

**Instructions for use of the medical device:
Medium for the culture of human gametes and embryos in
Assisted Reproductive Technologies –
Single-step culture medium – GAIN medium.**

APPROVE



FertiPro NV, Belgium

President
(position)
Sven Comhaire
(name)

(signature)

Gezien door ondergetekende Notaris Roel Mondelaers
te Aalter voor legalisatie van bovenstaande
handtekening(en) in zijn aanwezigheid geplaatst
van Sven Comhaire

14 / 12 / 2021
("day" month (numerals))

Stamp



FertiPro

Instructions for use

Single-step culture medium – GAIN medium

Doc: FP09 I79 GAIN R01 Rus B.1, Update: 19/08/2020

For professional use only

USED ABBREVIATIONS

ART	Assisted Reproductive Technologies
ICSI	IntraCytoplasmatic Sperm Injection
IVF	In Vitro Fertilization
COC	Cumulus Oocyte Complex
PN	pronuclei

INTENDED USE

GAIN medium is a ready-to-use bicarbonate-buffered single-step culture medium, intended for use for human gametes and embryos cultivation from fertilization to expanded blastocyst stage. It can also be used for embryo transfer.

INDICATIONS FOR USE

Cultivation of human gametes and embryos in the laboratory.

CONTRAINDICATIONS FOR USE

No contraindications for use

AREA OF APPLICATION

GAIN medium is used in specialized laboratories performing assisted reproductive technologies.

INTENDED USER

Specialists in the field of Assisted Reproductive Technologies (laboratory assistants and embryologists).

CONDITIONS OF USE

GAIN medium contains antibiotics, nevertheless, users are recommended to always work under strict hygienic conditions (ISO 5 environment) to avoid possible contamination of medium.

COMPOSITION

GAIN medium is a bicarbonate-buffered balanced salt solution with 10mg/liter gentamicin sulphate and 3.5g/liter Human Serum Albumin.

DESCRIPTION PACKAGING / ORDER CODE

Product code	Product description	Packaging description
GAIN010	10ml GAIN medium	5x 10ml
GAIN020	20ml GAIN medium	5x 20ml

MATERIALS REQUIRED, NOT SUPPLIED WITH THE PRODUCT

- Well dishes
- CO₂ incubator (37°C-5% CO₂)
- LAF bench (ISO Class 5)
- Microscope
- Syringe (e.g. 1ml Plastipack)
- Mineral oil for culture
- Medium for washing of human ova and embryos
- Medium with hyaluronidase
- Medium with PVP (polyvinyl pyrrolidone)
- Tubes
- Sterile pipettes
- Catheter (for embryo transfer)

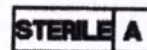
PRODUCT SPECIFICATIONS AND QUALITY CONTROL

- Chemical composition
- pH: 7.20-7.45 (37°C, under 5% CO₂)
- Osmolality: 270-290 mOsm/kg
- Sterility: SAL 10⁻³
- Endotoxins < 0,25 EU/ml
- Mouse Embryo Assay (blastocysts after 96h): ≥ 80%
- Concentration of gentamicin sulphate: 5-15 mg/liter
- Concentration of Human Serum Albumin: 2.8- 4.2 g/liter
- Use of Ph Eur or USP grade products if applicable

- The certificate of analysis and MSDS are available upon request

STERILITY DATA

- Sterility: SAL 10⁻³
- GAIN medium is sterilized by aseptic filtration



PRE-USE CHECKS

- Do not use the product if it becomes cloudy, or shows any evidence of microbial contamination.
- Do not use the product if the seal of the container is opened or defect when the product is delivered.

STORAGE AND TRANSPORT

- The shelf life of GAIN medium is 12 months after production.
- Store at 2-8°C, do not freeze before use.
- Keep only in the original container in a cool, well ventilated place away from (sun)light.
- The products can be used safely up to 7 days after opening, when sterile conditions are maintained and the products are stored at 2-8°C.
- The content cannot be resterilized after opening
- Do not use after expiry date.
- Suitable for transport or short term storage at elevated temperatures (up to 5 days exposure to 37°C) and low temperatures (up to 3 days at -20°C).
- Products that are stored with noncompliance of the temperature limit, must not be used.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

Standard measures to prevent infections resulting from the use of medicinal products prepared from human blood or plasma include selection of donors, screening of individual donations and plasma pools for specific markers of infection and the inclusion of effective manufacturing steps for the inactivation/removal of viruses. Despite this, when medicinal products prepared from human blood or plasma are administered, the possibility of transmitting infective agents cannot be totally excluded. This also applies to unknown or emerging viruses and other pathogens. There are no reports of proven virus transmissions with albumin manufactured to European Pharmacopoeia specifications by established processes. Handle all specimens as if capable of transmitting HIV or hepatitis. Always wear protective clothing when handling specimens: medical gown, medical gloves, mask, hairnet and safety glasses. Always work under strict hygienic conditions (e.g. LAF-bench ISO Class 5) to avoid possible contamination.

GAIN medium contains the antibiotic gentamicin sulphate. Appropriate precautions should be taken to ensure that the patient is not sensitized to this antibiotic.

METHOD / OPERATION PROCEDURE

General notes before use

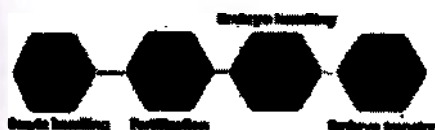
- GAIN medium should generally be used in an incubator at 37°C and 5% CO₂ at normal atmospheric pressure
*IMPORTANT: read "**Note on optimal pH and the atmospheric pressure**".

Make sure that there is a good gas exchange in the incubator. If possible, use a humid incubator and check the incubator settings with well-calibrated pH meter, under culture conditions. The pH in the droplets should be between 7.20-7.45 at 37°C with 5% CO₂ at sea level. Ideally the pH is 7.28 ± 0.05. At this pH the colour of GAIN medium is pale bright red.

- Before use, always incubate prepared dishes GAIN medium overnight in a CO₂ incubator at 37°C with optimal % CO₂. Make sure that screw tops of dishes or flasks are loosened during equilibration.

Use of GAIN medium

GAIN medium can be used in all of the below procedures:



All media should be prewarmed to and used at 37°C, and where indicated in the protocol below, equilibrated at 5% CO₂.

Important note: each laboratory should consult its own optimized and validated laboratory procedures.

I. DISH PREPARATION:

Types of dishes (below sections II and III indicate which dishes are needed per procedure):

- **Culture dish:** Should always be prepared the day before use (i.e. day -1).
Hereto: prepare 6 cm dishes with six 25-50 µl droplets of GAIN medium. To maintain pH, temperature and osmolality, make sure that the droplets are **completely** covered with mineral oil (e.g. FertiCult Mineral Oil). Incubate overnight in a CO₂ incubator at 37°C, and 5% CO₂. Make sure gas exchange is possible (see "General note before use").
- **ICSI dish:** Should always be prepared the day before use (i.e. day -1).
Hereto: prepare 6cm dish for ICSI with drops of GAIN medium covered by mineral oil (e.g. 1 central drop of 10µl, 1 central drop of 50µl, and 8 peripheral drops of 25-50µl). To maintain pH, temperature and osmolality, make sure that the droplets are **completely** covered with mineral oil (e.g. FertiCult Mineral Oil). Incubate overnight in a CO₂ incubator at 37°C and 5% CO₂. Make sure gas exchange is possible (see "General note before use").
- **Dish for denuding oocytes:** Should be prepared the day of use (i.e. day 0).
Hereto: prepare 6 cm dish with a droplet of 50µl hyaluronidase (e.g. 80 IU Hyaluronidase in Flushing), and a drop of 200µl wash medium (e.g. FertiCult Flushing medium) separately from the hyaluronidase drop in the dish. Make sure that the droplets are completely covered by mineral oil and that all media are 37°C at the moment of use.
- **Wash dish:** Should be prepared the day of use (i.e. day 0).
Hereto: prepare 6 cm dish with droplets of 25-50µl washing medium (e.g. FertiCult Flushing medium). Make sure that the droplets are completely covered by mineral oil and that all media are 37°C at the moment of use.

II. OOCYTE HANDLING BEFORE FERTILIZATION:

Cumulus-Oocyte Complexes (COC) obtained by follicle aspiration can be handled/pre-incubated from the moment of their receipt (after wash step) to the moment of fertilization in GAIN medium.

Example protocol:

- **Day -1:** prepare culture dish: see section I.
- **Day 0:** prepare and incubate oocytes:
 1. Per droplet prepared GAIN medium place 1-4 COCs
 2. Incubate COCs at 37°C in CO₂ incubator for 3-4 hours

III. FERTILIZATION:

After oocyte handling (section II.), fertilization can be done on Day 0 by IVF or ICSI.

Example protocol IVF:

- **Day 0:** after 3-4 hours of COC incubation in GAIN medium culture dish:
 1. Add approximately 10.000 progressive motile spermatozoa to each drop containing COC.
 2. Prepare new culture dish (see section I.)
 3. Incubate dishes overnight
- **Day 1:** check fertilization:
 1. Check 2PN stage, discard 3PN

2. Culture fertilized oocytes to pre-incubated new culture dish

- **Day 2-3:** continue cultivation of embryos:
 1. Culture embryos in CO₂ incubator for single step culture. Optionally: refresh on day 2 or day 3 in pre-incubated GAIN medium (see culture dish preparation in section I.)
 2. Embryo transfer at day 3 or day 5

Example protocol ICSI:

- **Day -1:** If fertilization is done by ICSI, an ICSI dish (see section I.) should be prepared on Day -1
- **Day 0:**
 1. Prepare dish for denuding oocytes and wash dish (see section I.)
 2. After 3-4 hours of COC incubation (see Section II.): Decoronize cumulus-oocyte complexes (COC) in denuding dish:
 - Place 5 COC in hyaluronidase drop for 30 seconds
 - Place partially decoronized oocyte in wash medium in dish
 - Decoronize oocytes mechanically with (stripper) pipet of 135 µm width
 3. Transfer oocytes to droplets of washing medium in wash dish. Wash oocytes in by pipetting up and down
 4. Transfer oocytes to droplet of GAIN medium in ICSI dish (1 oocyte per peripheral droplet)
 5. Replace central 10µl droplet of GAIN medium in ICSI dish by 10µl (prewarmed!) PVP medium (e.g. 10% PVP in Flushing medium)
 6. Transfer 1-2µl of prepared semen to central PVP drop in ICSI dish
 7. Select spermatozoa in PVP drop for ICSI, wash selected sperm in central drop of GAIN medium, and subsequently perform ICSI of oocytes in the peripheral GAIN medium drops of the same dish
 8. Culture injected oocytes overnight in CO₂ incubator at 37°C
 9. Prepare new culture dish for the next day (see section I.)
- **Day 1:** see description in example protocol IVF
- **Day 2-5:** see description in example protocol IVF

IV. EMBRYO CULTURE

After fertilization, embryos can be further cultivated to expanded (and/or hatching) blastocyst stage (of course, shorter culture times are possible).

Example protocol: see section III, from day 1 to day 5.

V. EMBRYO TRANSFER

GAIN medium can be used for embryo transfer. Each laboratory should consult its own optimized and validated laboratory procedures specifically for the type of catheter used.

Note on optimal pH and the atmospheric pressure

GAIN medium must generally be used in an incubator at 37°C and 5% CO₂. At normal atmospheric pressure at sea level (101.3 kPa, range: 99 - 103 kPa) this will result in a medium with a pH of approximately 7.28. At lower atmospheric pressure or higher altitudes, the percentage CO₂ in the incubator must be increased.

Below is a table with estimated CO₂ setpoint at different air pressures. The only way to obtain certainty about the pH is to measure directly under culture conditions with a suitable well-calibrated pH meter. For optimal embryo culture the pH should be: 7.28 ± 0.05.

GAIN medium contains a low concentration of Phenol Red (approx. 0.001 mM) which is sufficient to indicate the pH. At the correct pH the colour is a pale bright red. If the medium turns orange or yellowish the pH is too low, if it turns pink or purplish the pH is too high.

Altitude (meters)	Atmospheric air pressure	CO ₂ setpoint*
0 (sea level)	101.3 kPa	5.0%

0 - 400 m	100 - 96 kPa	5.0 - 5.2%
400 - 800 m	96 - 92 kPa	5.3 - 5.5%
800 - 1200 m	92 - 89 kPa	5.6 - 5.8%

* Calculated as follows: (pressure sea level / pressure altitude) x 5%.

STERILE A	Sterilized using aseptic processing techniques
	Protect from (sun)light

PROCEDURE OF DISPOSAL

When using this product, waste classified as class A and B is formed, which should be disposed of according with the requirements of SanPin 2.1.7.2790-10 'Sanitary - epidemiological requirements to the treatment of medical waste. Use, expired and unused product is classified as Class B and disposal should happen according to the requirements of SanPin 2.1.7.2790-10. Packaging of the product (box) after use of the product belongs to waste of class A and is disposed of with household waste.

SAFEGUARDS OBLIGATIONS

The manufacturer guarantees that the product GAIN medium is compliant with the requirements declared by the manufacturer, if the instructions for use, storage and transport are followed.

For questions regarding the quality of the product, you must contact the authorized representative: OOO "FerroTrust", Russia, Ekaterinburg, Karla Marks str., d. 8 of. 411.

BIBLIOGRAPHY

Huisman GJ, Alberda AT, Leerenveld 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

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

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

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

Mackinn 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

Curtis MHJM, Cleine JH, Hondelink MN, Van Kamp AA, Kruse ME, Leerenveld 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

MANUFACTURER



FertiPro N.V. - Industriepark Noord 32 - 8730 Beernem - Belgium
Tel +32 (0)50 79 18 05 - Fax +32 (0)50 79 17 99
URL: <http://www.fertipro.com> - E-mail: info@fertipro.com

AUTHORIZED REPRESENTATIVE IN RUSSIA

FerroTrust Ltd 620026 Russia, Ekaterinburg
Karla Marks street 8 office 411
Phone: 8(343) 269-40-45; 261-60-29
www.ferrotrust.ru

REF	Catalogue number
LOT	Lot number
	Manufacturer
	Date of manufacture
	Temperature limit
	Consult instructions for use
	Use-by date

**Инструкция по применению медицинского изделия:
Среда для культивирования гамет и эмбрионов человека
во вспомогательных репродуктивных технологиях –
Среда культуральная одношаговая – GAIN medium.**

УТВЕРЖДАЮ

FertiPro N.V. (ФертиПро Н.В.), Бельгия

Президент
(должность)
Свен Комхаире
(имя)

(подпись)

“14” декабря 2021 года
(«день» месяц (числами))

[Штамп:]

Нижеподписавшийся Нотариус города Алтер
Розль Монделаерс настоящим свидетельствует,
что подпись, поставленная в его присутствии,
принадлежит Свену Комхаире

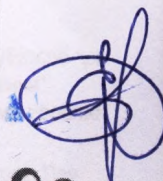
/подпись/

[Круглая печать: Розль Монделаерс, Нотариус *
9880 Алтер]

[Печать:]

FertiPro n.v. (ФертиПро н.в.)
Индустриепарк 32
В-8730 Бирнем/Бельгия
идентификационный номер
плательщика НДС: BE 0448 767 035

М.П.



FertiPro 

ПЕРЕВОД С АНГЛИЙСКОГО ЯЗЫКА НА РУССКИЙ ЯЗЫК

Инструкция по применению

Среда культуральная одношаговая – GAIN medium

Документ: FP09 I79 GAIN R01 Rus B.1, Обновление: 19/08/2020

Только для профессионального применения

ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

РТ	Вспомогательные репродуктивные технологии
КСИ	Интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида
ЭКО	Экстракорпоральное оплодотворение
КОК	Кумулюс ооцит комплекс
ПН	Пронуклеусы

НАЗНАЧЕНИЕ

GAIN medium – это готовая к использованию бикорбанатно-буферная одношаговая культуральная среда, предназначенная для культивирования гамет и эмбрионов человека с момента оплодотворения до стадии экспандированной бластоцисты. Она также может быть использована для переноса эмбрионов.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Культивирование гамет и эмбрионов человека в лаборатории.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Нет противопоказаний к применению

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

GAIN medium используется в специальных лабораториях, применяющих вспомогательные репродуктивные технологии.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Специалисты в области вспомогательных репродуктивных технологий (лаборанты и эмбриологи).

УСЛОВИЯ ПРИМЕНЕНИЯ

GAIN medium содержит антибиотики. Тем не менее, пользователям рекомендуется всегда работать в строгих гигиенических условиях атмосфера класса 5 по ISO), чтобы избежать возможной контаминации среды.

СОСТАВ

GAIN medium - это бикорбанатно-буферный сбалансированный солевой раствор с 10 мг/литр гентамицина сульфата и 3,5 г/литр человеческого сывороточного альбумина.

ОПИСАНИЕ УПАКОВКИ / КОДЫ ДЛЯ ЗАКАЗА

Код продукта	Описание продукта	Описание упаковки
GAIN010	10 мл GAIN medium	5x 10 мл
GAIN020	20 мл GAIN medium	5x 20 мл

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С ПРОДУКТОМ

- Чашки с лунками
- CO₂-инкубатор (37°C-5% CO₂)
- Ламинар-бокс (ISO класс 5)
- Микроскоп
- Шприц (напр., Plastipack по 1мл)
- Минеральное масло для культивирования
- Среда для промывания яйцеклеток и эмбрионов человека
- Среда с гиалуронидазой
- Среда с ПВП (поливинилпирролидон)
- Пробирки
- Стерильные пипетки
- Катетер (для переноса эмбрионов)

СПЕЦИФИКАЦИИ ПРОДУКТА И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

- Химический состав
- pH: 7,20-7,45 (37°C, при 5% CO₂)
- Осмоляльность: 270-290 мОсм/кг
- Стерильность: SAL 10⁻³
- Эндотоксины < 0,25 ЕЭ/мл

- Концентрация гентамицина сульфата: 5-15 мг/литр
- Концентрация человеческого сывороточного альбумина: 2,8-4,2 г/литр
- Использование продуктов, верифицированных Ph Eur или USP, если применимо
- Сертификат анализа и паспорт безопасности материалов предоставляются по запросу

ДАННЫЕ ПО СТЕРИЛЬНОСТИ

- Стерильность: SAL 10⁻³
- GAIN medium проходит стерилизацию посредством асептической фильтрации



ПРОВЕРКИ ПЕРЕД ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ

- Не используйте продукт, если он помутнел, или есть признаки микробной контаминации.
- Не используйте продукт, если пломба контейнера вскрыта или повреждена в момент доставки продукта.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВКА

- Срок годности GAIN medium составляет 12 месяцев с момента изготовления.
- Хранить при температуре 2-8°C, не замораживать перед использованием.
- Хранение только в оригинальном флаконе в прохладном месте с хорошей вентиляцией, защищенном от (солнечного) света.
- Продукты можно безопасно использовать в течение 7 дней после вскрытия при условии соблюдения условий стерильности и хранения продуктов при температуре 2-8°C.
- Содержимое нельзя подвергать повторной стерилизации после вскрытия
- Не используйте после окончания срока годности.
- Возможна транспортировка или кратковременное хранение при повышенных температурах (до 5 дней при температуре до 37°C) и при низких температурах (до 3 дней до -20°C).
- Запрещается использование продуктов, хранящихся в условиях, не соответствующих разрешенному диапазону температур.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Стандартные меры по предотвращению инфицирования, связанного с использованием медицинских продуктов, изготовленных из человеческого крови или плазмы, включают отбор доноров, скрининг отдельных заборов крови и пулов плазмы на специфические маркеры инфекции и применение эффективных производственных мер по инаktivации/удалению вирусов. Несмотря на это, при использовании медицинских продуктов, изготовленных из крови или плазмы человека, возможность передачи инфекционных агентов не может быть исключена полностью. Это также применимо к неизвестным или новым вирусам и иным патогенам. Нет подтвержденных случаев передачи вирусов с альбумином, изготовленным по спецификациям Европейской Фармакопеи в соответствии с установленными процессами.

Со всеми образцами следует обращаться так, как если бы через них мог передаваться ВИЧ или гепатит. При работе с образцами всегда надевайте защитную одежду: медицинский халат, медицинские перчатки, маску, сеточку для волос и защитные очки.

Всегда работайте в строгих гигиенических условиях (напр., с ламинар-боксом, ISO Класс 5) для предотвращения возможной контаминации.

GAIN medium содержит антибиотик гентамицина сульфат. Для подтверждения того, что пациент не обладает повышенной чувствительностью к этому антибиотику, следует предпринимать соответствующие меры предосторожности.

ПОРЯДОК РАБОТЫ / МЕТОДИКА

Общие указания перед использованием

- GAIN medium обычно должна использоваться в инкубаторе при 37°C и 5% CO₂ при нормальном атмосферном давлении*
*ВАЖНО: прочтите «Примечание по оптимальному уровню pH и атмосферному давлению».

Проверьте наличие хорошего газообмена в инкубаторе. При наличии возможности используйте влажный инкубатор, а также проверьте настройки инкубатора хорошо откалиброванным pH-метром в условиях культивирования. Уровень pH в каплях

ПЕРЕВОД С АНГЛИЙСКОГО ЯЗЫКА НА РУССКИЙ ЯЗЫК

должен находиться в пределах 7,20-7,45 при 37°C и 5% CO₂ на уровне моря. В идеале уровень pH составляет 7,28 ± 0,05. При таком уровне pH цвет GAIN medium будет бледно-красным.

- Перед использованием всегда выдерживайте подготовленные чашки GAIN medium в течение ночи в CO₂-инкубаторе при 37°C с оптимальным % CO₂. Удостоверьтесь, что закручивающиеся крышки чашек или флаконов ослаблены во время уравнивания.

Использование GAIN medium

GAIN medium может применяться во всех нижеследующих процедурах:



Все среды должны быть предварительно подогреты и использоваться при 37°C, и, если это указано в нижеприведенном протоколе, уравновешены при 5% CO₂.

Важное примечание: каждая лаборатория должна руководствоваться собственными оптимизированными и прошедшими валидацию лабораторными процедурами.

ПОДГОТОВКА ЧАШЕК:

Типы чашек (в нижеприведенных разделах II и III указано, какие чашки необходимы для процедуры):

- **Культуральная чашка:** Всегда должна подготавливаться накануне использования (т.е. день -1). Для этого: подготовьте чашки на 6 см с шестью каплями по 25-50 мкл GAIN medium. Для поддержания pH, температуры и осмоляльности удостоверьтесь, что капли **полностью** покрыты минеральным маслом (напр., FertiCult Mineral Oil). Выдерживайте в течение ночи в CO₂-инкубаторе при 37°C и 5% CO₂. Удостоверьтесь, что газообмен возможен (см «Общие указания перед использованием»).
- **Чашка для ИКСИ:** Всегда должна подготавливаться накануне использования (т.е. день -1). Для этого: подготовьте чашку для ИКСИ на 6 см с каплями GAIN medium, покрытыми минеральным маслом (напр., 1 центральная капля объемом 10 мкл, 1 центральная капля объемом 50 мкл и 8 периферических капель по 25-50 мкл). Для поддержания pH, температуры и осмоляльности удостоверьтесь, что капли **полностью** покрыты минеральным маслом (напр., FertiCult Mineral Oil). Выдерживайте в течение ночи в CO₂-инкубаторе при 37°C и 5% CO₂. Удостоверьтесь, что газообмен возможен (см «Общие указания перед использованием»).
- **Чашка для денудирования ооцитов:** Должна подготавливаться в день использования (т.е. день 0). Для этого: подготовьте чашку на 6 см с каплей объемом 50 мкл гиалуронидазы (напр., 80 IU Hyaluronidase in Flushing) и каплю объемом 200 мкл среды для промывания (напр., среда FertiCult Flushing) отдельно от капли с гиалуронидазой в чашке. Удостоверьтесь, что капли полностью покрыты минеральным маслом, и все среды имеют температуру 37°C в момент использования.
- **Чашка для промывания:** Должна подготавливаться в день использования (т.е. день 0). Для этого: подготовьте чашку на 6 см с каплями среды для промывания объемом 25-50 мкл (напр., среда FertiCult Flushing)/ Удостоверьтесь, что капли полностью покрыты минеральным маслом, и все среды имеют температуру 37°C в момент использования.

МАНИПУЛЯЦИИ С ООЦИТАМИ ПЕРЕД ОПЛОДОТВОРЕНИЕМ:

Ооцит-ооцит комплекс (КОК), полученные при аспирации фолликулов, могут обрабатываться/подвергаться предварительной инкубации, начиная с момента получения (после этапа промывания) и до момента оплодотворения в GAIN medium.

Стандартный протокол:

- **День -1:** подготовьте культуральную чашку: см. раздел I.
- **День 0:** подготовьте и культивируйте ооциты:
 1. На каждую каплю подготовленной GAIN medium поместите 1-4 КОК
 2. Выращивайте КОК при 37°C в CO₂-инкубаторе в течение 3-4 часов

III. ОПЛОДОТВОРЕНИЕ:

После манипуляций с ооцитами (раздел II.) оплодотворение можно произвести в День 0 посредством ЭКО или ИКСИ.

Пример протокола ЭКО:

- **День 0:** после 3-4 часов инкубации КОК в культуральной чашке GAIN medium:
 1. Добавьте приблизительно 10 000 сперматозоидов с поступательной подвижностью в каждую каплю, содержащую КОК.
 2. Подготовьте новую культуральную чашку (см. раздел I.)
 3. Выдерживайте чашки в течение ночи
- **День 1:** проверка оплодотворения:
 1. Проверьте стадию ЗПН, удалите ЗПН-ооциты
 2. Выращивайте оплодотворенные ооциты в предварительно инкубированной новой культуральной чашке
- **День 2-3:** продолжайте культивирование эмбрионов:
 1. Культивируйте эмбрионы в CO₂-инкубаторе в одношаговой культуре. При необходимости: обновите на день 2 или день 3 в предварительно инкубированной в среде GAIN medium (см. подготовка чашек в разделе I.)
 2. Перенос эмбриона в день 3 или день 5

Пример протокола ИКСИ:

- **День -1:** Если оплодотворение производится посредством ИКСИ, чашка для ИКСИ (см. раздел I.) должна быть подготовлена в День -1!
- **День 0:**
 1. Подготовьте чашку для денудирования ооцитов и чашку для промывания (см. раздел I.)
 2. После 3-4 часов инкубации КОК (см. раздел II.): Очистите кумулюс ооцит-ооцит комплекс (КОК) в чашке для денудирования:
 - Поместите 5 КОК в каплю гиалуронидазы на 30 секунд
 - Поместите частично очищенный от клеток короны ооцит в среду для промывания в чашку
 - Очистите ооциты механически с помощью (стриппера) пипетки шириной 135 мкм
 3. Перенесите ооциты в каплю промывочной среды в чашку для промывания. Промойте ооциты, перемещая их по пипетке вверх и вниз
 4. Перенесите ооциты в каплю GAIN medium в чашке для ИКСИ (1 ооцит на периферическую каплю)
 5. Замените центральную каплю GAIN medium объемом 10 мкл в чашке для ИКСИ на 10 мкл (предварительно подогретой!) среды ПВП (напр., 10%-PVP in Flushing medium)
 6. Перенесите 1-2 мкл подготовленной спермы в центральную каплю ПВП в чашке для ИКСИ
 7. Выберите сперматозоиды в капле ПВП для ИКСИ, промойте отобранные сперматозоиды в центральной капле GAIN medium и далее проведите ИКСИ с ооцитами в

ПЕРЕВОД С АНГЛИЙСКОГО ЯЗЫКА НА РУССКИЙ ЯЗЫК

периферических каплях GAIN medium в той же чашке

8. Культивируйте ооциты после инъекции в течение ночи в CO₂-инкубаторе при 37°C
9. Подготовьте новую культуральную чашку на следующий день (см. раздел I.)

- День 1: см. описание в рекомендованном протоколе для ЭКО

- День 2-5: см. описание в рекомендованном протоколе для ЭКО

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ЭМБРИОНОВ

После оплодотворения эмбрионы далее могут культивироваться до стадии спандированной бластоцисты (и/или хэтчинга бластоцисты) (конечно, возможны более сжатые сроки культивирования).

Пример протокола: см. раздел III, со дня 1 до дня 5.

ПЕРЕНОС ЭМБРИОНОВ

GAIN medium может быть использована для переноса эмбрионов. Каждая лаборатория должна руководствоваться собственными оптимизированными и прошедшими валидацию лабораторными процедурами применительно к используемому типу катетера.

Замечание по оптимальному уровню pH и атмосферному давлению

GAIN medium обычно должна использоваться в инкубаторе при 37°C и 5% O₂. При нормальном атмосферном давлении на уровне моря (101,3 кПа, диапазон: 99 - 103 кПа) это даст среду с приблизительным значением уровня pH 7,28. При более низком атмосферном давлении или больших высотах процент CO₂ в инкубаторе должен быть увеличен.

Ниже приведена таблица с предполагаемой уставкой по CO₂ при разных уровнях давления. Единственный способ получения точных данных по уровню pH - это прямое измерение в условиях культивации посредством соответствующего хорошо откалиброванного pH-метра. Для оптимального культивирования эмбрионов уровень pH должен быть: 7,28 ± 0,05.

GAIN medium содержит низкую концентрацию фенолового красного (приблизительно 0,001 мМоль), что является достаточным для указания на pH. При нужном уровне pH будет бледно-розовый цвет. Если среда окрасится в оранжевый или желтоватый, это означает, что уровень pH слишком низкий; если она станет розовой или пурпурной - уровень pH слишком высокий.

Высота (в метрах)	Атмосферное давление воздуха	Заданная величина для CO ₂ *
(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%

* формула для расчета: (давление на уровне моря / давление на заданной высоте) x 100

ПРОЦЕДУРА УТИЛИЗАЦИИ

При использовании этого изделия образуются отходы классов А и В, которые должны утилизироваться в соответствии с требованиями СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Использованные, вышедшие по сроку годности неиспользованные изделия классифицируются как класс В, утилизируются в соответствии с требованиями СанПин 2.1.7.2790-10. Упаковка изделия (коробка) после использования по назначению принадлежит к отходам класса А, она утилизируется как бытовые отходы.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Изготовитель гарантирует, что изделие GAIN medium соответствует требованиям, заявленным изготовителем, при условии соблюдения инструкции по применению, хранению и транспортировке.

При возникновении вопросов по качеству и следует обращаться к уполномоченному представителю: ООО «ФерроТраст», Россия, Екатеринбург, ул. Карла Маркса, д. 8 оф. 411.

БИБЛИОГРАФИЯ

Хьюсман ГИ, Альберда АТ, Леерентвельд РА, Верхофф А, Зильмейкер ГХ, 1994. Сравнение результатов экстракорпорального оплодотворения после переноса эмбриона после выращивания в течение 2, 3 и 4 дней. Фертильность и стерильность 61, 970-72

Шольтс МСВ, Зильмейкер ГХ, 1996. Проспективное, рандомизированное исследование результатов переноса эмбрионов после 3 или 5 дней выращивания при экстракорпоральном оплодотворении. Фертильность и стерильность 65, 1245-48

Рейндерс ПМ, Янсен КАМ, 1998. Прогностическая ценность морфологии трехдневных эмбрионов для формирования бластоцисты и частоты имплантации эмбриона на 5 день при ЭКО. Размножение человека 13, 2869-73

Рейндерс ПМ, Янсен КАМ, 1999. Влияние крупного выращивания и объема культуры на формирование бластоцист человека: проспективное рандомизированное исследование. Размножение человека 14, 2333-7

Маклон НС, Питерс МХЕК, Хассан МА, Йёккен ПХМ, Эйкеманс МЙК, Фаузер БСИМ, 2002. Проспективное рандомизированное сравнение последовательной и монокультурной систем для развития человеческих бластоцист in-vitro. Размножение человека 17, 2700-05

Кюрфс МХИМ, Клейн ДжХ, Хонделинк МН, Ван Камп АА, Круз МЭ, Леерентвельд РА. Сравнение двух типов катетеров для переноса эмбрионов. Постер, представленный на 3-м международном Альфа-конгрессе (Международное общество клинических эмбриологов), "BPT, наука и фантастика". 9-11 сентября, Нью-Йорк, 2001

ИЗГОТОВИТЕЛЬ



FertiPro N.V. (ФертиПро Н.В.) - Индустриепарк Норд 32 - 8730

Бирнем - Бельгия

Тел. +32 (0)50 79 18 05 - Факс +32 (0)50 79 17 99

Веб: <http://www.fertipro.com> - Эл.почта: info@fertipro.com

УПОЛНОМОЧЕННЫЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ В РОССИИ

ООО «ФерроТраст» 620026 Россия, Екатеринбург

Ул. Карла Маркса 8, офис 411

Телефон: 8(343) 269-40-45; 261-60-29

www.ferrotrust.ru

	Номер по каталогу
	Код партии
	Изготовитель
	Дата изготовления
	Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению
	Использовать до....
	*Стерилизация с применением методов асептической обработки
	Не допускать воздействия (солнечного) света

Перевод с английского языка на русский язык выполнен мной, переводчицом Ермаковой Надеждой Алексеевной. Идентичность перевода подтверждаю.

Подпись переводчика

Российская Федерация

Город Екатеринбург Свердловской области

Девятнадцатого января две тысячи двадцать второго года

Я, Пономарева Фанья Равельевна, временно исполняющая обязанности нотариуса города Екатеринбурга Филипповой Ольги Владимировны, свидетельствую подлинность подписи переводчика Ермаковой Надежды Алексеевны.

Подпись сделана в моем присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре: № 66/201-н/66-2022-2-261.

Уплачено за совершение нотариального действия: 730 руб. 00 коп.

Ф.Р.Пономарева



Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью
лист 1
ВРИО Нотариуса Филипповой О.В.