

AMH Reagent Kit

Instruções de Uso

Ref.: 4025

ANVISA 10009010401

REF 4025-50, 50 testes/kit

REF 4025-100, 100 testes/kit

Uso pretendido . Detecção quantitativa automática *in vitro* do hormônio anti-mülleriano (AMH) em soro e plasma humano, utilizado principalmente para auxílio no diagnóstico de infertilidade ao avaliar a reserva ovariana na clínica.

Uso profissional.

[Somente para uso diagnóstico *in vitro*]

Analísador . Equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Resumo . O Hormônio anti-mülleriano (AMH) é uma glicoproteína dimérica formada por dois monômeros idênticos de 72 kD conectados por ligações de bissulfeto, que pertence à superfamília do fator de transformação do crescimento beta (TGF- β). O AMH exerce suas funções biológicas, principalmente através do receptor AMH II (AMHR II).¹ O AMH é expresso de forma diferente nos diferentes estágios de crescimento e desenvolvimento de homens e mulheres. Durante o desenvolvimento embrionário, o AMH pode regular a diferenciação e desenvolvimento do aparelho reprodutivo, que é essencial para diferenciação do sexo; após o nascimento, o AMH pode regular a função das células de Leydig para indivíduos do sexo masculino; para indivíduos adultos do sexo feminino, o AMH inibe o recrutamento do folículo primordial¹, para prevenir a depleção prematura dos folículos.

A principal aplicação clínica do AMH é avaliar a reserva ovariana feminina e prover uma base para o diagnóstico auxiliar de doenças relacionadas ao sistema reprodutivo e a avaliação de fertilidade feminina no tratamento de outras doenças. Em comparação com outros indicadores biológicos convencionais, o AMH tem diversas vantagens óbvias na avaliação da reserva ovariana. Por exemplo, em comparação com FSH, estradiol (E2), inibina B (inhB) e contagem de folículos antrais (CFA), o AMH pode refletir a tendência de declínio precoce da reserva ovariana e seu nível não é afetado pelo ciclo menstrual, contraceptivos hormonais e gravidez. Ao diagnosticar a síndrome ovariana policística (SOP)³, em comparação com mulheres ovulantes saudáveis, a concentração de AMH no fluido folicular de pacientes com SOP é 5 vezes mais alta que o valor normal. Além disso, em comparação com as células granulosas de um ovário normal, o AMH produzido por cada célula granulosa de pacientes anovulatórios com SOP aumenta em média 75 vezes. O AMH pode prever a menopausa e diagnosticar falha ovariana prematura. Em um estudo, níveis de AMH, CFA e FSH de 257 mulheres com idades entre 21 a 46 anos de idade com eumenorreia foram detectados e 48 delas entraram na menopausa após 11 anos. A regressão de Cox foi conduzida entre a idade da menopausa e os fatores acima e os dados ajustados de idade demonstraram que apenas o nível do AMH pode prever

adequadamente a idade de menopausa. Ainda há um número significativo de mulheres com falha ovariana prematura cujos níveis séricos de FSH eram inferiores ao valor do ponto de corte de diagnóstico de 40 UI/mL, porém os níveis séricos de AMH eram 100% inferiores à concentração de referência de menopausa, o que demonstrou que AMH podia diferenciar melhor a falha ovariana prematura que o FSH⁴.

Princípio do teste . O ensaio AMH é um imunoenensaio de dois locais (princípio “sanduiche”) para determinar a presença de AMH no soro e plasma humano utilizando a tecnologia de imunoenensaio de quimioluminescência (CLIA). Na primeira etapa, o analito na amostra, as micropartículas paramagnéticas revestidas com anti-AMH e o conjugado anti-AMH marcado com acridina são combinados e incubados. As substâncias não reagidas são lavadas e removidas. O AMH presente na amostra se liga às micropartículas paramagnéticas revestidas com anti-AMH e ao acridínio anti-AMH marcado. Por fim, as soluções de Pre-Trigger e Trigger são adicionadas à mistura da reação, e a reação quimioluminescente é medida como Unidades Relativas de Luz (RLUs). Existe uma relação direta entre a quantidade de AMH na amostra e RLUs detectadas pelo sistema automático. Os reagentes são calibrados por uma *Master Curve*, disponibilizada via QR Code, e adaptada ao analisador por meio de dois calibradores que acompanham o kit.

Reagentes

Reagentes - soluções de trabalho

REF	4025-50	4025-100
Testes por kit	50	100
R1	6,0 mL	11,0 mL
M	3,5 mL	6,0 mL
CAL 1	1,0 mL	1,0 mL
CAL 2	1,0 mL	1,0 mL
CONTROL 1	1,0 mL	1,0 mL
CONTROL 2	1,0 mL	1,0 mL
Tampas de silicone	2	2

R1 - Anti-AMH conjugado com acridina em tampão fosfato com estabilizadores de proteína. Conservante: agente antimicrobiano.

M - Micropartículas revestidas anti-AMH no tampão TRIS com estabilizadores de proteína. Conservante: agente antimicrobiano.

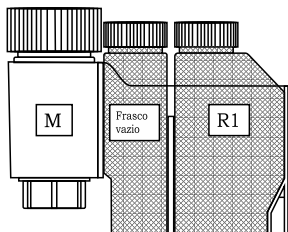
CAL 1 - Antígeno AMH em tampão de fosfato com estabilizadores de proteína. Conservante: agente antimicrobiano.

CAL 2 - Antígeno AMH em tampão de fosfato com estabilizadores de proteína. Conservante: agente antimicrobiano.

CONTROL 1 - Controle Positivo 1 (nível baixo): Antígeno AMH em tampão de fosfato com estabilizadores de proteína. Conservante: agente antimicrobiano.*

CONTROL 2 - Controle Positivo 2 (nível alto): Antígeno AMH em tampão de fosfato com estabilizadores de proteína. Conservante: agente antimicrobiano.*

*Para média e intervalo ver item Valores especificados para os controles.



Advertências e precauções

- Apenas para uso de diagnóstico in vitro.
- Tome os cuidados habituais de segurança necessários para manipular todos reagentes de laboratório.
- O descarte de todo o material residual deve ser feito de acordo com as diretrizes locais.
- Ficha de segurança disponível no site www.labtest.com.br.
- Evite formação de espuma em todos os reagentes e tipos de amostras (amostra, calibradores e controles).
- Não use após a data de validade.
- Siga as recomendações de modo exato para resultados corretos.
- A rack deve ser mantida na posição vertical.

Precauções de segurança

Cuidado . Este produto exige a manipulação de amostras humanas. É recomendado que todos os materiais obtidos de humanos sejam considerados potencialmente infecciosos. Biossegurança de nível 2 ou outras práticas de biossegurança apropriadas devem ser usadas para materiais que contenham ou que haja suspeita que contenham agentes infecciosos.

Manuseio dos reagentes

1. Não retirar os frascos dos reagentes da rack.
2. Antes de carregar os reagentes no equipamento, homogeneizar suavemente por inversão e inspecionar visualmente o fundo do Reagent M para garantir que todas as partículas foram ressuspensas. Após a mistura, coloque o reagente na posição vertical por 1 hora antes de usar, para garantir que as bolhas que possam ter se formado se dissipem. As bolhas podem interferir na detecção do nível de reagente no frasco e causar aspiração insuficiente, afetando negativamente os resultados.
3. Retire a tampa do R2 (frasco vazio) e substitua a tampa original dos reagentes R1 e M pelas tampas de silicone quando o reagente for carregado no equipamento automático.
4. A rack deve ser mantida na posição vertical, durante a utilização e

armazenamento do kit.

5. Homogeneizar suavemente os calibradores e controles antes do uso.

6. Amostras, calibradores e controles não devem exceder o tempo total de 2 horas destampados e fora de refrigeração, devido a possíveis efeitos de evaporação. Recomenda-se que logo após a pipetagem os mesmos sejam retirados do equipamento e retornados a sua condição de armazenamento padrão.

Armazenamento e estabilidade . Não congele. Armazene o AMH Reagent Kit Ref. 4025 na posição vertical para garantir a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática antes do uso. Em caso de tombamento das rack de reagentes, realizar nova calibração e conferir a recuperação dos valores dos controles para garantir que o desempenho do produto não tenha sofrido alteração.

Estabilidade:

Fechado a 2 - 8 °C	até a data de validade apresentada
Aberto a 2 - 8 °C	45 dias
On board	28 dias

Indicações de deterioração de reagente . A deterioração dos reagentes pode ser indicada quando ocorrer um erro de calibração ou um valor de controle estiver fora da faixa especificada. Os resultados de testes associados são inválidos e as amostras devem ser testadas novamente. A recalibração do ensaio pode ser necessária.

Coleta e preparação de amostras . Utilizar Soro e plasma (heparina de lítio). Estável por 24 horas a 20-25 °C, 5 dias a 2-8 °C, 6 meses a -20 °C (± 5 °C)^{5,6}. Amostras que passaram por um ciclo de congelamento/descongelamento foram avaliadas e os resultados foram satisfatórios. Amostras contendo precipitados devem ser centrifugadas antes da execução do ensaio. Para resultados exatos, amostras de soro devem estar sem fibrina, hemácias e outros materiais particulados. Amostras de soro de pacientes que receberem terapia anticoagulante ou trombolítica podem conter fibrina, devido à formação incompleta de coágulo. Verifique se as amostras, calibradores e controles estão a 20-25 °C antes da medição. Devido a possíveis efeitos de evaporação, amostras, calibradores e controles nos analisadores devem ser analisados/medidos em até 2 horas.

Procedimento

Materiais fornecidos . Consulte a seção “reagentes - soluções de trabalho” para reagentes.

Materiais necessários e não fornecidos

1. Concentrated Wash Buffer Ref. 4001 ou Wash Buffer Ref. 4100
2. Trigger Solution Ref. 4002
3. Pre-Trigger Solution Ref. 4003
4. System Maintenance Fluid Ref. 4004
5. Sample Diluent A Ref. 4060

6. Cubetas de reação para o equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência da marca Labtest.

Procedimento de ensaio . Todas as informações necessárias para a operação correta são lidas pelo equipamento a partir dos respectivos códigos de barras e *QR Code*. Para um melhor desempenho do ensaio, consulte o manual do usuário para obter instruções específicas do analisador. Após a etapa de homogeneização e repouso de 1 hora insira os reagentes na bandeja de reagentes do analisador. O sistema regula automaticamente a temperatura dos reagentes. O volume de amostra necessário para um teste é 50 µL sem considerar o volume morto e o volume adicional na pipetagem da amostra, descritos no manual do equipamento.

Calibração . Rastreabilidade: Este método é rastreável a padrões de referência internos que passaram por uma atribuição de valor único para se alinhar com outro ensaio comercialmente disponível. Depois que uma calibração é aceita e armazenada, todas as amostras subsequentes podem ser testadas, sem calibração adicional. Uma nova calibração deve ser executada nas seguintes condições:

- Um kit de reagente com um novo lote seja utilizado.
- Quando os controles da qualidade não atenderem os limites estabelecidos.
- Depois de 14 dias, quando utilizado o mesmo lote de reagente.
- Após a manutenção de peças ou subsistemas críticos, ou após a execução dos procedimentos de serviço no analisador.

Controle da qualidade . O requisito de controle recomendado para o ensaio AMH é que uma amostra simples de cada nível de controle seja testada uma vez a cada 24 horas a cada dia de uso. Os intervalos e limites de controle devem ser adaptados para cada requisito individual de laboratório. Os valores obtidos devem estar dentro dos limites definidos. Cada laboratório deve estabelecer medidas corretivas que devem ser tomadas, se os valores estiverem fora dos limites definidos. Se necessário, repita a medição das amostras envolvidas. Siga regulamentações governamentais e diretrizes locais aplicáveis para controle da qualidade, por exemplo “*Basic QC Practices*” (“Práticas básicas de CQ”), de James O. Westgard, para recomendações sobre práticas de controle da qualidade de laboratório.

Valores especificados para os controles . Os valores especificados para o CONTROL 1 e para o CONTROL 2 podem ser encontrados após a leitura de seu *QR Code*, presente na rack de reagente, pelo equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Para o equipamento Vercentra CS-1500: após a leitura do *QR Code*, deve-se clicar no ícone CTL, que é a interface de Controle da Qualidade, e selecionar o parâmetro a ser analisado. Para consultar o limite superior UL (*Upper Limit*), o inferior LL (*Lower Limit*) e a média (*Target*), deve-se selecionar o nível e o lote de controle que será avaliado.

Para outros modelos de equipamentos dedicados aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest: consultar o manual do usuário.

Esses valores também podem ser encontrados no certificado de

análise de cada lote do produto que está disponível no site www.labtest.com.br.

Resultados

Cálculo . O ensaio AMH utiliza um método de redução de dados de adequação de curva logística de 4 parâmetros (4PLC, ponderado Y) para gerar a calibração e os resultados.

Cálculo para demonstração dos resultados em unidades alternativas
Fórmula de conversão: (concentração na unidade de resultado padrão) x (fator de conversão) = (concentração na unidade de resultado alternativo).

Unidade de resultado padrão	Fator de conversão	Unidades de resultado alternativo
pmol/L	0,14	ng/mL
ng/mL	7,14	pmol/L

Procedimentos de diluição de amostra . Amostras com concentrações de AMH acima da faixa de medição podem ser diluídas com diluente de amostra (Sample Diluent A Ref. 4060). A diluição recomendada é 1:2 (automaticamente pelos analisadores ou manualmente). Após a diluição manual, multiplique o resultado pelo fator de diluição. Após a diluição pelos analisadores, o software considera automaticamente a diluição ao calcular a concentração de amostra.

Limitações do procedimento

- Os resultados devem ser usados em conjunto com outros dados; por exemplo, sintomas, resultados de outros testes e impressões clínicas.
- Se os resultados de AMH forem inconsistentes com evidências clínicas, testes adicionais são recomendados.
- As amostras de pacientes que receberam preparações de anticorpos monoclonais de camundongos para diagnósticos ou terapia podem conter anticorpos humanos anti-camundongos (HAMA). Essas amostras podem apresentar valores falsamente elevados ou diminuídos quando testados com kits de ensaio, como AMH, que empregam anticorpos monoclonais de camundongos. Informações clínicas ou de diagnóstico adicionais podem ser necessárias para determinar a condição do paciente.
- Anticorpos heterofílicos no soro humano pode reagir com imunoglobulinas do reagente, interferindo em imunoenaios in vitro. Pacientes rotineiramente expostos a animais ou produtos de soro animal podem ser propensos a essa interferência e valores anômalos podem ser observados. Informações adicionais podem ser necessárias para diagnóstico.

Características de desempenho . Dados representativos de desempenho são apresentados nesta seção. Os resultados obtidos em laboratórios individuais podem variar.

Limites inferiores de medição . O limite de quantificação de 0,02 ng/mL foi obtido utilizando a menor concentração de analito que pode ser medida de forma reprodutível com CV ≤ 20%.

Faixa de medição . 0,02-23,00 ng/mL (com base nas recomendações de CLSI EP06-A). Os valores abaixo do limite de detecção são reportados como < 0,02 ng/mL. Os valores acima da faixa de medição são reportados como >23,00 ng/mL ou até 46,00 ng/mL para amostras diluídas 2 vezes.

Valores esperados . Os valores a seguir de AMH foram encontrados em amostras de adultos saudáveis (120 indivíduos do sexo masculino, 390 indivíduos do sexo feminino).

Percentil de AMH (ng/mL)			
Amostras		Nº	Intervalo de confiança de 95%
Indivíduos do sexo masculino		120	0,77-14,5
Indivíduos do sexo feminino	20-24	60	1,22-11,7
	25-29	60	0,89-9,85
	30-34	120	0,58-8,13
	35-39	50	0,15-7,49
	40-44	25	0,03-5,47
	45-50	25	0,02-2,71
SOP		50	1,86-18,9

Cada laboratório deve investigar a transferibilidade dos valores esperados para sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar seus próprios intervalos de referência.

Estudo de comparação de métodos . O método proposto foi comparado com o método de tecnologia similar, sendo obtidos os seguintes resultados:

	Método Comparativo	Método Labtest
Número de amostras	100	
Equação	Método Labtest = 0,954 x Método comparativo - 0,1151	
Coefficiente de correlação	0,9844	

Precisão . A precisão foi determinada utilizando reagente AMH, amostras de soro humano agrupadas e controles de acordo com protocolo (EP15-A3) do CLSI (Instituto de Normas Clínicas e de Laboratório): amostras testadas 5 vezes por dia por 5 dias (n = 25). Repetibilidade CV ≤ 8%, Imprecisão intra-laboratorial CV ≤ 10%.

Interferência

O AMH Reagent Kit Ref. 4025 não apresentou interferência significativa das substâncias citadas a seguir. Esses compostos apresentaram interferência ≤ 10% no Reagente AMH nos níveis indicados abaixo:

Substância potencialmente interferente	Concentrações
Hemoglobina	≤ 500 mg/dL
Bilirrubina	≤ 30 mg/dL
Triglicérides	≤ 1000 mg/dL
Biotina	≤ 30 ng/mL

Especificidade analítica . Ao avaliar a especificidade analítica do AMH Reagent Kit Ref. 4025, o ensaio não apresentou interferência significativa com os hormônios citados a seguir:

Hormônios potencialmente interferente	Concentração
Inibina A	100 ng/mL
Ativina A	100 ng/mL
LH	500 mUI/mL
FSH	500 mUI/mL

Referências

- Di Clemente, N., et al. Components of the anti-Müllerian hormone signaling pathway in gonads. Mol Cell Endocrinol 211, 9–14 (2003).
- Durlinger, A. L. · et al. Regulation of ovarian function: the role of anti-Müllerian hormone. Reproduction 124, 601–609 (2002).
- Bhide, P., et al. Each small antral follicle in ovaries of women with polycystic ovary syndrome produces more antimüllerian hormone than its counterpart in a normal ovary: an observational cross-sectional study. Fertil Steril 103, 537–541 (2015).
- Alipour, F., et al. Comparison of Specificity and Sensitivity of AMH and FSH in Diagnosis of Premature Ovarian Failure. Dis Markers 2015, 585604 (2015).
- Vrzáková, R., et al. The Stability of the Anti-Müllerian Hormone in Serum and Plasma Samples under Various Preanalytical Conditions. Diagnostics (Basel, Switzerland), 13, 8, 1501. (2023).
- Fleming, R. et al. Stability of AMH measurement in blood and avoidance of proteolytic changes. Reproductive biomedicine online, 26, 2, 130-2 (2013).

Para informações sobre outras apresentações comerciais consulte o site www.labtest.com.br ou entre em contato com o SAC.

Informações ao consumidor

[Termos e Condições de Garantia]

A Labtest Diagnóstica garante o desempenho deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.



Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296/0001-38

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP: 33240-152

Lagoa Santa, Minas Gerais - Brasil - www.labtest.com.br

Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 3411 (Ligação Gratuita)

e-mail: sac@labtest.com.br

Edição: Julho, 2023

Revisão: Dezembro, 2024

Ref.: 240725(02)

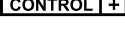
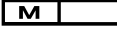
Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.

Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with IVD devices

	Conteúdo suficiente para < n > ensaios Contenido suficiente para < n > ensayos Sufficient content for < n > trials		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Prazo de validade (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Fecha de expiración (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Expiration date (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura límite (conservar a) Temperature limit (store at)		Tóxico Tóxico Poison
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Carcinogénico/mutagénico e/ou sensibilizante à respiração Carcinogénico/mutagénico y/o sensibilizante respiratorio Carcinogenic/mutagenic and/or respiratory sensitizer		Atenção Atención Attention
	Tóxico para os organismos aquáticos Tóxico para los organismos acuáticos Toxic for aquatic organisms		Data de fabricação Fecha de fabricación Date of manufacture
	Gases/líquidos combustíveis Gases/líquidos oxidantes Oxidizing gases/liquids		Fabricante Fabricante Manufacturer
	Substância inflamável Sustancia inflamable Flammable substance		Uso veterinário Uso veterinario Veterinary use
	Período após abertura Período post-abertura Period after-opening		Liofilizado Liofilizado Lyophilized
	Produto de uso único Producto de un solo uso Single use product		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number
	Instalar até Instalar hasta Install before		Controle Control Control
	Material Calibrador/Padrão Material Calibrador/Estándar Calibrator/Standard Material		Controle negativo Control negativo Negative control
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro Dispositivo médico para diagnóstico in vitro In vitro diagnostic medical device		Controle positivo Control positivo Positive control
	Reagente contendo micropartículas Reactivo con micropartículas Reagent with microparticles		Reagente Reactivo Reagent
	Identificador único do dispositivo Identificador único del dispositivo Unique device identifier		Pré-Tratamento Pretratamiento Pre-Treatment

Ref.: 160125 |