



Sil-Select Stock

INSTRUÇÕES DE USO

NOME: Sil-Select Stock

NOME TÉCNICO: MEIO DE CULTURA PARA FERTILIZACAO IN VITRO

MARCA: FERTIPRO

CLASSIFICAÇÃO NORMATIVA:

Resolução RDC 185/2001

Regra: 03

Classe: Classe III

ABREVIACÕES USADAS

ICSI	Injeção espermática intracitoplasmática
FIV	Fertilização in vitro
IUI	Inseminação Intrauterina

DESCRIÇÃO DO PRODUTO:

Sil-Select Stock é um gradiente isotônico para preparação de sêmen com uma densidade de aproximadamente 1,12g/mL.

O Sil-Select Stock pode ser usado em combinação com inseminação intrauterina (IUI), fertilização in Vitro (FIV) e injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI).

Contato físico direto ocorre entre os produtos do meio e o espermatozóide humano.

Gradientes de densidade são usados em laboratórios de hospital especializados por técnicos de laboratório em Tecnologias de Reprodução Assistida (ART).

PRODUTO ESTÉRIL

CÓDIGO	NOME DO PRODUTO	QT
SIS100	Sil-Select Stock	1x 100mL

COMPOSIÇÃO

O Sil-Select Stock consiste em partículas de sílica coloidal revestidas com silano suspensas em EBSS tamponada com HEPES (solução salina balanceada de Earle).

NOME	IDENTIFICADOR DO PRODUTO	FUNÇÃO
Sílica revestida com Silano	(Sílica CAS No) 7631-86-9 (Silano CAS No) 7803-62-5	Controle de Viscosidade
Água Ultra Pura	(CAS No) 7732-18-5	Solvente

	(EC no) 231-791-2	
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
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 dihidratado	(CAS No) 10035-04-8	Sais Básicos
Sulfato de Magnésio Heptahidratado	(CAS No) 10034-99-8	Sais Básicos
Dihidrogenofosfato de sódio dihidratado	(CAS No) 13472-35-0	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.
Controle de Viscosidade	Os meios de gradiente de densidade otimizados para máxima eficiência na seleção de espermatozóides para uso em ART. Sua densidade está diretamente ligada à sua funcionalidade e depende da % de partículas de sílica coloidal silanizada (silano) adicionadas ao meio.
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

	<p>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>
<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 pré-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 espermatozóide (Mitchell, Nelson, & Hafez, 1976). A glicose é necessária para manter uma concentração</p>

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).

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

- pH: 7.20-7.90 (critério de liberação: 7.20-7.60)
- Osmolalidade: 300-330mOsm/kg
- Densidade: 1.1150 – 1.1250 g/ml
- Viscosidade: < 1.75 cP
- Endotoxinas: < 0.5 EU/ml
- Esterilidade: SAL 10^{-3}
- Teste de sobrevivência de espermatozóides: $\geq 80\%$ de sobrevivência após 4 horas de exposição de espermatozóides selecionados ao meio de teste; $\geq 75\%$ de sobrevivência após 24 horas de exposição de espermatozóides selecionados ao meio de teste.

FORMAS DE APRESENTAÇÃO:

EMBALAGEM PRIMÁRIA:

COD.	QT.	DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO
SIS100	100 mL	Frascos de vidro tipo 1 hermeticamente fechados, com lacre revestidos de teflon (em concordância com as exigências da Farmacopéia Européia) e tampas de alumínio.

EMBALAGEM SECUNDÁRIA:

COD.	QT.	DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO
SIS100	1	Embalado UNITARIAMENTE em caixa de papel cartolina branca (Tambrite). - Acompanha com as instruções de uso.

EMBALAGEM DE TRANSPORTE:

QT.	DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO	IMAGEM
*	São embalados em caixas de isopor (Resina de Poliestireno Grau GP31).	
*	A caixa de isopor é embalada em caixa de papelão.	

* 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

Sil-Select Stock é um gradiente isotônico para preparação de sêmen com uma densidade de aproximadamente 1,12g/mL.

O Sil-Select Stock pode ser usado em combinação com inseminação intrauterina (IIU), fertilização in Vitro (FIV) e injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI).

Contato físico direto ocorre entre os produtos do meio e o esperma humano.

Gradientes de densidade são usados em laboratórios de hospital especializados por técnicos de laboratório em Tecnologias de Reprodução Assistida (ART).

INSTRUÇÕES DE USO DO PRODUTO:

MATERIAL NÃO INCLUSO NO KIT

- Seringas 3cc com agulha 1 1/2" 21g
- Centrífuga (deve ser capaz de aperar por até 30 minutos a 400g)
- Incubadora ou banho-maria a 37°C (opcional)
- Meio de Lavagem FertiCult
- Fluxo laminar (ISO Classe 5)

CÁLCULO DA FORÇA G

A força G da centrífuga pode ser calculada usando a seguinte fórmula:

$$g = 1.118 \times r \times \text{rpm}^2 \text{ ou } \text{rpm} = \text{Raíz quadrada } \{g / (1.118 \times r)\}$$

r = raio da centrífuga em mm

rpm = rotações por minuto / 1000

- Exemplo 1

r = 100 mm

rpm = 1800 rotações por minuto

$g = 1.118 \times 100 \times 3.24 = 362g$

- Exemplo 2

$r = 100 \text{ mm}$ $g = 350g$

$\text{rpm} = \text{SQR} \{350 / (1.118 \times 100)\} = 1.77 \text{ rpm} = 1770 \text{ rotações por minuto}$

CHECAGENS PRÉ-USO

- Não usar o produto se o selo do frasco estiver aberto ou defeituoso quando o produto for entregue.
- Não usar o produto se mudar a coloração ou mostrar qualquer sinal de contaminação microbial.
- Misturar os frascos de densidade de gradiente por 5 inversões de frasco antes do uso.

INSTRUÇÕES DE PREPARAÇÃO DE GRADIENTES

- Aconselhamos a preparar um sistema de gradiente duplo (45% -90% ou 40% -80%) a partir da Sil-Select Stock. Se preferir, também pode ser utilizada uma multi-camada (por exemplo, 45% -70% -90%).
- Para preparar um gradiente de 90%, misture 1 parte do Meio de Lavagem FertiCult com 9 partes de Sil-Select Stock.
- Um gradiente de 45% é preparado misturando 5,5 partes de Meio de Lavagem FertiCult com 4,5 partes de Sil-Select Stock. Alternativamente, qualquer meio baseado em EBSS tamponado com HEPES pode ser usado para a preparação dos gradientes.
- Nota: Os gradientes devem ser preparados e reembalados sob condições estéreis (por exemplo, Fluxo laminar ISO Classe 5). Para melhores resultados, prepare os gradientes no máximo 24 horas antes de usar. Misture bem depois de diluir a solução Sil-Select Stock.

INSTRUÇÕES PARA USO COM AMOSTRA DE SÊMEN CONGELADO

1. Coloque todos os componentes e amostras à temperatura ambiente ou a 37°C.
2. Transfira 2,5 ml do gradiente de baixa densidade (40% - 45%) para um tubo de centrifuga descartável estéril.

3. Usando uma seringa de 3 cc com uma agulha de 1 1/2 "21g, coloque 2,5 ml do gradiente de alta densidade (80% -90%) sob a primeira camada. Tome cuidado para que as duas camadas sejam separadas distintamente. Isto é feito colocando a ponta da agulha no fundo do tubo de ensaio e distribuindo lentamente o gradiente de alta densidade. Este gradiente de duas camadas é estável por até duas horas.
4. Coloque delicadamente até 2,5 ml de sêmen liquefeito na camada superior usando uma pipeta de transferência ou uma seringa.
5. Centrifugar por 15-18 minutos a 350g a 400g. Quando esta centrifugação estiver concluída, poderá não conseguir ver visivelmente uma pastilha. Se assim for, é essencial continuar o procedimento com uma segunda centrifugação de 3 minutos.
6. Remova o sobrenadante pelo pellet.
7. Usando uma seringa, adicione 2-3 ml de meio de lavagem de esperma e volte a suspender o pellet.
8. Centrifugar por 8 a 10 minutos a 300g.
Concentrações de espermatozóides mais altas exigirão o máximo de 10 minutos de centrifugação para garantir uma lavagem completa e completa dos espermatozóides.
9. Remova o sobrenadante até o pellet e repita as etapas 7 e 8.
10. Remova o sobrenadante e substitua-o por um volume adequado de meio apropriado.

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

ARMAZENAMENTO E CONSERVAÇÃO

- Armazenar entre 2-25°C.
- Não congelar.
- 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.
- Abrir e fechar os frascos sob condições assépticas (por exemplo, Fluxo laminar, ISO Classe 5).

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:

Todo material humano, orgânico deve ser considerado potencialmente infeccioso. Lidar com todos os espécimens como capazes de transmitir HIV ou hepatites. Sempre usar vestuário protetor quando lidando com espécimens. Sempre trabalhar sob condições rígidas de higiene (ex. fluxo laminar, ISO Classe 5) para evitar possível contaminação.

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