

# **GAIN™ medium**

## **GAIN medium Early Stage**

## **GAIN medium Blastocyst**

Среда для культивирования эмбрионов человека и гамет в условиях *in vitro*

---

Документ №: FP09 I79 R01 C.3

Дата издания: 16.10.2015 г.

Среда GAIN medium стерилизована с помощью стерилизующей фильтрации

### **ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СОКРАЩЕНИЯ**

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

ICSI – интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида

IUI – внутриматочная инсеминация

ОКК – комплекс «ооцит-корона-кумулюс»

### **ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ**

Среда GAIN medium включает 2 типа готовых к применению культуральных сред для использования с эмбрионами человека и гаметами.

Среды могут использоваться для оплодотворения, культивирования зигот и эмбрионов от стадий дробления и до стадии расширенных бластоцист, а также для переноса эмбрионов.

• **GAIN medium Early Stage (GAIN ES)** может использоваться для манипуляций с ооцитами (во время подготовки или во время процедур ЭКО/ICSI) и для культивирования клеток от оплодотворения до 4-клеточной стадии, для обработки спермы и для переноса эмбрионов.

• **GAIN medium Blastocyst (GAIN BL)** предназначена для культивирования эмбрионов от 4-клеточной стадии до стадии расширенных бластоцист и для переноса эмбрионов. Альтернативно среда может использоваться незамедлительно после оплодотворения и до стадии расширенных бластоцист.

*Только для использования специалистами.*

### **СОСТАВ**

Среды GAIN medium представляют собой забуференные бикарбонатом сбалансированные солевые растворы, содержащие 10 мг/л гентамицина и 3,5 г/л человеческого сывороточного альбумина.

### **МАТЕРИАЛЫ, ВКЛЮЧЁННЫЕ В НАБОР**

- каталожный номер продукта GAIN010ES  
1 фл. x 10 мл GAIN medium Early Stage
- каталожный номер продукта GAIN010BL  
1 фл. x 10 мл GAIN medium Blastocyst

### **МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВКЛЮЧЁННЫЕ В НАБОР**

- Чашки с лунками
- CO<sub>2</sub>-инкубатор (37 °C – 5 % CO<sub>2</sub>)
- Ламинарный шкаф (класса 5 ISO)

- Микроскоп
- Шприц (напр., 1 мл Plastipack)
- Катетер (для переноса эмбрионов)

### **СПЕЦИФИКАЦИЯ ПРОДУКТА**

- Химический состав
- pH при 37 °C и 5 % CO<sub>2</sub>: 7,20 – 7,45
- Осмоляльность: 270-290 mOsm/kg
- Бактериальные эндотоксины: < 0,25 ЕЭ/мл
- Стерильность: стерильно (SAL 10<sup>-3</sup>)
- Биотест на эмбрионах мышей (бластоцисты после 96 ч): > 80% после 30 минут экспозиции (стадия зиготы)
- Используются исходные материалы качества Евр. Фарм. или Фарм. США, где применимо
- Сертификат анализа и паспорт безопасности: по запросу

### **ПРОВЕРКА ПЕРЕД ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ**

- Не используйте среду, если она стала замутненной или проявляет любые признаки микробиологического загрязнения;
- Не используйте среду, если защитный колпачок флакона снят или поврежден при доставке продукта.

### **ИНСТРУКЦИЯ ПО ХРАНЕНИЮ**

- Продукт пригоден к транспортировке или кратковременному хранению при повышенных температурах (до 5 суток при температуре до 37 °C);
- хранить при температуре 2 °C – 8 °C, не замораживать перед использованием;
- хранить в защищенном от света месте;
- продукты могут быть безопасно использованы в течение 7 дней после вскрытия при условии соблюдения стерильности и хранения при температуре от 2 °C до 8 °C;
- Не использовать после истечения срока годности.

### **МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

Стандартные меры профилактики инфекций, возникающих от использования медицинских изделий, приготовленных из крови или плазмы человека, включают выбор доноров, скрининг индивидуального донорского материала и пулов плазмы на специфические маркеры инфекций, и включение эффективных этапов производства для инактивации/удаления вирусов. Несмотря на это, при использовании медицинских изделий, приготовленных из крови или плазмы человека, вероятность передачи инфекционных агентов не может быть полностью исключена. Это также относится к неизвестным или появляющимся вирусам и другим патогенам. Отчеты о доказанной передаче вирусов с помощью альбумина, произведенного в соответствии со спецификациями Европейской Фармакопеи с помощью установленных процессов, отсутствуют. Таким образом, работайте со всеми образцами так, как если бы они могли передавать ВИЧ или гепатит.

Всегда надевайте защитную одежду при работе с образцами.

Всегда работайте со строгим соблюдением условий гигиены во избежание возможной контаминации (напр., с использованием ламинарного шкафа класса ISO 5).

Среды GAIN medium содержат антибиотик гентамицина сульфат. Необходимо принимать надлежащие меры предосторожности с целью удостоверения в том, что

пациент не обладает гиперчувствительностью к данному антибиотику.

## **МЕТОД**

### **Предварительное уравнивание среды**

Проинкубируйте среду (в культуральных плашках или флаконах с не до конца закрученными крышками) в течение по крайней мере 4 часов в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °C и 5 % CO<sub>2</sub>. В идеале среду следует инкубировать в течение ночи до использования.

### **Общие указания по использованию**

Среду GAIN medium в основном необходимо использовать в инкубаторе при 37 °C и 5 % CO<sub>2</sub> при нормальном атмосферном давлении (см. *Примечание по оптимальному pH и атмосферному давлению*).

Среда хорошо работает в 6-см чашках с шестью 50-мкл каплями, покрытыми 6 мл легкого парафинового масла (FertiCult Mineral Oil, FertiPro N.V., Бельгия). На каждую каплю могут культивироваться 4 усеченных ОКК, которые могут быть оплодотворены с помощью приблизительно 0,1 млн сперматозоидов.

### **Стандартный метод культивирования**

- Используйте среду GAIN medium Early Stage для манипуляций с ооцитами (во время подготовки или во время процедур ЭКО/ICSI) и для культивирования зигот и эмбрионов до 4-клеточной стадии.

ПРИМЕЧАНИЕ: ПОСЛЕ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ И ДЕНУДАЦИИ ЗИГОТЫ ДОЛЖНЫ БЫТЬ ПЕРЕНЕСЕНЫ В КАПЛЮ СВЕЖЕЙ СРЕДЫ GAIN MEDIUM EARLY STAGE.

- Используйте среду GAIN medium Blastocyst для культивирования эмбрионов от 4-клеточной стадии до стадии расширенных бластоцист. Удостоверьтесь, что свежая среда была предварительно проинкубирована (уравновешена) до переноса эмбрионов на 4-клеточной стадии.

### **Альтернативный метод культивирования**

- Используйте среду GAIN medium Early Stage для манипуляций с ооцитами (во время подготовки или во время процедур ЭКО/ICSI) и для оплодотворения.
- Используйте среду GAIN medium Blastocyst для культивирования зигот до стадии расширенных бластоцист. Удостоверьтесь, что свежая среда была предварительно проинкубирована (уравновешена) до переноса эмбрионов.

### **Замена среды для культивирования**

Рекомендуется (но не является обязательным) переносить эмбрионы в свежую предварительно проинкубированную (уравновешенную) среду по крайней мере каждые 48 ч во время культивирования. Безусловно, допустимо более короткое время культивирования (напр., до 8-клеточной стадии на день 3, или до стадии морулы/уплотнения на день 4)

### **Обработка спермы**

Среда GAIN medium Early Stage может использоваться для разведения и отмывки спермы методом центрифугирования. Она также может использоваться в комбинации с градиентами плотности (Sil-Select Plus, FertiPro N.V., Бельгия) и/или процедурами флотации, с применением стандартных процедур.

Обработанные клетки могут использоваться для IUI, ЭКО и ICSI. Сперматозоиды

хорошего качества выживают в среде GAIN medium существенно дольше 48 ч.

ПРИМЕЧАНИЕ: СРЕДА GAIN MEDIUM НЕ СОДЕРЖИТ HEPES, ПОЭТОМУ ДЛЯ ПОДДЕРЖАНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО pH ТРЕБУЕТСЯ ИНКУБАЦИЯ В CO<sub>2</sub>. ЕСЛИ ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНА ЗАБУФЕРЕННАЯ HEPES СРЕДА, МЫ РЕКОМЕНДУЕМ ИСПОЛЬЗОВАТЬ СРЕДУ FERTICULT FLUSHING MEDIUM (FERTIPRO N.V., БЕЛЬГИЯ).

### **Примечание по оптимальному pH и атмосферному давлению**

В основном среду GAIN medium необходимо использовать в инкубаторе при 37 °C и 5 % CO<sub>2</sub>. При нормальном атмосферном давлении на уровне моря (101,3 кПа, диапазон 99-103 кПа) это обеспечит среду с pH, приблизительно равным 7,28. При более низком атмосферном давлении или на больших высотах процент CO<sub>2</sub> в инкубаторе должен быть повышен.

Ниже приведена таблица с устанавливаемым значением CO<sub>2</sub> при различных значениях атмосферного давления. Единственным способом удостовериться в значении pH является его прямое измерение в условиях культивирования с помощью подходящего хорошо откалиброванного pH-метра. Для оптимальных условий культивирования эмбрионов значение pH должен быть равно 7,28±0,05.

Среда GAIN medium содержит низкую концентрацию фенолового красного (приблизительно 0,001 мМ), что является достаточным для указания pH. При корректном pH цвет среды – бледный/яркий красный. Если цвет среды становится оранжевым или желтоватым, то значение pH слишком низкое, а если цвет становится розовым или имеет фиолетовый оттенок, то значение pH слишком высокое.

Высота (метров)	Атмосферное давление	Установить CO <sub>2</sub> на значение*:
0 (уровень моря)	101,3 кПа	5,0%
0 - 400 м	100-96 кПа	5,0-5,2%
400 - 800 м	96-92 кПа	5,3-5,5%
800 - 1200 м	92-89 кПа	5,6-5,8%

\* рассчитано по формуле: (давление на уровне моря / давление на высоте) x 5 %

### **ПРОИЗВОДИТЕЛЬ:**

FertiPro N.V., Бельгия

[www.fertipro.com](http://www.fertipro.com)

### **ЭКСКЛЮЗИВНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ:**

ООО «Селл Диагностик»

Адрес для почтовых отправлений: 220020 Минск, а/я 5

Тел.: +375 29 391 16 90

Факс: +375 17 395 88 09

E-mail: [cell.diagnost@gmail.com](mailto:cell.diagnost@gmail.com)

[www.celldiagnostic.by](http://www.celldiagnostic.by)



0344



## **БИБЛИОГРАФИЯ**

1. Huisman GJ, Alberda AT, Leerentveld RA, Verhoeff A, Zeilmaker GH, 1994. A comparison of in vitro fertilization results after embryo transfer after 2, 3, and 4 days of embryo culture. *Fertil Steril* 61, 970-72
2. Scholtes MCW, Zeilmaker GH, 1996. A prospective, randomized study of embryo transfer results after 3 or 5 days of embryo culture in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 65, 1245-48
3. Rijnders PM, Jansen CAM, 1998. The predictive value of day 3 embryo-morphology for blastocyst formation and implantation rate at day 5 in IVF. *Human Reprod* 13, 2869-73
4. Rijnders PM, Jansen CAM, 1999. Influence of group culture and culture volume on the formation of human blastocysts: a prospective randomised study. *Human Reprod* 14, 2333-7
5. Macklon NS, Pieters MHEC, Hassan MA, Jeucken PHM, Eijkemans MJC, Fauser BCJM, 2002. A prospective randomized comparison of sequential versus monoculture systems for in-vitro human blastocyst development. *Human Reprod* 17, 2700-05
6. Curfs MHJM, Cleine JH, Hondelink MN, Van Kamp AA, Kruse ME, Leerentveld RA. Comparison of two types of Embryo transfer catheter. Poster presented at the 3rd International Alpha Congress (International Society of Clinical Embryologists), "ART, Science and Fiction". 9-11 September, New York 2001