

GAIN™ medium



GAIN™ medium

GAIN™ medium EN

Single-step culture medium for the *in vitro* culture of human embryos and gametes

STERILE A

GAIN™ medium is sterilized by sterile filtration. Document reference: FP09 I79 GAIN R01 D.2 Update: 27.03.2019

USED ABBREVIATIONS

ICSI IntraCytoplasmic Sperm Injection
IUI Intra-Uterine Insemination
IVF In Vitro Fertilization
OCC Oocyte-Corona-Cumulus

INTENDED USE

GAIN™ medium is a ready to use single-step cell culture medium for use with human embryos and gametes. *For professional use only.*

COMPOSITION

GAIN™ medium is a bicarbonate-buffered balanced salt solution with 10 mg/liter gentamicin and 3.5 g/liter human serum albumin.

MATERIAL INCLUDED WITH THE KIT

Product code: GAIN010
» 1x 10ml GAIN™ medium

MATERIAL NOT INCLUDED WITH THE KIT

- » Well dishes
- » CO₂ incubator (37°C - 5% CO₂)
- » LAF bench (ISO Class 5)
- » Microscope
- » Syringe (e.g. 1 ml Plastipack)
- » Catheter (for embryo transfer)

PRODUCT SPECIFICATIONS

- » Chemical composition
- » pH @ 37°C and 5% CO₂: 7.20-7.45
- » Osmolality: 270-290 mOsm/kg
- » Sterility: SAL 10⁻³
- » Endotoxins < 0.25 EU/ml
- » Mouse Embryo Assay (blastocysts after 96h): ≥ 80%
- » Use of Ph Eur or USP grade products if applicable
- » The certificate of analysis and MSDS are available upon request

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 CONSERVATION

- » Suitable for transport or short-term storage at elevated temperatures (up to 5 days at 37°C)
- » Store at 2-8°C, do not freeze before use.
- » Keep away from (sun)light.
- » The product can be used safely up to 7 days after opening, when sterile conditions are maintained, and the products are stored at 2-8°C.
- » Do not use after expiry date.

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. Therefore, handle all specimens as if capable of transmitting HIV or hepatitis. Always wear protective clothing when handling specimens. 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.

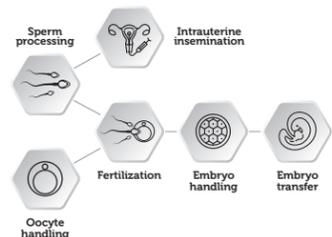
METHOD

General notes before use

- » GAIN™ medium should generally be used in an incubator at 37°C set at 5% CO₂ at normal atmospheric pressure*
- * IMPORTANT: read *"Note on optimal pH and atmospheric pressure"*
- » Before use, always incubate 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:



- » **Gametes:** Oocytes and semen can be handled/incubated in GAIN™ medium in preparation of, or during IVF/ICSI or IUI. For sperm processing, GAIN™ medium can be used to dilute and to wash semen for centrifugation. It can also be used in combination with a density gradient (SIL-Select Plus™, FertiPro NV, Belgium) and/or swim-up, following standard procedures. Note however that GAIN™ medium does not contain HEPES so in order to maintain a physiological pH, CO₂ incubation is necessary. If a HEPES-buffered medium is preferred, we recommend to use FertiCult™ Flushing medium (FertiPro N.V., Belgium).

- » **Fertilization and embryo culture:** GAIN™ medium can be used for fertilization, and for embryo culture from day 1 to expanded blastocyst stage (of course, shorter culture times are possible).

Example: a suitable culture system is to 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 light paraffin oil (FertiCult™ Mineral Oil, FertiPro NV, Belgium). Ideally, these dishes are prepared the day before use and incubated overnight in a CO₂ incubator at 37°C and 5% CO₂. Per droplet 1-4 trimmed OCCs can be cultured and inseminated with approximately 0.1 million sperm.

GAIN™ medium is a single-step medium designed for continuous embryo culture from day 1 to expanded blastocyst stage. However, if culture medium is refreshed, it is recommended to do this on day 2 or early day 3. In this case, make sure that the fresh medium is pre-incubated before transfer of the embryos.

- » GAIN™ medium can also be used for **embryo transfer**.

Note on optimal pH and 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%.

GAIN™ medium FR

Milieu de culture de type 'single-step' pour la culture *in vitro* d'embryons et de gamètes humains

STERILE A

GAIN™ medium est stérilisé par filtration stérile. Doc : FP09 I79 GAIN R01 D.2 Mise à jour : 27.03.2019

ABRÉVIATIONS EMPLOYÉES

ICSI Injection spermatique intracytoplasmique
IUI Insémination intra-utérine
FIV Fécondation in vitro
COC Complexe oocyte-cumulus

UTILISATION PRÉVUE

GAIN™ medium est un milieu de culture de type 'single-step' prêt à l'emploi, utilisé pour la culture des gamètes et des embryons humains. *Réservé à l'usage professionnel.*

COMPOSITION

GAIN™ medium solutions salines équilibrées tamponnées au bicarbonate contenant 10 mg/l de gentamicine et 3,5 g/l de sérum-albumine humaine.

MATÉRIEL FOURNI AVEC LE KIT

Code de produit: GAIN010
» 1x 10ml GAIN™ medium

MATÉRIEL NON FOURNI AVEC LE KIT

- » Boîtes à puits
- » Incubateur à CO₂ (37°C-5 % CO₂)
- » Poste de travail à flux d'air laminaire (classe ISO 5)
- » Microscope.
- » Seringue (par ex., Plastipack 1 ml)
- » Cathéter (pour le transfert d'embryon)

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

- » Composition chimique
- » pH à 37°C et 5 % de CO₂ : 7,20-7,45
- » Osmolalité : 270-290 mOsm/kg.
- » Stérilité : Niveau garanti de stérilité : 10⁻³
- » Endotoxines : < 0,25 EU/ml
- » Essai sur embryon de souris (blastocystes après 96 h) : ≥ 80 %
- » Utilisation de produits de qualité Ph. Eur. ou USP, le cas échéant.
- » Le certificat d'analyse et la FS sont disponibles sur demande.

VÉRIFICATIONS PRÉALABLES À L'UTILISATION

- » Ne pas utiliser le produit s'il devient trouble ou s'il présente des signes de contamination microbienne.
- » Ne pas utiliser le produit si le scellé du contenant est rompu ou défectueux à la livraison du produit

INSTRUCTIONS POUR LA CONSERVATION

- » Possibilité de transport ou de conservation de courte durée à des températures élevées (jusqu'à 5 jours à 37°C).
- » Conserver entre 2 et 8°C, ne pas congeler avant utilisation. Tenir à l'abri de la lumière (du soleil).
- » Les produits peuvent être utilisés en toute sécurité jusqu'à 7 jours après ouverture si des conditions de stérilité sont respectées et si les produits sont conservés entre 2 et 8°C.
- » Ne pas utiliser après la date de péremption.

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

Les mesures standard pour prévenir les infections résultant de l'utilisation des médicaments préparés à partir de sang ou de plasma humains incluent la sélection des donneurs, la recherche de marqueurs spécifiques d'infection sur les dons individuels et les mélanges de plasma et l'inclusion d'étapes de fabrication efficaces pour l'inactivation/élimination virale. Toutefois, lorsque des médicaments préparés à partir de sang ou de plasma humains sont administrés, la possibilité de transmission d'agents infectieux ne peut être totalement exclue. Ceci s'applique également aux virus inconnus ou émergents et autres agents pathogènes. Aucune transmission avérée de virus n'a été rapportée avec de l'albumine fabriquée conformément aux spécifications de la pharmacopée européenne selon les procédés établis. Manipuler par conséquent tous les échantillons comme s'ils pouvaient transmettre le VIH ou l'hépatite. Toujours porter des vêtements embryonnaire optimale, le pH doit être de : 7,28 ± 0,05. GAIN™ medium contient du rouge de phénol à faible concentration (environ 0,001 mM), une quantité suffisante pour indiquer le pH. Au pH adéquat, la couleur est rouge pâle. Si le milieu devient orange ou jaunâtre, le pH est trop bas ; s'il prend une teinte violacée, le pH est trop élevé.

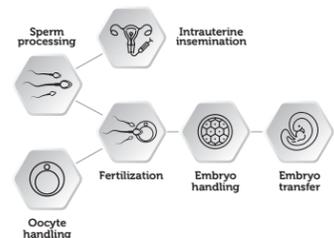
MÉTHODE

Considérations générales pour l'utilisation

- » GAIN™ medium doit en règle générale être utilisé dans un incubateur à 37°C et 5% de CO₂ à la pression atmosphérique normale*.
- * IMPORTANTE: lisez « *Remarque sur le pH optimal et la pression atmosphérique.* »
- » Avant utilisation, Incuber le milieu pendant la nuit dans un incubateur à CO₂ à 37°C et optimal de CO₂. Si vous utilisez des flacons ou tubes contenant les milieux à équilibrer, assurez-vous que les bouchons soient suffisamment dévissés pour permettre l'équilibrage des milieux dans l'étuve.

L'utilisation de GAIN™ medium

GAIN™ medium peut être utilisé dans les cas de figure suivants :



- » **Les gamètes:** les spermatozoïdes et oocytes peuvent être manipulés et incubés dans le GAIN™ medium pendant toutes les phases de préparation et de manipulation des techniques de FIV, FIV-ICSI et IUI. GAIN™ medium peut être utilisé pour diluer et laver le sperme avant la centrifugation. Il peut également être employé en combinaison avec un gradient de densité (SIL-Select Plus™, FertiPro N.V., Belgique) et/ou une migration ascendante, conformément aux procédures standard. Il convient toutefois de remarquer que GAIN™ medium ne contient pas d'HEPES, de sorte qu'une incubation dans du CO₂ est nécessaire pour maintenir un pH physiologique. Si un milieu tamponné à l'HEPES est préféré, nous recommandons d'utiliser FertiCult™ Flushing medium (FertiPro N.V., Belgique).

- » **Fertilisation et culture d'embryons:** GAIN™ medium est un milieu de culture qui peut être utilisé à la fois pour la fertilisation et la mise en culture des embryons, en continu, du jour 1 jusqu'au stade de Blastocyste expansé (des durées de culture plus courtes sont bien entendu possibles).

Proposition de procédure : Pour un système de culture approprié, mettez six gouttelettes de 25-50 µl de GAIN™ medium dans une boîte de pétri pour culture cellulaire de 6 cm de diamètre. Pour maintenir le pH, la température et l'osmolalité, assurez-vous que les gouttes sont complètement recouvertes d'huile de paraffine légère (FertiCult™ Mineral Oil, FertiPro NV, Belgique). Idéalement, les boîtes sont pré-incubées pendant la nuit à 37°C, en étuve à CO₂ (5%) avant d'être utilisées. Pour chaque goutte, 1-4 COC dénués peuvent être cultivés et inséminés au moyen d'environ 100 000 spermatozoïdes.

GAIN™ medium est un milieu de culture 'unique' développé pour la mise en culture des ovocytes/embryons, en continu, du JOUR 1 jusqu'au stade de Blastocyste expansé. Toutefois, si vous préférez changer le milieu de culture en cours d'opération, vous pouvez le faire entre le jour 2 et 3. S'assurer que le milieu frais a été préincubé avant le transfert des embryons.

- » GAIN™ medium peut être utilisé pour le **transfert d'embryon**.

Remarque sur le pH optimal et la pression atmosphérique

GAIN™ medium doit en règle générale être utilisé dans un incubateur à 37°C et 5 % de CO₂. À la pression atmosphérique normale au niveau de la mer (101,3 kPa, fourchette : 99-103 kPa), le milieu obtenu aura un pH de 7,28 environ. Si la pression atmosphérique est plus faible ou l'altitude plus élevée, le pourcentage de CO₂ dans l'incubateur doit être accru. Le tableau ci-après fournit la valeur prédéfinie estimée de CO₂ pour différentes pressions atmosphériques. La seule façon de connaître le pH avec certitude est de le mesurer directement dans les conditions de culture au moyen d'un pH-mètre approprié et correctement étalonné. Pour une culture embryonnaire optimale, le pH doit être de : 7,28 ± 0,05. GAIN™ medium contient du rouge de phénol à faible concentration (environ 0,001 mM), une quantité suffisante pour indiquer le pH. Au pH adéquat, la couleur est rouge pâle. Si le milieu devient orange ou jaunâtre, le pH est trop bas ; s'il prend une teinte violacée, le pH est trop élevé.

Altitude (mètres)	Pression atmosphérique	Valeur prédéfinie de CO ₂ *
0 (niveau d/ mer)	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%

* Calculé comme suit : (pression au niveau de la mer/ pression à l'altitude réelle) x 5 %.

GAIN™ medium DE

Single-step Kulturmedium für die *In-vitro*-Kultur von humanen Embryos und Gameten

STERILE A

GAIN™ medium wird durch Sterilfiltration sterilisiert. Dok: FP09 I79 GAIN R01 D.2 Aktualisierung: 27.03.2019

VERWENDETE ABKÜRZUNGEN

ICSI IntraCytoplasmatic Sperm Injection (Intrazytoplasmatische Spermieninjektion)
IUI Intra-Uterine Insemination (Intrauterine Insemination)
IVF In Vitro Fertilization (In-vitro-Fertilisation)
OCC Oocyte-Corona-Cumulus (Oocyte-Corona-Kumulus)

VORGESEHENE VERWENDUNG

Das GAIN™ medium ist ein ready to use einstufiges Zellkulturmedium für menschliche Embryonen und Gameten. *Nur für die professionelle Nutzung.*

ZUSAMMENSETZUNG

GAIN™ medium ist bikarbonatgepuffertes, ausgewogene Salzlösungen mit 10 mg/Liter Gentamicin und 3,5 g/Liter Humanalbumin.

IM KIT ENTHALTENES MATERIAL

Produktcode: GAIN010
» 1x 10ml GAIN™ medium

IM KIT NICHT ENTHALTENES MATERIAL

- » Schalen mit Vertiefungen
- » CO₂-Incubator (37 °C – 5 % CO₂)
- » LAF-Sterilbank (ISO-Klasse 5)
- » Mikroskop
- » Spritze (z. B. 1 ml Plastipack)
- » Katheter (für den Embryonentransfer)

PRODUKTSPEZIFIKATIONEN

- » Chemische Zusammensetzung
- » pH-Wert bei 37 °C und 5 % CO₂: 7,20 – 7,45
- » Osmolalität: 270 – 290 mOsm/kg
- » Sterilität: SAL 10⁻³
- » Endotoxine < 0,25 EU/ml
- » Maus-Embryo-Test (Blastozysten pro 96 Stunden Kultur): ≥ 80 %
- » Verwendung von Ph Eur oder USP-Qualitätsprodukten, falls zutreffend
- » Analysezertifikat und Material Sicherheitsdatenblätter sind auf Anfrage erhältlich

ÜBERPRÜFUNGEN VOR DER VERWENDUNG

- » Das Produkt nicht verwenden, wenn es trüb wird oder Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination aufweist.
- » Das Produkt nicht verwenden, wenn der Verschluss des Behälters bei der Lieferung des Produkts geöffnet oder beschädigt ist.

LAGERUNGSHINWEISE

- » Geeignet für Transport oder kurzfristige Lagerung bei erhöhten Temperaturen (bis zu 5 Tage bei 37 °C).
- » Bei 2 – 8 °C lagern, vor der Verwendung nicht einfrieren.
- » Vor (Sonnen-)Licht schützen.
- » Die Produkte können nach dem Öffnen bis zu 7 Tage lang unbedenklich verwendet werden, sofern sterile Bedingungen gewahrt bleiben und die Produkte bei 2 - 8 °C aufbewahrt werden.
- » Nicht nach dem Ablaufdatum verwenden.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Maßnahmen zur Verhinderung von Infektionen, die durch die Anwendung von Arzneimitteln aus menschlichem Blut oder Plasma hergestellt wurden, umfassen die Auswahl von Spendern, das Screening von individuellen Spenden und Plasmapools auf spezifische Infektionsmarker und die Einbeziehung effektiver Herstellungsschritte zur Inaktivierung/Entfernung von Viren. Trotzdem kann die Möglichkeit einer Übertragung von Krankheitserregern bei Medizinprodukten aus menschlichem Blut oder Plasma nicht völlig ausgeschlossen werden. Dies gilt auch für unbekanntere oder neuartige Viren und andere Krankheitserreger. Es gibt keine Berichte über gesicherte Virusübertragungen durch nach den Spezifikationen des Europäischen Arzneibuchs unter Anwendung etablierter Prozesse hergestelltes Albumin. Alle Proben sind daher so zu handhaben, als ob sie HIV oder Hepatitis übertragen könnten. Beim Umgang mit den Proben ist stets Schutzkleidung zu tragen. Immer unter streng aseptischen Bedingungen arbeiten (z. B. LAF-Sterilbank der ISO-Klasse 5), um eine mögliche Kontamination zu vermeiden. GAIN™ medium enthalten das Antibiotikum Gentamicinsulfat. Es sind entsprechende Vorsichtsmaßnahmen zu treffen, um sicherzustellen, dass der Patient/die Patientin gegenüber dem Antibiotikum nicht sensibilisiert wird.

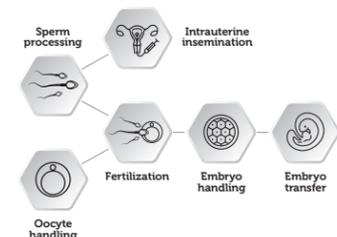
METHODE

Allgemeine Verwendungshinweise

- » GAIN™ medium sollte im Allgemeinen in einem Inkubator bei 37 °C und 5 % CO₂ bei normalem atmosphärischem Druck (siehe *Hinweis zum optimalen pH-Wert und atmosphärischen Druck*) verwendet werden.
- » Vor dem Gebrauch immer das GAIN™ medium über Nacht in einem CO₂-Inkubator bei 37 °C mit optimalem CO₂-Gehalt inkubieren. Achten Sie darauf, dass während der Equilibrierung die Kulturschalendeckel oder Flaschenverschlüsse in der Belüftungsposition sind.

Benutzung des GAIN™ medium

Das GAIN™ medium kann für alle hier aufgeführten Verfahren verwendet werden:



- » **Gameten:** Eizellen und Samen können in der Vorbereitung oder während der IVF/ICSI/IUI in GAIN™ medium behandelt bzw. inkubiert werden. Für die Spermienaufbereitung kann das GAIN™ medium zum Waschen, Verdünnen und Zentrifugieren verwendet werden. Es kann auch in Kombination mit einem Dichtegradienten (SIL-Select Plus™, FertiPro N.V., Belgien) und/oder Swim-Up im Standardverfahren verwendet werden. GAIN™ medium enthält jedoch kein HEPES; um also einen physiologischen pH-Wert aufrechterhalten zu können, ist eine CO₂-Inkubation erforderlich. Wird ein HEPES-gepuffertes Medium bevorzugt, empfehlen wir FertiCult™ Flushing medium (FertiPro N.V., Belgien).

- » **Befruchtung und Embryonenkultur:** Das GAIN™ medium kann zur Befruchtung und für die Embryonenkultur vom ersten Tag an bis zur erweiterten Blastozysten-Phase verwendet werden (natürlich sind auch kürzere Kulturzeiten möglich).

Beispiel: Für eine Kultur geben Sie in ein 6 cm Kulturschälchen sechs 25-50 µl Tröpfchen des GAIN™ medium. Um den pH-Wert, die Temperatur und die Osmolalität konstant zu halten, stellen Sie sicher, dass die Tröpfchen vollständig mit leichtem Paraffin-Öl bedeckt sind (FertiCult™ Mineral Oil, FertiPro N.V., Belgien). Idealerweise bereiten Sie diese Kulturschalen einen Tag vorher vor und lassen diese über Nacht in einem CO₂-Inkubator mit 37 °C und 5% CO₂ inkubieren. Pro Tropfen können 4 vorbereitete OCC kultiviert und mit etwa 0,1 Millionen Spermien inseminiert werden.

Das GAIN™ medium ist ein einstufiges Medium, welches für die kontinuierliche Embryonenkultur vom 1. Tag bis zum erweiterten Blastozystenstadium konzipiert ist. Wenn das Kulturmedium jedoch aufgefriescht wird, empfiehlt es sich, dies am Tag 2 oder am frühen Tag 3 zu tun. Achten Sie in diesem Fall darauf, dass das frische Medium vor der Übertragung der Embryonen inkubiert wird.

- » GAIN™ medium kann auch für den **Embryonentransfer** verwendet werden.

Hinweis zum optimalen pH-Wert und atmosphärischen Druck

GAIN™ medium muss in der Regel in einem Inkubator bei 37 °C und 5 % CO₂ verwendet werden. Bei normalem atmosphärischen Druck auf Meereshöhe (101,3 kPa, Bereich: 99 – 103 kPa) führt dies zu einem pH-Wert des Mediums von etwa 7,28. Bei niedrigerem atmosphärischen Druck oder in höheren Lagen muss der CO₂-Gehalt im Inkubator erhöht werden. Nachfolgend ist eine Tabelle angeführt, in der der geschätzte CO₂-Sollwert bei unterschiedlichem Luftdruck angegeben ist. Eine Gewissheit über den pH-Wert kann nur durch Messung unter Kulturbedingungen mit einem geeigneten, gut kalibrierten pH-Messgerät erlangt werden. pH-Wert für eine optimale Embryonenkultur: 7,28 ± 0,05. GAIN™ medium enthält Phenolrot in niedriger Konzentration (ca. 0,001 mM), was für die Anzeige des pH-Werts ausreicht. Bei korrektem pH-Wert ist die Farbe blass hellrot. Wird das Medium orange oder gelblich, ist der pH-Wert zu niedrig, wird es rosa oder purpurn, ist der pH-Wert zu hoch.

Höhe (Meter)	Atmosphärischer Druck	CO ₂ -Sollwert*
0 (Meereshöhe)	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%

* Wird berechnet wie folgt: (Druck auf Meereshöhe/Druck auf Höhe) x 5 %.

GAIN™ medium



BIBLIOGRAPHY / BIBLIOGRAPHIE LITERATURVERZEICHNIS / RIFERIMENTI BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFIA

- Huisman GJ, Alberda AT, Leertveld 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
- 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
- Curfs MHJM, Cleine JH, Hondelink MN, Van Kamp AA, Kruse ME, Leertveld 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

TECHNICAL SUPPORT ASSISTANCE TECHNIQUE TECHNISCHE UNTERSTÜTZUNG SUPPORTO TECNICO AYUDA TÉCNICA SUPPORTO TÉCNICO

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

GAIN™ medium

Terreno unico di coltura per la coltura *in vitro* di embrioni e gameti umani

STERILE A

GAIN™ medium è sterilizzato per filtrazione.
Doc: FP09 I79 GAIN R01 D.2
Aggiornamento: 27.03.2019

ABBREVIAZIONI UTILIZZATE

ICSI Iniezione intracitoplasmatica di sperma
IUI Inseminazione intrauterina
IVF Fecondazione *in vitro*
OCC Cumulo-corona-ovocita

USO PREVISTO

GAIN™ medium è un mezzo di coltura monofase pronto all'uso da utilizzare con embrioni e gameti umani.
Per esclusivo uso professionale.

COMPOSIZIONE

GAIN™ medium consiste in soluzioni saline bilanciate e tamponate con bicarbonato, con aggiunta di 10mg/litro di gentamicina e 3,5 g/litro di albumina sierica umana.

MATERIALI INCLUSI NEL KIT

Codice del prodotto: GAIN010
» 1x 10ml GAIN™ medium

MATERIALI NON INCLUSI NEL KIT

- » Piastre a pozzetto
- » Incubatore a CO₂ (CO₂ al 5% a 37°C)
- » Cappa a flusso laminare (ambiente ISO 5)
- » Microscopio
- » Siringa (p.es. Plastipack 1ml)
- » Catetere (per il trasferimento dell'embrione)

SPECIFICHE DEL PRODOTTO

- » Composizione chimica
- » pH a 37°C e CO₂ al 5%: 7.20-7.45
- » Osmolalità: 270-290 mOsm/kg
- » Sterilità: SAL 10⁻³
- » Endotossine < 0,25 UE/ml
- » Analisi su embrioni di topo (mouse embryo assay) (blastocisti dopo 96 ore): ≥ 80%
- » Utilizzare prodotti di grado Ph Eur o USP, se applicabile
- » Il certificato di analisi e la MSDS sono disponibili su richiesta

VERIFICHE PRE-UTILIZZO

- » Non utilizzare il prodotto se questo diventa torbido o mostra evidenza di contaminazione batterica.
- » Non utilizzare il prodotto se il sigillo del contenitore è aperto o difettoso quando il prodotto viene consegnato.

MODALITÀ DI CONSERVAZIONE

- » Idoneo per il trasporto o la conservazione per un tempo breve a temperature elevate (fino a 5 giorni a 37°C).
- » Conservare a 2-8°C, non congelare prima dell'uso.
- » Tenere lontano dalla luce (solare).
- » I prodotti possono essere usati in sicurezza fino a 7 giorni dopo l'apertura, quando le condizioni sterili sono mantenute e i prodotti sono conservati a 2-8°C.
- » Non usare dopo la data di scadenza.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Le misure standard per prevenire infezioni derivanti dall'utilizzo dei medicinali preparati da sangue o plasma umano includono la selezione dei donatori, lo screening di donazioni individuali e delle riserve di plasma per marcatori specifici dell'infezione e l'inclusione di fasi produttive efficaci per l'inattivazione/rimozione del virus. Ciononostante, quando vengono somministrati medicinali preparati da sangue o plasma umano, la possibilità di trasmettere agenti infettivi non può essere esclusa del tutto. Ciò si applica anche a virus e altri patogeni emergenti o sconosciuti. Non vi sono segnalazioni di trasmissioni comprovate di virus con l'albumina prodotta secondo le specifiche della Farmacopea Europea mediante processi consolidati. Di conseguenza, è necessario manipolare tutti i campioni come potenzialmente in grado di trasmettere HIV o epatite. Indossare sempre un abbigliamento protettivo quando si manipolano i campioni. Lavorare sempre rispettando rigorose condizioni igieniche (ambiente ISO 5, ad es. cappa a flusso laminare) per evitare una possibile contaminazione.

GAIN™ medium contengono l'antibiotico gentamicina solfato. È opportuno prendere le adeguate precauzioni per evitare che il paziente sviluppi una sensibilizzazione a questo antibiotico.

METODO

Note generali per l'uso

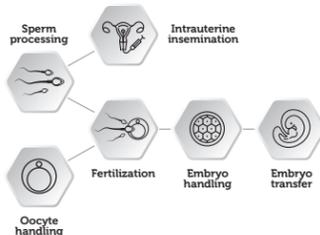
- » **Generalmente**, GAIN™ medium deve essere usato in un incubadora a 37°C e CO₂ al 5% a pressione atmosferica normale*

* **IMPORTANTE:** leggi "Nota sul pH e sulla pressione atmosferica ottimale."

- » Prima dell'uso, incubare il terreno di coltura per una notte in un incubatore a CO₂ a 37°C e CO₂ al 5%. Assicurarsi che i coperchi di piastre o delle fiasche siano allentati durante l'equilibratura.

Uso di GAIN™ medium

GAIN™ medium può essere utilizzato in tutte le seguenti procedure:



- » **Gameti:** ovociti e spermatozoi possono essere manipolati/incubati in GAIN™ medium in preparazione o durante IVF/ICSI/IUI. Per il trattamento degli spermatozoi, può essere usato per diluire e lavare il seme per la centrifugazione. Inoltre, può essere usato in associazione a un gradiente di densità (SIL-Select Plus™, FertiPro N.V., Belgio) e/o alla migrazione ascendente (swim-up), dopo le procedure standard. Tuttavia si noti che il GAIN™ medium non contiene HEPES, perciò per mantenere un pH fisiologico è necessaria l'incubazione in CO₂. Se si preferisce usare un terreno tamponato con HEPES, si consiglia l'uso di FertiCult™ Flushing medium (FertiPro N.V., Belgio).

- » **Fecondazione e cultura dell'embrione:** GAIN™ medium può essere utilizzato per la fertilizzazione e per la cultura dell'embrione dal giorno 1 allo stadio di blastocisti espansa (naturalmente sono possibili tempi di coltura più brevi).

Esempio: Un sistema di coltura adatto consiste nel preparare da piastre 6 cm con sei gocce di GAIN™ medium da 25-50 µl. Per mantenere pH, temperatura ed osmolalità, assicurarsi che le gocce siano completamente coperte con olio di paraffina leggero (FertiCult™ Mineral Oil, FertiPro N.V., Belgio). Idealmente, queste piastre sono preparate il giorno prima dell'utilizzo ed incubate per una notte in un incubatore a CO₂ a 37°C e al 5% di CO₂. Per ogni goccia è possibile coltivare ed inseminare 4 ovocita per mezzo di 100.000 cellule spermatiche.

GAIN™ medium è un terreno unico progettato per la coltura ininterrotta di embrioni da giorno 1 fino allo stadio di blastocisti espansa. Tuttavia, nel caso in cui si voglia rinfrescare il terreno, si consiglia di effettuare in giornata 2 o all'inizio del terzo giorno. In questo caso, assicurarsi che il terreno di coltura nuovo sia stato preincubato prima del trasferimento degli embrioni.

- » GAIN™ medium può essere utilizzato per il **trasferimento dell'embrione**.

Nota sul pH e sulla pressione atmosferica ottimali

Generalmente il terreno di GAIN™ medium deve essere usato in un incubatore a 37°C e CO₂ al 5%. In questo modo, a una pressione atmosferica a livello del mare normale (101,3 kPa, intervallo: 99 - 103 kPa), risulterà un terreno di coltura di un pH di circa 7,28. A pressione atmosferica minore o ad altitudine maggiore, la percentuale di CO₂ nell'incubatore deve essere aumentata. Qui di seguito è riportata una tabella con i parametri di CO₂ stimati a diverse pressioni atmosferiche. L'unico modo per determinare il pH con certezza è misurarlo direttamente in condizioni di coltura con un misuratore di pH adatto e ben calibrato. Per una coltura ottimale dell'embrione, il pH dovrebbe essere: 7,28 ± 0,05. GAIN™ medium contiene una bassa concentrazione di rosso fenolo (circa 0,001 mM), sufficiente a indicare il pH. Al pH corretto il colore è rosso acceso chiaro. Se il terreno diventa arancione o giallastro il pH è troppo basso, mentre se diventa rosa o violaceo il pH è troppo alto.

Altitudine (metri)	Pressione atmosferica	Parametri di CO ₂ *
0 (a livello del mare)	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%

* Calcolati come segue: (pressione a livello del mare/pressione in altitudine) x 5%.

GAIN™ medium

Medio único para el Cultivo embrionario *in vitro* de embriones y gametas humanos.

STERILE A

GAIN™ medium es esterilizado mediante filtración.
Documento: FP09 I79 GAIN R01 D.2
Actualización: 27.03.2019

ABREVIATURAS UTILIZADAS

ICSI Inyección intracitoplasmática de espermatozoides
IUI Inseminación intrauterina
IVF Fertilización *in vitro*
OCC Cúmulo-Corona-Ovocito

USO

GAIN™ medium es un medio único, para el Cultivo de embriones y gametas humanos.
Solo para uso profesional.

COMPOSICIÓN

GAIN™ medium es una solución salina con un Buffer Bicarbonato, 10 mg/ml de Gentamicina y 3,5 g/l de Sero Albumina Humana.

MATERIAL SUMINISTRADO CON EL KIT

Código del producto: GAIN010
» 1x 10ml GAIN™ medium

MATERIAL NO INCLUIDO EN EL KIT

- » Placas de cultivo
- » Incubadora de CO₂ (37°C, 5 % de CO₂)
- » Cabina de flujo laminar (ISO clase 5)
- » Microscopio
- » Jeringa (por ejemplo, 1 ml de Plastipack)
- » Catéter (para la transferencia de embriones)

ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO

- » Composición química
- » pH @ 37°C y 5 % de CO₂: 7.20-7.45
- » Osmolalidad: 270-290 mOsm/kg
- » Esterilidad: SAL 10⁻³
- » Endotoxinas: < 0,25 UE/ml
- » MEA (desarrollo de Blastocistos a las 96 horas): ≥ 80 %
- » Use productos de grado Farm. Eur. o USP, si corresponde
- » El certificado de análisis y la ficha de seguridad del material (MSDS, por su sigla en inglés) están disponibles a solicitud

COMPROBACIONES ANTES DEL USO

- » No utilice el producto si se torna turbio o presenta cualquier evidencia de contaminación microbiana.
- » No utilizar el producto si el precinto del envase está abierto o defectuoso en el momento de la entrega.

INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

- » Adecuado para el transporte o el almacenamiento a corto plazo a temperaturas elevadas (hasta 5 días a 37°C).
- » Almacenar a una temperatura entre 2 y 8°C. No debe ser congelado antes de usar.
- » Manténgalo alejado de la luz (solar).
- » Los productos se pueden utilizar de forma segura hasta 7 días después de su apertura, siempre que se mantengan las condiciones de esterilidad y los productos se almacenen a una temperatura entre 2 y 8°C.
- » No lo utilice después de la fecha de caducidad.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Las medidas estándar, evitan infecciones que puedan resultar del uso de productos medicinales derivados de la sangre o plasma humanos incluyen la selección de donantes, el análisis de las donaciones individuales y las reservas de plasma para detectar marcadores específicos de infección y la inclusión de pasos de fabricación eficaces para la desactivación o eliminación de virus. A pesar de esto, cuando se administran productos medicinales preparados con sangre o plasma humanos, la posibilidad de transmitir agentes infecciosos no se puede excluir por completo. Esto también se aplica a los virus desconocidos o emergentes y a otros agentes patógenos. No existen informes de transmisiones de virus comprobadas con albumina fabricada según las especificaciones de la Farmacopea Europea por medio de procesos establecidos. Por tanto, manipule todas las muestras como si fueran capaces de transmitir el VIH o hepatitis. Utilizar siempre ropa protectora cuando manipule las muestras. Siempre trabaje en estrictas condiciones de higiene (por ejemplo, cabina de flujo laminar ISO clase 5) para evitar una posible contaminación. GAIN™ medium contienen el antibiótico sulfato de gentamicina. Se deben tomar las precauciones adecuadas para asegurarse de que el paciente no sea sensible a dicho antibiótico.

MÉTODO

Notas generales para el uso

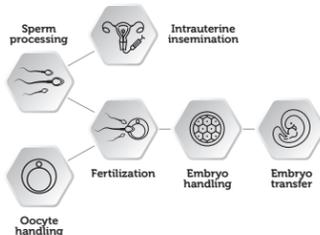
- » GAIN™ medium debe utilizarse **generalmente** en una incubadora a 37°C y 5 % de CO₂ a una presión atmosférica normal*

* **IMPORTANTE:** leer la "Nota sobre el pH óptimo y la presión atmosférica"

- » Antes de usar, incube el medio toda la noche en una incubadora de CO₂ a 37°C y optimal % de CO₂. Asegurarse que las placas de cultivo o los tubos, no están herméticamente cerrados durante la equilibración.

Uso de GAIN™ medium

GAIN™ medium puede ser usado en los procedimientos abajo indicados :



- » **Gametos:** Los ovocitos y el semen pueden ser manipulados/incubados en GAIN™ medium durante su preparación, o durante los procedimientos de FIV/ICSI/IUI. Para la preparación espermática, GAIN™ medium puede utilizarse para diluir y limpiar el semen para el centrifugado. También puede utilizarse en combinación con un gradiente de densidad (SIL-Select Plus™, FertiPro N.V., Bélgica) o la técnica de "swim-up", siguiendo los procedimientos estándar. Sin embargo, cabe señalar GAIN™ medium no contiene HEPES, por lo que para mantener el pH fisiológico es necesaria la incubación de CO₂. Si se prefiere un medio neutralizado con HEPES, recomendamos el uso de FertiCult™ Flushing medium (FertiPro N.V., Bélgica).

- » **Fertilización y Cultivo embrionario:** GAIN™ medium puede ser utilizado para la Fertilización y Cultivo embrionario desde el Día +1 hasta el estadio de Blastocisto (cultivo más corto es posible).

Ejemplo : Un sistema de cultivo adecuado, es preparar 6 placas de 6 cm con 6 gotas de 25-50 µl de GAIN™ medium. Para mantener el pH, temperatura y osmolalidad, asegurarse de que las gotas estén completamente cubiertas con Aceite de Parafina. (FertiCult™ Mineral Oil, FertiPro NV., Bélgica). Idealmente las placas deben ser preparadas el día anterior a su utilización y incubadas toda la noche en un Incubador de CO₂ a 37°C y 5% de CO₂. Por cada gota se pueden cultivar 4 OCC extraídos e inseminados con aproximadamente 0,1 millón de espermatozoides.

GAIN™ medium es un Medio único desarrollado para el Cultivo embrionario desde el Día 1 hasta Blastocisto. Sin embargo, si el medio de Cultivo es renovado, recomendamos hacerlo en Día 2 o Día 3. En este caso, asegúrese de que el nuevo medio haya sido incubado previamente antes de transferir los embriones en estadio de 4 células.

- » Utilice GAIN™ medium para **la transferencia de embriones**.

Nota sobre el pH óptimo y la presión atmosférica

GAIN™ medium debe utilizarse generalmente en una incubadora a 37°C y 5 % de CO₂. A una presión atmosférica normal a nivel del mar (101,3 kPa, entre 99 y 103 kPa) esto resultará en un medio con un pH aproximado de 7,28. A una presión atmosférica inferior o a una altitud superior, se debe aumentar el porcentaje de CO₂ en la incubadora. A continuación, encontrará una tabla con los parámetros de CO₂ estimados para diferentes presiones atmosféricas. La única manera de obtener certeza respecto del pH es medirlo directamente en las condiciones de cultivo con un medidor de pH apropiado bien calibrado. Para el cultivo óptimo del embrión el pH debe ser: 7,28 ± 0,05. GAIN™ medium contiene una baja concentración de Rojo de Fenol (aproximadamente 0,001 mM), lo que resulta suficiente para indicar el pH. Con el pH correcto, el color es rojo pálido brillante. Si el medio se torna naranja o amarillento, el pH es demasiado bajo; si se torna rosa o púrpura, el pH es demasiado alto.

Altitud (metros)	Presión atmosférica	Parámetro de CO ₂ *
0 (nivel del mar)	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%

* Calculado de acuerdo a la siguiente fórmula: (Presión a nivel del mar/altitud de presión) x 5 %.

GAIN™ medium

Medio de etapa única para uso em cultura *in vitro* de embriões e gametas humanos.

STERILE A

GAIN™ medium è sterilizzato por filtração estéril.
Doc: FP09 I79 GAIN R01 D.2
Atualização: 27.03.2019

ABREVIÇÕES USADAS

ICSI Injeção Intracitoplasmática de Esperma
IUI Inseminação intra-Uterina
FIV Fertilização *in Vitro*
OCC Corona Radiata do Oócito

USO PRETENDIDO

GAIN™ medium é um meio de etapa única e pronto para uso em embriões e gametas humanos.
Exclusivo para uso profissional.

COMPOSIÇÃO

GAIN™ medium soluções: salinas balanceadas de bicarbonato tamponado com 10 mg/litro de gentamicina e 3.5 g/litro de albumina do soro humano.

MATERIAL INCLUSO NO KIT

Código do produto: GAIN010
» 1x 10ml GAIN™ medium

MATERIAL NÃO INCLUSO NO KIT

- » Placas
- » Incubador CO₂ (37°C - 5% CO₂)
- » Fluxo laminar (ISO Classe 5)
- » Microscópio
- » Seringa (ex. 1ml Plastipack)
- » Cateter (para transferência embrionária)

ESPECIFICAÇÕES DO PRODUTO

- » Composição química
- » pH a 37°C e 5% CO₂: 7.20-7.45
- » Osmolalidade: 270-290 mOsm/kg
- » Esterilidade: SAL 10⁻³
- » Endotoxinas < 0,25 EU/ml
- » Ensaio de embriões de camundongos (blastocistos após 96h): ≥ 80%
- » Use dos produtos de gradação de Ph Eur ou USP se aplicável
- » certificado de análise e o MSDS estão disponíveis sob demanda.

VERIFICAÇÕES PRÉ-ÚSO

- » Não use o produto se o mesmo se tornar turvo, ou demonstrar qualquer evidência de contaminação bacteriana.
- » Não use o produto se o lacre do frasco estiver aberto ou danificado quando o produto for entregue.

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

- » Adequado para o transporte ou armazenamento a curto prazo a temperaturas elevadas (até 5 dias a 37°C).
- » Armazenar a 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.

AVISOS E PRECAUÇÕES

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 espécimens como potenciais transmissores de HIV ou hepatites. Sempre use vestuário protetor quando manuseando espécimens. Sempre trabalhe sob condições de higiene estritas (ex fluxo laminar ISO Classe 5) para evitar possíveis contaminações. GAIN™ medium contém o antibiótico Sulfato de Gentamicina. Devem ser tomadas as precauções apropriadas para garantir que o paciente não seja sensibilizado por esse antibiótico.

MÉTODOS

Notas gerais para o uso

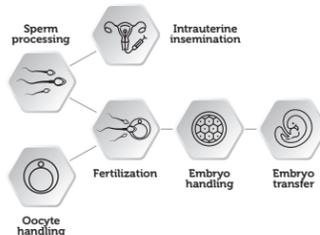
- » GAIN™ medium deve ser usado **geralmente** em uma incubadora a 37°C e 5% CO₂ em condições normais pressão*

* **IMPORTANTE:** veja "Nota sobre pH ótimo e pressão atmosférica"

- » Antes do uso, sempre incubar o meio durante a noite em incubadora de CO₂ a 37°C e 5% CO₂. Esteja certo que a tampa das placas e tubos estejam entre-abertos durante a equilibración.

Uso do GAIN™ medium

GAIN™ medium pode ser usado em todos os procedimentos abaixo:



- » **Gametas:** Óocitos e sêmen podem ser manipulados/incubados no GAIN™ medium na preparação de, ou durante FIV/ICSI/IUI. Para preparação de Sêmen o GAIN™ medium pode ser usado para diluir e lavar o sêmen para a centrifugação. Também pode ser usado em combinação com um gradiente de densidade (SIL-Select Plus™, FertiPro N.V., Bélgica) e/ou nado para cima, de acordo com os procedimentos padrão. Note, entretanto, que o GAIN™ medium não contém HEPES, visando manter um pH fisiológico, incubação em CO₂ é necessária. Se um meio com tampão HEPES é preferível, recomenda-se o uso do FertiCult™ Flushing medium (FertiPro N.V., Bélgica).

- » **Fertilização e cultura embrionária:** GAIN™ medium pode ser usado para fertilização e para cultura embrionária do dia 1 até estágio de Blastocisto expandido (É claro que tempos de cultura mais curtos são possíveis).

Exemplo: um sistema de cultura adequado é preparar em placa de 6 poços colocando 25-50 µl de GAIN™ medium em cada poço. Para manter pH, temperatura e osmolalidade, esteja certo que as gotas estejam cobertas com FertiCult™ Mineral Oil (FertiPro N.V., Bélgica). Idealmente, essas placas tenham sido preparadas no dia anterior ao uso e incubadas durante a noite anterior (over-night) na incubadora a 37°C em 5% de CO₂. Por gota, 4 OCCs aparados podem ser cultivados e inseminados com aproximadamente 0.1 milhões de espermatozoides.

GAIN™ medium é um meio de passo único (única etapa) de cultura embrionária do dia 1 até o estágio de Blastocisto expandido. Entretanto, se o meio for trocado, é recomendado que seja feito no dia 2 ou início do dia 3. Nesse caso, esteja certo que o meio fresco tenha sido pré-incubado antes de ser transferido para os embriões.

- » GAIN™ medium pode também ser usado para **transferência embrionária**.

Nota sobre pH ótimo e pressão atmosférica

GAIN™ medium pode ser usado geralmente em uma incubadora a 37°C e 5% CO₂. Condições normais de pressão atmosférica a nível do mar (101,3 kPa, variação: 99 - 103 kPa) resulta em um meio com um pH de aproximadamente 7,28. Em pressões atmosféricas mais baixas ou altitudes maiores, a porcentagem de CO₂ na incubadora deve ser aumentada. Abaixo está a tabela com o CO₂ estimado a diferentes pressões de ar. A única maneira de obter certeza sobre o pH é medindo diretamente sob condições de cultura com um pHmetro adequado e calibrado. Para cultura embrionária ótima o pH deve ser: 7,28 ± 0,05.

GAIN™ medium contém uma baixa concentração de vermelho de fenol (aprox. 0,001 mM) que é suficiente para indicar o pH. Em um pH correto, a cor é vermelho claro brilhante. Se o meio se tornar laranja ou amarelado, o pH está muito baixo e, se se tornar rosa ou arroxado, o pH está muito alto.

* Cálculo: (pressão a nível do mar/pressão de altitude) x 5%.