



**Sil-Select Plus**  
**INSTRUÇÕES DE USO**

**NOME:** Sil-Select Plus

**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
IIU	Inseminação Intrauterina

**DESCRIÇÃO DO PRODUTO:**

Sil-Select Plus é um sistema de gradiente para preparação do sêmen. O sistema Sil-Select Plus 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).

Sil-Select Plus está pronto para uso e segue nos seguintes gradientes:

- Sil-Select Plus Upper layer (45%)
- Sil-Select Plus Lower layer (90%)

**PRODUTO ESTÉRIL**

SIP020 - Sil-Select Plus – 2x 20mL

<b>CÓDIGO</b>	<b>CÓDIGO COMPONENTE</b>	<b>NOME DO PRODUTO</b>	<b>QT</b>
SIP020	SIP020UP	Sil-Select Plus Upper layer	1x 20mL
	SIP020LO	Sil-Select Plus Lower layer	1x 20mL

SIP050 - Sil-Select Plus – 2x 50mL

<b>CÓDIGO</b>	<b>CÓDIGO COMPONENTE</b>	<b>NOME DO PRODUTO</b>	<b>QT</b>
SIP050	SIP050UP	Sil-Select Plus Upper layer	1x 50mL
	SIP050LO	Sil-Select Plus Lower layer	1x 50mL

**COMPOSIÇÃO**

Sil-Select Plus consiste em partículas coloidais de sílica revestidas de silano suspensas em EBSS-tampão HEPES (solução salina balanceada de Earle), suplementada com 0.4-2.2 g/L Albuma sérica humana.

<b>NOME</b>	<b>IDENTIFICADOR DO PRODUTO</b>	<b>FUNÇÃO</b>
Solução Básica de Sílica	Vide tabela abaixo	Controle de Viscosidade
Água Ultra Pura	(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-(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 di-hidratado	(CAS No) 13472-35-0	Sais Básicos
Piruvato de Sódio	(CAS No) 113-24-6 (EC no) 204-024-4	Substratos energéticos
Albuma sérica humana	(CAS No) 70024-90-7	Propriedade protetora I
Lactato de sódio 50%	(CAS No) 867-56-1 (EC no) 212-762-3	Propriedade protetora II

**Solução Básica de Sílica:**

<b>NOME</b>	<b>IDENTIFICADOR DO PRODUTO</b>	<b>FUNÇÃO</b>
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 (EC no) 231-791-2	Solvente
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 Calcio 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

<b>FUNÇÃO</b>	<b>DESCRIÇÃO</b>
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

	<p>equilíbrio osmótico extracelular.</p>
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 CO<sub>2</sub> não é necessária.</p>
Substratos energéticos	<p>Existem duas formas principais pelas quais os mamíferos podem gerar ATP: pela oxidação de substratos energéticos em CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O e pela conversão da glicose em ácido láctico por glicólise.</p> <p>Os oócitos têm um consumo baixo de oxigênio (Magnusson, Hillensjö, Hamberger, &amp; 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, &amp; 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, &amp; 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<sup>+</sup> / 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 &amp; Craft, 1987) e torna-se a fonte de energia preferida.</p>

	<p>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, &amp; 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 &amp; 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, &amp; Moutos, 1997).</p>
<p>Propriedade protetora I</p>	<p>É amplamente aceito que a presença de albumina nos meios de preparação de espermatozóide proporciona propriedades protetoras que ajudam a manter a viabilidade e motilidade do espermatozóide. 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, &amp; Hamberger, 2004).</p>
<p>Propriedade protetora II</p>	<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 espermatozóide pode parecer desnecessário. Contudo, a admissão de ar</p>

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).

### 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: 280-310 mOsm/kg (Upper)  
290-330 mOsm/kg (Lower)
- Densidade: 1.1050-1.1150 g/ml (Lower)
- Viscosidade:  $< 1.65$  cP (Lower)
- 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:**

<b>COD.</b>	<b>COD. COMP.</b>	<b>QT.</b>	<b>DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO</b>
SIP020	SIP020UP	20 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.
	SIP020LO	20 mL	
SIP050	SIP050UP	50mL	
	SIP050LO	50mL	

**EMBALAGEM SECUNDÁRIA:**

<b>COD.</b>	<b>COD. COMP.</b>	<b>QT.</b>	<b>DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO</b>
SIP020	SIP020UP	20 mL	Cada componente embalado UNITARIAMENTE em caixa de papel cartolina branca (Tambrite). - Acompanha com as instruções de uso.
	SIP020LO	20 mL	
SIP050	SIP050UP	50mL	
	SIP050LO	50mL	

**EMBALAGEM DE TRANSPORTE:**

<b>QT.</b>	<b>DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO</b>	<b>IMAGEM</b>
*	São embalados em caixas de isopor (Resina de Poliestireno Grau GP31). - Existem 3 tamanhos conforme pedido.	

*	<p>A caixa de isopor é embalada em caixa de papelão.</p> <p>- Existem 3 tamanhos conforme pedido.</p>	
* 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 Plus é um sistema de gradiente para preparação do sêmen. O sistema Sil-Select Plus 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)
- SIP020/SIP050: meio de Lavagem/inseminação
- 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

$r = 100 \text{ mm}$

$\text{rpm} = 1800 \text{ rotações por minuto}$

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

- 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 PARA USO COM AMOSTRAS FRESCAS DE SÊMEN

1. Colocar todos os componentes do sistema e amostras em temperatura ambiente ou a 37°C.
2. Transferir 2.5ml de Sil-Select Plus Upper em um tubo de centrifugar estéril
3. Usando uma seringa de 3cc com uma agulha 1 1/2" 21g, colocar 2.5ml de Sil-Select Plus Lower abaixo da Upper. Tomar cuidado para que as duas camadas estejam distintamente separadas. Isso é feito ao colocar a ponta da agulha no fundo do tubo de ensaio e dispersar o Sil-Select Plus Lower lentamente. As duas camadas de gradiente são estáveis por até 2 horas.
4. Colocar cuidadosamente 2.5ml de sêmen liquefeito na Upper usando uma pipeta de transferência ou seringa.
5. Centrifugar por 15 a 18 minutos a 350g a 400g. Quando a centrifugação estiver completa o pellet não deve ser visível. Se assim for, é essencial para continuação do procedimento uma segunda centrifugação de 3-5 minutos.
6. Remover o sobrenadante abaixo do pellet.

7. Usando uma seringa, adicionar 2-3ml de meio de lavagem de esperma e re-suspender o pellet.
8. Centrifugar por 8 a 10 minutos a 300g.  
Concentrações altas de esperma requerem um máximo de 10 minutos de centrifugação para assegurar a completa e rigorosa lavagem do esperma.
9. Remover o sobrenadante abaixo do pellet e repetir os passos 7 e 8.
10. Remover o sobrenadante e substituir por um volume adequado de meio indicado.

#### INSTRUÇÕES PARA USO COM AMOSTRA DE SÊMEN CONGELADO

1. Colocar todos os componentes do kit e amostras a temperatura ambiente ou a 37°C.
2. Transferir 1ml de Sil-Select Plus Upper para um tubo de centrifugação estéril descartável.
3. Usando uma seringa de 3cc com uma agulha 1 1/2" 21g, colocar 1ml de Sil-Select Plus Lower abaixo da Upper. Tomar cuidado para que as duas camadas estejam distintamente separadas. Isso é feito colocando a ponta da agulha no fundo do tubo de ensaio e lentamente dispersando o Sil-Select Plus Lower. Essas duas camadas de gradiente são estáveis por até duas horas.
4. Cuidadosamente coloque a amostra de sêmen descongelado no Upper usando a pipeta de transferência ou seringa (máximo de 0.5ml).
5. Centrifugar por 15-20 minutos a 350g.
6. Remover o sobrenadante até a marca de 0,5ml acima do pellet.
7. Usando a seringa, adicionar 2-3ml de meio de lavagem de esperma e ressuspender o pellet.
8. Centrifugar por 8 a 10 minutos a 300g.
9. Remover o sobrenadante até o pellet e repetir os passos 7 e 8.
10. Remover o sobrenadante e substitua por um volume adequado de meio indicado.

Se as amostras não se liquefizerem e assim, não passarem pelas camadas, aumentar a força de centrifugação para, mas não mais que, 500 g irá ajudar a separar o esperma.

## **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 frascos em condições assépticas (ex. fluxo laminar ISO Classe 5)
- Não pode ser re-esterilizado após aberto.

### 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