

# Inmunoensayo

**REF** CMS0501 / CMS0502 / CMS0503 / CMS0504 / CMS0505

50 pruebas\*1 / 100 pruebas\*1 / 100 pruebas\*2 / 100 pruebas\*5 / 50 pruebas\*2

## AMH CLIA Micropartículas

Este ensayo se basa en un inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (micropartículas CLIA) para la detección cuantitativa de AMH (hormona antimülleriana) en suero humano.

Todas las marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños.

### Key to Graphical Symbols Used

**LOT**

Código de lote



Uso para



Fabricante



contiene suficiente para <n> pruebas

**IVD**

Dispositivo medico de diagnóstico *in vitro*



Límite de temperatura

**REF**

Número de catálogo



consulte instrucciones de uso

**EC** **REP**

Representante autorizado en la Comunidad Europea

**EC** **REP**

OBELIS S.A.  
Bd. Général Wahis, 53  
1030 Brussels  
Belgium



AUTOBIO DIAGNOSTICS CO., LTD.  
No.87 Jingbei Yi Road  
National Eco & Tech Development Area  
Zhengzhou  
China  
450016



Para cualquier asistencia técnica por favor contáctenos en inglés a:

Email: [customerservice@autobio.com.cn](mailto:customerservice@autobio.com.cn)

Comuníquese con sus distribuidores locales para todas las preguntas relacionadas con el producto en su idioma local.

## Introducción

La hormona antimülleriana (AMH), también conocida como hormona inhibidora de Müller (MIH), es una glicoproteína dimérica con una masa molar de 140 kDa<sup>1</sup>. Está relacionada con la inhibina y la activina de la superfamilia beta del factor de crecimiento transformante, cuyas funciones clave están en diferenciación del crecimiento y foliculogénesis<sup>2</sup>. La AMH se expresa en las células de la granulosa del ovario durante los años reproductivos y limita la formación de folículos primarios al inhibir el reclutamiento folicular excesivo por parte de FSH<sup>3</sup>. Es probable que el aumento durante la infancia y la adolescencia refleje las diferentes etapas del desarrollo del folículo<sup>4</sup>. A partir de los 25 años, la AMH disminuye a niveles indetectables en la menopausia<sup>5</sup>. La determinación de AMH se utiliza para la evaluación general de la fertilidad, como un biomarcador del síndrome de ovario poliquístico, y para la evaluación de la reserva ovárica antes de someterse a un tratamiento de FIV con el fin de identificar a los que responden mal y, por lo tanto, reducir la tasa de cancelación, así como identificar a los que responden en exceso y, por lo tanto, reducir el riesgo de hiperestimulación; también para predecir la respuesta ovárica en una muestra de una mujer sometida a inducción de la ovulación.

## Principio de medición

Este ensayo se basa en el método sándwich de un solo paso. Se combinan la muestra, las micropartículas recubiertas de anticuerpos de AMH y el anti-AMH marcado con enzima. Durante la incubación, se permite que la AMH presente en la muestra reaccione simultáneamente con los dos anticuerpos, lo que hace que la AMH quede intercalada entre las micropartículas y los anticuerpos ligados a enzimas. Después del lavado, se genera un complejo entre las micropartículas, la AMH dentro de la muestra y los anticuerpos ligados a enzimas mediante reacciones inmunológicas. El complejo cataliza el sustrato, dando como resultado una reacción quimioluminiscente. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como RLU. El RLU es proporcional a la concentración de AMH en la muestra del paciente.

## Materiales suministrados


### 1. Calibradores

6 viales de calibrador liofilizado A a F. La matriz es tampón HEPES que contiene BSA (albúmina de suero bovino). Contiene una selección de conservantes.

Reconstituya cada calibrador liofilizado con 1.0 mL de agua destilada. Deje reposar el material reconstituido durante al menos 10 minutos. Luego invierta el calibrador para mezclarlo completamente.

### 2. Paquete de reactivos

El paquete de reactivos se proporciona listo para usar.

	50*1	100*1	100*2	100*5	50*2
Solución de micropartículas	1.2mL*1	2.3mL*1	2.3mL*2	2.3mL*5	1.2mL*2
Conjugado de enzima	5.5mL*1	11.0mL*1	11.0mL*2	11.0mL*5	5.5mL*2

### • Solución de micropartículas

Contiene anticuerpos policlonales de micropartículas recubiertas de AMH en tampón de propano BIS-TRIS que contiene BSA. Contiene una selección de conservantes.

### • Conjugado de enzima

Contiene anti-AMH marcado con peroxidasa de rábano picante en un tampón de propano BIS-TRIS que contiene BSA. Contiene una selección de conservantes.

## Analizadores de ensayo en los que se puede utilizar el kit

- AutoLumo A2000 Plus
  - AutoLumo A2000 Plus B
  - AutoLumo A1000
- AMH CLIA Microparticles

El inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (micropartículas CLIA) está diseñado para su uso en analizadores de ensayo que son AutoLumo A2000 Plus, AutoLumo A2000 Plus B y AutoLumo A1000.

## Materiales Requeridos pero no suministrados

1. Analizador de ensayo
2. Vaso (s) de reacción para la reacción de la muestra y el reactivo
3. Vaso (s) de muestra o tubo (s) para la muestra que contiene
4. Sustrato quimioluminiscente
5. Lavador del sistema para lavar las agujas de pipeteado
6. Tampón de lavado utilizado en el procedimiento de lavado
7. Agua destilada o agua desionizada

## Trazabilidad metrológica de calibradores

El mensurando (analito) en los calibradores AMH se puede rastrear hasta los calibradores de trabajo del fabricante. El proceso de trazabilidad se basa en EN ISO 17511. Los valores asignados se establecieron utilizando muestras representativas de este lote de calibrador y son específicos de las metodologías de ensayo de los reactivos. Los valores asignados por otras metodologías pueden ser diferentes. Tales diferencias, si están presentes, pueden ser causadas por sesgos entre métodos.

## Advertencias y Precauciones

1. Solo para uso profesional.
2. Siga cuidadosamente las instrucciones de uso. No se puede garantizar la confiabilidad de los resultados del ensayo si hay alguna desviación de las instrucciones en este prospecto.
3. Consulte la hoja de datos de seguridad del material y el etiquetado del producto para conocer los peligros químicos que puedan estar presentes en este ensayo.
4. Manipule los materiales y desechos potencialmente contaminados de manera segura de acuerdo con los requisitos locales.
5. PRECAUCIÓN: los calibradores contienen material de origen humano, que ha sido probado y no reactivo para HBsAg, VIH-1 y VIH-2, VHC y sífilis. Este ensayo contiene materiales de origen animal. Los componentes bovinos proceden de países donde no se ha informado de la EEB.
6. Algunos reactivos que contienen ProClin 300® pueden causar sensibilización por contacto con la piel, que debe evitarse al contacto con la piel. Este material y su recipiente deben eliminarse de forma segura. En caso de ingestión, consulte con un médico inmediatamente.
7. No fume, beba, coma ni use cosméticos en el área de trabajo.
8. Use ropa protectora y guantes desechables cuando maneje muestras y reactivos. Lávese las manos después de las operaciones
9. Realice el ensayo lejos de las malas condiciones ambientales. p.ej. aire ambiente que contiene gas corrosivo de alta concentración, como ácido hipoclorito de sodio, alcalino, acetaldehído, etc., o que contiene polvo
10. No utilice reactivo después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
11. No mezcle ni utilice componentes de kits con diferentes códigos de lote
12. Asegurese de que las micropartículas se vuelvan a suspender antes de cargarlas en el analizador.
13. Evite la formación de espuma en todos los reactivos y tupo de muestras (muestras, calibradores y controles).
14. No sustituya ningún reactivo de este kit de otros fabricantes u otros lotes.
15. Cuando se observe algún daño en el embalaje protector o cualquier cambio en el rendimiento analítico, no utilice el kit.

## Almacenamiento

1. Almacene todos los componentes del kit a 2-8 °C. No congelar. Evite

- la luz fuerte. Cuando se almacena según las instrucciones, todos los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad.
- Refrigere el paquete de reactivo a 2-10 °C durante un mínimo de 2 horas antes de su uso.
  - Almacene el paquete de reactivos sin sellar en posición vertical sobre el analizador o 2-10 °C durante un máximo de 28 días. Después de 28 días, se debe desechar el paquete de reactivos. Una vez que se retiran del analizador, guárdelos a 2-10 °C en posición vertical.
  - Selle y devuelva los calibradores reconstituidos a 2-8 °C inmediatamente después del experimento, bajo las cuales las condiciones se mantendrá la estabilidad durante 2 meses.

## Muestra

- Recoja las muestras de acuerdo con las prácticas médicas correctas.
- No utilice muestras inactivadas por calor y muestras con contaminación microbiana evidente. No utilice conservantes de azida sódica en las muestras.
- Los sedimentos y los sólidos en suspensión en las muestras pueden interferir con el resultado de la prueba, que debe eliminarse mediante centrifugación. Asegúrese de que se haya producido la formación completa del coágulo en las muestras de suero antes de la centrifugación. Algunas muestras, especialmente las de pacientes que reciben terapia anticoagulante o trombolítica, pueden exhibir un mayor tiempo de coagulación. Si la muestra se centrifuga antes de que se forme un coágulo completo, la presencia de fibrina puede causar resultados erróneos. Asegúrese de que las muestras no se deterioren antes de su uso.
- Antes del envío, se recomienda que las muestras se extraigan del coágulo, del separador de suero o de los glóbulos rojos.
- El procesamiento insuficiente de la muestra o la interrupción de la muestra durante el transporte puede causar resultados deprimidos.
- Evite las muestras extremadamente hemolíticas, lipémicas o turbias.
- Tape y almacene las muestras a 18-25 °C durante no más de 8 horas; para un uso prolongado, las muestras deben taparse y almacenarse a 2-8 °C. O congele las muestras que deban transportarse durante más de 5 días a -20 °C. Evite múltiples ciclos de congelación-descongelación. Mezcle bien las muestras descongeladas con un vórtice de baja velocidad o invirtiendo 10 veces. Inspeccione visualmente las muestras, si se observa estratificación o estratificación, continúe mezclando hasta que las muestras sean visiblemente homogéneas. Después de descongelar, lleve a temperatura ambiente y mezcle bien agitando suavemente.
- Centrifugue las muestras descongeladas que contengan glóbulos rojos o partículas, o que tengan un aspecto turbio o turbio antes de su uso para asegurar la consistencia de los resultados.
- Tenga en cuenta que pueden estar presentes niveles interferentes de fibrina en muestras que no tienen partículas obvias o visibles.
- Si no se puede verificar la recolección y preparación adecuadas de la muestra, o si las muestras se han interrumpido debido al transporte o manipulación de la muestra, se recomienda un paso de centrifugación adicional. Las condiciones de centrifugación deberían ser suficientes para eliminar las partículas.
- Para obtener resultados óptimos, inspeccione todas las muestras en busca de burbujas. Elimine las burbujas con una punta antes del análisis. Utilice una nueva punta para cada muestra para evitar la contaminación cruzada

## Procedimiento de medición

- Verifique los materiales consumibles
  - Verifique que haya un volumen adecuado de materiales consumibles antes de ejecutar la prueba.
  - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
- Cargue el kit
  - Mezcle el contenido de los paquetes de reactivos nuevos (sin perforar) invirtiendo suavemente el paquete varias veces antes de cargarlo en el analizador. Evite la formación de espuma en todos los reactivos. No invierta los paquetes abiertos (perforados). Si es necesario, agite suavemente para mezclar horizontalmente después de la primera carga.

- Lea el código de barras en el paquete de reactivo automáticamente para obtener los parámetros requeridos para la prueba.
  - Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.
  - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
- Solicitar pruebas
    - Coloque los vasos o tubos de muestra en la gradilla de muestras, se aspiran 50 µL de muestras y se transfieren automáticamente antes de cada prueba. Pero considere el recipiente de muestra y 150 µL de volúmenes muertos del sistema, que se pueden consultar en los manuales del analizador de ensayo correspondientes para conocer el volumen mínimo de muestra requerido.
    - Cargue la gradilla de muestras e ingrese la información de la muestra en la interfaz del software del sistema.
    - Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba, el analizador opera automáticamente las pruebas. Realiza las siguientes funciones:
      - Mueve la muestra al punto de ajuste
      - Carga un recipiente de reacción en la ruta del proceso
      - Aspira y transfiere la muestra al recipiente de reacción
      - Agrega la solución de micropartículas y el conjugado enzimático al recipiente de reacción
      - Mezcla, incuba y lava la mezcla de reacción
      - Agrega sustrato quimioluminiscente
      - Mide la emisión quimioluminiscente para determinar la cantidad de AMH en la muestra
      - Desecha el recipiente de reacción usado
      - Calcula el resultado
    - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
  - Calibre la curva
    - El analizador puede leer el código de barras en el paquete de reactivo automáticamente para obtener los parámetros requeridos para la prueba.
    - Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.
    - Transfiera los calibradores a los vasos o tubos de muestras y colóquelos en la gradilla de muestras. Realice la detección de duplicados en el sistema.
    - Cargue la gradilla de muestras y la información de los calibradores de entrada en la interfaz del software del sistema.
    - Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba y generar la curva de calibración, se requiere calibración cada 28 días.
    - Una vez que se acepta y se almacena una curva de calibración, todas las muestras posteriores pueden analizarse sin más calibración a menos que:
      - Los controles están fuera de rango después de mediciones repetidas
      - Se utiliza un kit de reactivos y una solución de sustrato con un nuevo código de lote
      - Más allá de la fecha de caducidad de una curva de calibración
      - Se reemplazan o reparan piezas importantes del analizador.
    - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.

## 5. Diluir la muestra

Las muestras con un valor de AMH superior a 25 ng / ml se pueden diluir manualmente. Se utiliza una muestra de AMH de baja concentración para diluir las muestras. Después de la dilución, multiplique el resultado por el factor de dilución.

- La concentración de la muestra después de la dilución no debe ser inferior a 0,6 ng/ml

## Resultados de medición

El software del sistema determina automáticamente los resultados de la prueba de muestra. La cantidad de AMH en las muestras se determina a partir de la producción de luz medida mediante los datos de calibración almacenados. Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos para revisar los resultados de las muestras.

## Procedimiento de control

Los controles para los distintos rangos de concentración deben ejecutarse individualmente cuando la prueba esté en uso, una vez por kit de reactivos y después de cada calibración.

Los intervalos y límites de control deben adaptarse a los requisitos individuales de cada laboratorio. Los valores obtenidos deben estar dentro de los límites definidos. Cada laboratorio debe establecer las medidas correctivas a tomar si los valores caen fuera de los límites definidos.

Siga las regulaciones gubernamentales aplicables y las pautas locales para el control de calidad.

## Limitaciones del procedimiento

- Este ensayo está destinado a ayudar al diagnóstico clínico. Realice este ensayo junto con el examen clínico, el historial médico del paciente y otros resultados de la prueba.
- Si los resultados no concuerdan con la evidencia clínica, se sugiere realizar pruebas adicionales para confirmar el resultado.
- Los anticuerpos heterofílicos y los factores reumatoideos en las muestras pueden interferir con los resultados de la prueba. Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con el reactivo inmunoglobulina, interfiriendo con los inmunoensayos in vitro. Los pacientes expuestos habitualmente a animales o productos de suero animal pueden ser propensos a esta interferencia y pueden observarse valores anómalos. Es posible que se requiera información adicional para el diagnóstico. Este tipo de muestras no es adecuado para ser analizado por este ensayo.
- Los pacientes que han recibido anticuerpos monoclonales de ratón para diagnóstico o terapia pueden desarrollar HAMA (anticuerpos humanos anti-ratón). HAMA puede producir valores falsamente altos o falsamente bajos en inmunoensayos que utilizan anticuerpos monoclonales de ratón. Es posible que se requiera información adicional para el diagnóstico.
- Esta prueba mide concentraciones dentro del rango de 0.02 ng / mL-25 ng / mL. Si se esperan concentraciones de AMH por encima del rango de medición, se recomienda diluir las muestras con una muestra de valor bajo. La dilución recomendada es 1: 4 de esta prueba, lo que permite que las muestras alcancen aproximadamente 125 ng / mL.

## Intervalo de referencia biológica

Los rangos normales se obtuvieron analizando muestras de suero de 120 hombres y 733 mujeres definidos como normales por el médico. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal, que puede ser exclusivo de la población a la que atiende, dependiendo de factores geográficos, del paciente, dietéticos o ambientales.

Género	Edad	Número	Media (ng/mL)	95%RI (ng/mL)
Hombre	≥18	120	4.86	1.49-11.68
Mujer	20-24	121	4.03	1.72-9.57
Mujer	25-29	125	3.40	1.24-9.23
Mujer	30-34	120	2.82	0.73-7.62
Mujer	35-39	120	2.11	0.84-5.31
Mujer	40-44	127	1.12	0.15-3.02
Mujer	45-50	120	0.28	0.10-2.12

\*RI: Intervalo de rangos de referencia

## Características de rendimiento

### 1. Precisión de medición

Se analizaron 3 muestras por duplicado de 2, dos veces al día durante 20 días de prueba. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Muestra	n	Media (ng/mL)	Dentro de corrida (%CV)	Total (%CV)

1	80	1.19	2.77	3.05
2	80	6.25	1.94	3.57
3	80	16.45	2.30	2.96

\* Datos representativos; Los resultados en laboratorios individuales pueden diferir de estos datos.

### 2. Sensibilidad Analítica

Límite de blanco: 0.01ng/mL.

Límite de detección: 0.017 ng/mL.

Límite de cuantificación: 0.045 ng/mL con un coeficiente de variación del 20%.

### 3. Especificidad Analítica

Reacción cruzada: Se probaron las siguientes sustancias y concentraciones y no se encontró reacción cruzada con la prueba.

Sustancias	Concentration tested
INH A	100 ng/mL
Activin A	15 µg/mL
LH	100 mIU/mL
FSH	115 mIU/mL
TGF β-1	65 ng/mL

Interferencia: Sin interferencias con 20 mg/dL de bilirrubina, 100 mg/dL de hemoglobina, 3000 mg/dL de triglicéridos.

### 4. Exactitud de la medición por correlación

Se realizó un estudio en el que se analizaron muestras utilizando este ensayo y la prueba AMH que ya estaba disponible en el mercado. Los datos se analizaron y se resumen en la siguiente tabla.

Método de correlación	Número de muestras	Intercepto	Pendiente	Coefficiente de correlación
Regresión Linear	214	-0.4799	0.9595	0.9939

### 5. Efecto gancho de dosis alta

Se determinó una muestra enriquecida con AMH hasta 2000 ng/mL, el resultado de concentración obtenido fue ≥25 ng/mL.

## Literatura de referencia

- Hampel R, Šnajderová M, Mardešić T (2011). Antimüllerian hormone (AMH) not only a marker for prediction of ovarian reserve. *Physiological Research*. 60 (2): 217–23.
- Rzeszowska M, Leszcz A, Putowski L, Hałabiś M, Tkaczuk-Iach J, Kotarski J, Polak G (2016). Anti-Müllerian hormone: structure, properties and appliance. *Ginekologia Polska*. 87 (9): 669–674.
- Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, Cranfield M, Groome NP, Visser JA, Kramer P, Fauser BC, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Molecular Human Reproduction*. 10 (2): 77–83.
- Dewailly D, Andersen CY, Balen A, Broekmans F, Dilaver N, Fanchin R, Griesinger G, Kelsey TW, La Marca A, Lambalk C, Mason H, Nelson SM. The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women. *Human Reproduction Update*. 20 (3): 370–85.
- Kelsey TW, Wright P, Nelson SM, Anderson RA, Wallace WH. A validated model of serum anti-müllerian hormone from conception to menopause. *PLOS One*. 6 (7): e22024.