertiCult com vermelho de fenol e Gentamicina	3x 100ml
FLUSH500PHR_G	Meio de Lavagem FertiCult com vermelho de fenol e Gentamicina	1x 500ml

COMPOSIÇÃO

O meio de lavagem FertiCult está pronto para uso, tamponado com HEPES, o qual também contém bicarbonato e sais fisiológicos, glicose, lactato, albumina humana (4.00g/L) e sulfato de gentamicina (0,010g/L) e Vermelho de fenol (0.003 g/L).

NOME	IDENTIFICADOR DO PRODUTO	FUNÇÃO
Água ultrapura	(CAS No) 7732-18-5 (EC no) 231-791-2	Solvente
Cloreto de sódio	(CAS No) 7647-14-5 (EC no) 231-598-3	Sais Básicos
HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid)	(CAS No) 7365-45-9 (EC no) 230-907-9	Tampão
Albumina do soro humano	(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 Monohidratada	(CAS No) 14431-43-7	Substratos energéticos
Hidrogenocarbonato 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
Dihidrogenofosfato de sódio di-hidratado	(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
Sulfato de gentamicina	(n° CAS) 1405-41-0	Antibiótico
Vermelho de fenol	(n° CAS) 34487-61-1	Indicador de pH

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.
Tampão	<p>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).</p> <p>HEPES estabiliza o pH sob ar (Clark e Swain 2014), portanto, a incubação de CO₂ não é necessária.</p>
Propriedade protetora I	<p>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.</p> <p>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).</p>
Propriedade protetora II	<p>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</p>

	<p>numa população de espermatozoides anaeróbios glicolizantes diminui a taxa de utilização de açúcar e o ácido láctico sofre oxidação como substrato para a respiração exógena. Como os espermatozoides 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).</p>
<p>Substratos energéticos</p>	<p>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.</p> <p>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).</p> <p>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 (NAD⁺ / 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.</p> <p>A energia para a motilidade do esperma e as características de movimento necessárias para a fertilização são produzidas pelas mitocôndrias na parte central do espermatozoide (Mitchell, Nelson, &</p>

	<p>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 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).</p>
Antibiótico	<p>Os antibióticos são frequentemente utilizados para evitar a contaminação bacteriana que pode ocorrer mesmo quando se trabalha em condições assépticas. De fato, as bactérias podem ser facilmente introduzidas nos meios de cultura através dos espermatozóides como consequência de uma infecção acessória da glândula, contaminação ou recolha inadequada de amostras de sêmen. De qualquer forma, as condições estéreis são imperativas nas tecnologias humanas in vitro. Foi documentado que os oócitos cultivados em meios de inseminação infectados produzem taxas de fertilização reduzidas ou nenhuma fecundação (Forman, Guillet-Rosso, & Fran, 1987) (Huyser, Foune, Oosthuizen & Neethling, 1991). Além disso, a contaminação do sistema de cultura pode levar a um desenvolvimento embrionário sub-ótimo (Guillet-Ross, Fari, & Taylor, 1987). A suplementação com antibióticos utiliza rotineiramente concentrações determinadas em estudos pioneiros que avaliaram a sua toxicidade em sistemas de cultura de células. A concentração recomendada para gentamicina é de 50 µg/mL (Perlman, 1979). Consequentemente, esta concentração padrão foi adotada em meios de cultura</p>
Indicador de pH	<p>A estabilização do pH é essencial quando se manipula gâmetas ou embriões. Portanto, a validação de alterações de pH é fortemente recomendada.</p>

	Alterações na cor média também agem como um indicador de contaminação bacteriana ou fúngica. A infecção afeta o pH e isso pode ser facilmente observado em meio contendo um indicador de pH como o vermelho de fenol.
--	---

ESTERILIZAÇÃO:


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: entre 7.30-7.60 (critério de liberação)
- Osmolaridade: 270-290 mOsm/kg
- Esterilidade: estéril (SAL 10^{-3})
- Endotoxinas: < 0.25 EU/ml
- Ensario de embriões de camunfongo (blastocistos após 96h): $\geq 80\%$ após 30min de exposição (estágio de zigoto)
- Uso de produtos Ph Eur ou gradiente USP se necessário.

FORMAS DE APRESENTAÇÃO:
EMBALAGEM PRIMÁRIA:

COD.	QT.	DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO	DIMENSÃO Altura x Diâmetro mm	IMAGEM
FLUSH005PRG	5ml	Frasco de vidro tipo 1 hermeticamente fechados, com lacre Flurotec revestidas de teflon (em concordância com as exigências da Farmacopéia Européia) e tampas de alumínio.	46,8 x 23	
FLUSH020PRG	20ml		58 x 32	
FLUSH050PRG	50ml		73 x 42,5	
FLUSH100PHR_G	100ml		94,5 x 51,6	
FLUSH500PHR_G	500ml		177 x 78	

EMBALAGEM SECUNDÁRIA:



COD.	QT	DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO	DIMENSÃO Altura x Largura x Comprimento	IMAGEM
FLUSH005PRG	1	Embalados em caixa de papel cartolina branca (Tambrite) - Acompanha com as instruções de uso.	47 x 24 mm	
FLUSH020PRG	5		158,5x32x63 mm	
FLUSH050PRG	5		43x43x77 mm	
FLUSH100PHR_G	3		51x51x100 mm	
FLUSH500PHR_G	1		79,5x79,5x185 mm	

FLUSH050PRG: São comercializados com 5 unidades juntas, envoltas por plástico PET.



FLUSH100PHR_G: São comercializados com 3 unidades juntas, envoltas por plástico PET.


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.	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 Lavagem FertiCult são meios de cultura celular prontos para o uso com os seguintes objetivos:

- Lavagem de óvulo humano
- Lavagem de espermatozóide
- Lavagem de embriões humanos
- Subida dos espermatozoides
- Transferência de embrião
- Produção de gradiente de densidade (ex: com armazenamento Sil-Select (FertiPro NV))

Contato físico direto acontece entre os produtos do meio e os gametas ou embriões humanos. Com a transferência embrionária e inseminação intrauterina (IIU), o meio entra em contato direto com as membranas da mucosa uterina da paciente.

Meios de Lavagem FertiCult são usados em laboratórios especializados na realização de técnicas de fertilização, incluindo fertilização in vitro (FIV) ICSI e preparação / análise do espermatozóide. Direciona-se ao uso de profissionais de FIV (técnicos de laboratório, embriologistas ou médicos).

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

Meio de Lavagem FertiCult é formulado para lavagem de óvulos, espermatozoides e embriões humanos. Meio de Lavagem FertiCult também pode ser usado para técnicas de subida dos espermatozoides humanos, injeção de espermatozóide no oócito durante a ICSI, introdução de espermatozóide lavado no útero (IIU) e transferência de embriões.

O meio é completo e não precisa de nenhum aditivo.

O meio contém HEPES; não necessita de incubação com CO₂. Meio de Lavagem FertiCult não contém heparina, portanto, para captura de oócitos, use Meio de Aspiração FertiCult.

Assim como em todos os meios de inseminação in vitro, o meio de lavagem FertiCult deve ser preincubado por 12h antes do uso (com a tampa fechada).

INSTRUÇÕES DE USO DO PRODUTO:

MATERIAL NÃO INCLUSO:

- Incubadora a 37°C (sem CO₂)
- Placas de Petri

- Microscópio
- Tubos de ensaio
- Fluxo laminar (ISO Classe 5)
- Seringas (ex. 1ml)
- Cateter

VERIFICAÇÕES PRÉ-USO

- Não use o produto se ele se tornar descolorido (se o meio contém vermelho de fenol), embaçado, ou mostre qualquer evidência de contaminação microbiana.
- Não use o produto se o lacre do frasco estiver aberto ou danificado quando o produto for entregue.

INSTRUÇÕES DE USO

Lavagem de espermatozoides (procedimento sugerido):

A lavagem dos espermatozoides pode ser feita a temperatura ambiente ou a 37°C.

1. Adicione 5ml de meio de lavagem FertiCult a uma amostra de sêmen nativo e misture. Centrifugue por 15 minutos a aproximadamente 300g.
2. Remova o sobrenadante e deixe aproximadamente 0,5ml de sêmen no tubo de centrifugação.
3. Adicione 5ml de meio de lavagem FertiCult ao tubo de ensaio. Misture gentilmente a solução até que o pellet esteja completamente dissolvido,
4. Centrifugue novamente por 10 minutos a 300g.
5. Simule um nado para cima.

Procedimento de nado para cima (de acordo com a OMS, 2010):

1. Gentilmente coloque uma camada de 1,5ml de meio de lavagem FertiCult sobre 1ml de sêmen lavado em um tubo de centrifugação com base cônica.
2. Incline o tubo em um ângulo de 45° e incube por 1 hora a 37°C.
3. Gentilmente gire para a posição normal e remova sobrenadante 1ml.

4. Dilua esta alíquota de células móveis com 8 volumes de meio de lavagem FertiCult. Centrifugue por 15 minutos a 300g, remova o sobrenadante e finalmente ressuspenda em 0.5ml de meio de lavagem FertiCult.

Transferência de embriões (de acordo com Brinsden, 2005):

1. Pegue uma seringa estéril, encha com meio de lavagem FertiCult, e retire as bolhas de ar. Plugue a seringa ao cateter e ejete o meio.

2. Aspire o meio de lavagem FertiCult para a seringa e empurre o pistão para a marca de 10 μ l.

3. Aspire os embriões para o cateter para que o volume a ser transferido seja aproximadamente 20-30 μ l.

4. Entregue a seringa e o cateter para o clínico para que haja sua inserção e transferência intrauterina.

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

ARMAZENAMENTO E CONSERVAÇÃO

- Armazenar o meio de lavagem FertiCult entre 2-8°C.
- Uma vez abertos, armazenar todos os produtos entre 2-8°C.
- Não congelar antes do uso.
- Manter protegido da luz (solar).
- Os produtos podem ser usados com segurança até 7 dias após abertura, quando em condições estéreis e armazenados entre 2-8°C.
- Não utilizar após data de expiração.
- Estabilize após transporte (máx. 5 dias) a temperatura elevada ($\leq 37^{\circ}\text{C}$).

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 padrão para prevenir infecções resultando do uso de produtos médicos preparado de sangue ou plasma humano incluem seleção de doadores, rastreio de doações individuais e testes plasmáticos para marcadores específicos de infecções e a inclusão de passos de fabricação efetivos visando inativação / remoção de vírus. Apesar disso, quando produtos médicos administrados são preparados a partir de sangue ou plasma humano, a possibilidade de transmissão de agentes infecciosos não pode ser totalmente excluída. Isso também se aplica a vírus e patógenos desconhecidos ou emergentes. Não há trabalhos que provem transmissões virais com albumina fabricada para as especificações da Farmacopéia Européia por processos padrão.

Logo, manuseie todos os espécimes como potenciais transmissores de HIV ou hepatites.

Sempre use vestuário protetor quando manuseando espécimes. Sempre trabalhe sob condições de higiene estritas (ex fluxo laminar ISO Classe 5) para evitar possíveis contaminações mesmo quando o meio contém gentamicina. O meio de lavagem FertiCult com vermelho de fenol e gentamicina contém o antibiótico sulfato de gentamicina. Devem ser tomadas as precauções apropriadas para garantir que o paciente não seja sensibilizado por esse antibiótico.

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: 18 meses após data de fabricação.

RESPONSÁVEL TÉCNICO

Ronaldo Reis Fontoura
CRM 5251022-5

REPRESENTANTE LEGAL

Ronaldo Reis Fontoura