



## CDG AMH ELISA (HORMONA ANTI-MÜLLERIANA) Product Code: HM-AMH-96E

### Sección 1 – INTRODUCCIÓN Y USO PREVISTO

El CDG AMH ELISA es un inmunoensayo para la determinación cuantitativa in vitro de Hormona Anti-Mülleriana (AMH) en muestras de suero humanas. Este kit está desarrollado para el laboratorio de investigación y no para el uso en diagnóstico y procedimientos terapéuticos.

### Sección 2 - RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La AMH es una glicoproteína dimeral conformada por dos monómeros de 72 kDa que pertenece a la superfamilia TGFβ (factor de crecimiento transformante beta). Su nombre proviene de su descubridor Johannes Peter Müller. También ha sido llamada Factor Inhibidor Mülleriano (FIM), Hormona Inhibidora Mülleriana (HIM) o sustancia inhibidora Mülleriana (SIM) (1).

En la mujer, es producida por las células de la granulosa de folículos preantrales y primordiales en el ovario, cuya función es inhibir de manera paracrina el reclutamiento de folículos primordiales y disminuir la sensibilidad de los folículos antrales pequeños a la FSH (2). Al ser secretada por folículos que todavía no han sufrido el reclutamiento cíclico, no es dependiente del eje hipotálamo-hipofisogonadal, característica que la diferencia de los demás marcadores clásicos de reserva ovárica, y le confiere ciertas ventajas, como una escasa o casi nula variabilidad durante el ciclo menstrual, y una disminución más "notoria" durante el trayecto de edad fértil femenino; lo cual, le convierte en un excelente marcador de reserva ovárica (2). Adicionalmente la AMH es útil en tratamiento de fertilización in vitro, predicción de la transición a la menopausia (3), Síndrome de Ovarios Poliquísticos (se ha visto que en las mujeres con ovarios poliquísticos la AMH está un 75% más elevada de lo normal) (4), Tumor de células granulosas (7), entre otros.

### Sección 3 – PRINCIPIO

El kit CDG AMH ELISA es un inmunoensayo cuantitativo tipo sándwich. En el primer paso, se agregan calibradores, controles y muestras desconocidas en los pozos de microtitulación recubiertos con anticuerpo Anti-AMH y se incuban con anticuerpo Anti-AMH conjugado con Peroxidasa de Rábano Picante (HRP). Posteriormente, los pozos se incuban con una solución de sustrato cromogénico y por último se agrega una solución de parada que detiene la reacción estabilizando el color. En principio, el anticuerpo conjugado se une al complejo Antígeno -Anticuerpo en fase sólida. Posteriormente, el complejo Antígeno-Anticuerpo-Conjugado fijado al pozo es detectado mediante la adición de un sustrato cromogénico. Las absorbancias medidas, son directamente proporcionales a la concentración de AMH en las muestras y los calibradores.

### Sección 4 - CONTENIDO DEL KIT

La caja del kit CDG AMH ELISA contiene:

- 96 pozos de reacción recubiertos con anticuerpo de Anti-AMH.
- Conjugado Enzimático: Anticuerpo Anti-AMH conjugado con Peroxidasa de Rábano (6 mL).
- 6 Viales de Calibrador de AMH (6 niveles) Liofilizados (1 mL).
- 2 Viales de Controles de AMH (2 niveles) Liofilizados (1 mL).
- Sustrato: Tetrametilbenzidina (TMB) y Peróxido de hidrogeno en buffer transparente (12 mL).
- 1 frasco de Solución de Parada: Contiene un ácido fuerte (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (8 mL).
- 1 Frasco CDG ELISA® Buffer de Lavado 20x Tampón fosfato que contiene Tween R-20 y Proclin® (20 mL).

### MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Micropipetas con capacidad de dispensar 50 - 100 µl.
- Cronometro.
- Lector de microplacas con filtros de 450 y 630nm.
- Alternativamente, un procesador automático de ELISA.

### Sección 5 – ALMACENAMIENTO

Almacenar a 2-8 ° C. Fecha de vencimiento es válida solo si los reactivos se almacenan cerrados a la temperatura señalada.

**Nota: No use los reactivos del kit después de la fecha de vencimiento.**

### Sección 6 - ESTABILIDAD Y MANEJO DE REACTIVOS

Maneje los reactivos en condiciones limpias para minimizar la contaminación microbiana.

No deje que la placa se seque entre el lavado y la adición de reactivos.

La solución de sustrato no debe entrar en contacto con ácidos, materiales combustibles y agentes oxidantes o reductores fuertes. Asegúrese de que ningún componente metálico entre en contacto con el sustrato sin haber probado previamente su compatibilidad. CDG Biotech Corp. no se hace responsable por el mal manejo de los reactivos incluidos en el kit.

### Sección 7 - PRECAUCIONES

- Sólo para diagnóstico in vitro. Sólo para uso profesional.
- Use sólo los componentes del kit. No mezcle componentes de diferentes kits o fabricantes a menos que se especifique.
- Se deben utilizar puntas de pipeta nuevas y limpias para cada paso del ensayo. Use sólo material limpio, preferiblemente desechable.
- Use guantes protectores desechables, bata de laboratorio y protección para los ojos al manipular muestras. Lávese bien las manos después de manipular las muestras. Además, siga todos los protocolos de seguridad en uso en su laboratorio.
- No utilizar en caso de daños al empaque.
- Nunca pipetear con la boca.
- El diluyente de suero, los pocillos de reacción, los conjugados y el calibrador en este kit incluyen sustancias de origen animal. Todos los componentes han sido evaluados y han resultado negativos para, Antígeno de Superficie de la Hepatitis B (HBsAg), Anticuerpos contra la Hepatitis C y Anticuerpos contra el Virus de la Inmunodeficiencia Humana, los sueros de control y las

muestras de pacientes deben manipularse como potencialmente infecciosos. Los pozos de reacción están recubiertos con antígeno inactivado. Sin embargo, deben considerarse potencialmente infecciosos y manejarse con cuidado. Ningún método actual puede ofrecer una garantía completa de que los agentes infecciosos están ausentes.

- La solución de sustrato puede ser irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel. En caso de contacto con esta solución, enjuague bien con agua y busque atención médica. Para obtener más información, se encuentra disponible a solicitud la Hoja de datos de seguridad del material.
- No use este producto en procesadores automatizados a menos que hayan sido previamente validados para ese propósito.
- Todo el material debe manipularse y eliminarse como potencialmente infeccioso. Observe las regulaciones locales para la eliminación de residuos clínicos.
- CDG Biotech Corp. no se hace responsable por el mal manejo de los reactivos incluidos en el kit.

### Sección 8 - RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Todas las muestras de venopunción ya sean sangre, plasma o suero deben tomarse con las precauciones habituales. Para una comparación precisa con los valores normales establecidos, se debe obtener una muestra de suero en ayunas por la mañana. La muestra debe ser recolectada en un tubo tapa roja simple o (para plasma) en un tubo vacío que contenga heparina. Permita que la sangre se coagule para obtener muestras de suero. Centrifugue la muestra para separar el suero o el plasma de las células. Asegúrese de procesar las muestras dentro de las 3-6 horas después de la recolección, o guárdelas de acuerdo con lo especificado en la Tabla 1 (evite congelar y descongelar repetidamente). Cuando se analizan por duplicado, se requieren 0.100 mL (100 µL) de muestra más el volumen muerto del tubo.

Tabla 1. Recomendaciones para la conservación de la muestra antes de la realización del análisis

2-8° C	24 horas
Temperatura ambiente (20-25°C)	9 horas
Congelar a -20°C	2 meses

### Sección 9 - CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio está a cargo de probar sus propios controles como desconocidos en rangos bajo, normal y alto. Todos los rangos utilizados deben tener límites. Con el fin de seguir el desempeño en cada procedimiento realizado, se deben usar gráficos de CC y los métodos estadísticos pertinentes para determinar la tendencia. La luminiscencia máxima debe ser consistente con experiencias pasadas. Si se observa cualquier desviación de los estándares de rendimiento establecidos, puede indicar algún cambio o degradación en los reactivos del kit. En este caso se deben utilizar reactivos frescos para determinar la razón de la variación.

### Sección 10 - PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos suministrados están listos para usar, a menos que se especifique lo contrario:

1. Bufer de Lavado: Disuelva el contenido (20 mL) de - CDG ELISA Solución de Lavado (20x) hasta 1 litro con agua destilada. Si se forman cristales de sales en la solución concentrada durante el almacenamiento, caliente la solución a 37 ° C antes de diluir. Una vez diluido, almacene a 2-8.

- Reconstituir los calibradores y Controles liofilizados con 1 mL de agua destilada o desionizada. Los calibradores reconstituidos son estables por 10 días a 2-8 °C. Para periodos de almacenamiento más largos congelar a -20 °C. No descongelar más de dos veces.

### Sección 11 - PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Nota: La prueba debe ser realizada por un individuo calificado o profesional capacitado.

### MANUAL

- Llevar la Solución de Lavado (Diluida de acuerdo con las instrucciones) a temperatura ambiente 20-25 °C (sacar de la nevera aproximadamente 1 hora antes de usar).
- Enumere los pozos a utilizar para cada calibrador, control y muestra a procesar. Los pozos que no se vayan a utilizar deben colocarse nuevamente en la bolsa de aluminio sellada y se deben almacenar nuevamente a 2-8°C.
- Dispense 50 µl del calibrador, control o muestra en el pozo correspondiente.
- Dispensar 50 µl de Conjugado Enzimático.
- Mezclar A 600 RPM por 20-30 segundos.
- Cubrir e Incubar 60 minutos a temperatura ambiente.
- Descartar el contenido de los pozos mediante aspiración o decantación (en caso de decantación golpear gentilmente contra un papel absorbente para secar los pozos).
- Dispensa 350 µl de CDG ELISA Solución de Lavado (diluida de acuerdo a las instrucciones) por pozo. Descartar el contenido de los pozos por aspiración o decantación (en caso de decantación golpear gentilmente contra un papel absorbente para secar los pozos). Repetir 2 veces más para un total de 3 lavados.
- Dispense 100 µl de sustrato TMB en cada pozo e incubar a temperatura ambiente por 20 minutos en cámara oscura. NO MEZCLAR LUEGO DE AGREGAR EL SUSTRATO.
- Dispense 50 µl de solución de parada en cada pozo. Mezclar gentilmente 15 - 20 segundos.

- Leer las absorbancias de cada pozo con filtro de 450nm y un filtro de referencia de 630nm. La lectura debe ser realizada dentro de 15 minutos de haber agregado la solución de parada.

- En caso de muestras con valores superiores a 15 ng/ml diluir con suero o plasma con valores bajos de AMH procesar nuevamente y multiplicar el valor de acuerdo a la dilución utilizada.

### Sección 12 -CÁLCULO DE RESULTADOS

Los resultados del CDG AMH ELISA se reportan en ng/mL. Para el cálculo de los resultados se debe crear una curva de respuesta a la dosis trazando las absorbancias de cada suero de referencia en el eje Y, y las concentraciones correspondientes en el eje X. una vez realizado dibujar la curva que mejor se ajuste a los puntos.

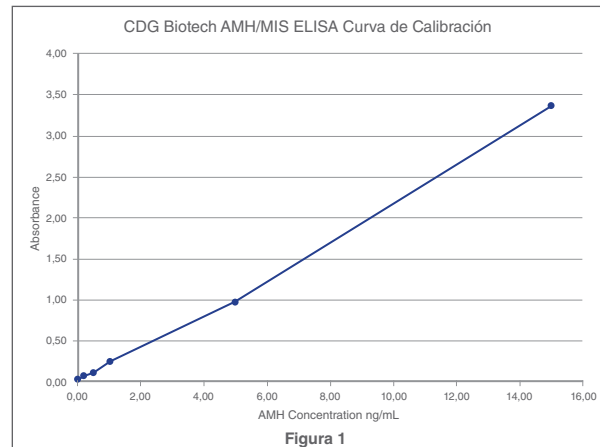
Para determinar la concentración de una muestra desconocida se debe ubicar la absorbancia en el eje Y, y buscar el punto de intercepción en la curva para localizar la concentración en el eje X.

Se puede utilizar un software de reducción de datos diseñado para ELISA. Es necesario realizar una validación del software antes de utilizarlo.

### Curva de respuesta a la dosis:

Una curva típica para CDG AMH ELISA se presenta en las siguientes Tablas y figuras:

Tabla 2. Ejemplo de Curva de Calibración		
ID Muestra	Media ABS	Concentración de AMH (ng/mL)
Calibrador 1	0,03	0,00
Calibrador 2	0,07	0,20
Calibrador 3	0,11	0,50
Calibrador 4	0,25	1,00
Calibrador 5	0,98	5,00
Calibrador 6	3,38	15,00



\* Los datos presentados en la Tabla 2 y la Figura 1 son solo ilustrativos y no deben usarse en lugar de una curva de respuesta a la dosis preparada con cada ensayo. No usar para calcular sus resultados

### Sección 13 - ANÁLISIS DE RIESGO

Análisis de riesgo y SDS, según lo exige la Directiva CE Mark IVD 98/79/EC para este y otros dispositivos fabricados por CDG Biotech Corp, se pueden solicitar por correo electrónico a [info@cdgbiotech.com](mailto:info@cdgbiotech.com).

### Sección 154- INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- Las mediciones y la interpretación de los resultados deben ser realizadas por personal capacitado.
- Los resultados de laboratorio por sí solos son solo un aspecto para determinar la atención del paciente y no deben ser la única base para la terapia, especialmente si los resultados entran en conflicto con otros factores determinantes.
- Los reactivos para el sistema de ensayos se han formulado para eliminar la mayoría de las interferencias; sin embargo, la interacción potencial entre muestras de suero raras y los reactivos del ensayo pueden causar resultados erróneos. Los anticuerpos heterófilos a menudo causan estas interacciones y se sabe que ocasionan problemas para todo tipo de inmunoanálisis. Para fines de diagnóstico, los resultados de este ensayo deben ser usados

en combinación con el examen clínico, el historial del paciente y todos los demás hallazgos clínicos.

- Para obtener resultados de ensayos válidos, los controles adecuados y otros parámetros deben estar dentro de los rangos y los requisitos de ensayo enumerados.
- CDG Biotech Corp no tendrá ninguna responsabilidad si se realizan modificaciones a los kits de ensayo, (como mezclar partes de diferentes kits) que pudiesen producir resultados falsos del ensayo, o si los resultados son interpretados incorrectamente.
- Si se utiliza el sistema de reducción de datos controlados por Computador para interpretar los resultados del ensayo, es necesario que los valores de predicción para los calibradores se ubiquen dentro del 10% de las concentraciones asignadas.

### Sección 16 - RENDIMIENTO

#### SENSIBILIDAD

La sensibilidad analítica se calculó a partir de la media menos dos desviaciones estándar de veinte (20) análisis repetidos del Calibrador 0 y se encontró que era de 0.08 ng/mL

#### LÍMITE MÁXIMO DE DETECCIÓN

16 ng/mL

#### RANGO DINÁMICO

0.08 – 16 ng/mL

#### PRECISIÓN, INTRA E INTER ENSAYO CV%

La precisión intra e inter ensayo del CDG AMH ELISA fue determinado mediante análisis de tres diferentes niveles de grupos de suero control. El número, el valor de la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación para cada uno suero control es presentado en las Tabla 4 y la Tabla 5.

Tabla 4. Precisión Intra-ensayo (Valores en ng/mL)			
QC	N	Concentración de PSA Libre ng/ml	CV %
Nivel 1	15	0,85	5,4%
Nivel 2	15	4,2	3,6%

Tabla 4. Precisión Inter-ensayo (Valores en ng/ml)			
QC	N	Concentración de PSA Libre ng/ml	CV %
Nivel 1	15	0,94	7,2%
Nivel 2	15	4,1	4,2%

Sección 17 – REACTIVIDAD CRUZADA E INTERFERENCIAS Hemoglobina (hasta to 4 mg/mL), Bilirrubina (hasta 0.5 mg/mL) Y Triglicéridos (hasta 30 mg/mL) no tienen influencia en los resultados del ensayo.

Hasta ahora no se conoce ninguna sustancia (droga) que tenga influencia en la medición de la AMH en una muestra.

La reactividad cruzada de el CDG AMH ELISA fue probada al agregar la sustancia interferente a una matriz de suero a las siguientes concentraciones.

La reactividad cruzada se calculó derivando una relación entre la dosis de sustancia interferente y la dosis de AMH necesaria para producir la misma señal.

Substance	Cross Reactivity	Concentration
FSH	<0.001	100 mIU/mL
HCG	<0.001	1000 mIU/mL
LH	<0.001	200 mIU/mL
Prolactina	<0.001	100 ng/mL

### Sección 18 - RANGO DE VALORES ESPERADO

Se aconseja a cada laboratorio que establezca sus propios rangos para poblaciones normales y anormales. Estos rangos siempre dependen del lugar, la población, el laboratorio, la técnica y la especificidad del método.

#### Estos rangos solo deben usarse como guías:

Los valores de referencia obtenidos al evaluar grupos de mujeres aparentemente sanas de diferentes grupos etarios con el kit de CDG ELISA AMH son:

AMH Level ng/mL	Interpretación
>3.0	Alto
>1.0	Normal
0.7 - 0.9	Bajo Normal
0.3 - 0.6	Bajo
<0.3	Muy bajo

### Sección 19 - REFERENCIAS

- AMH – applications beyond IVF. Topolcan, Ondrej. 1, 2013, Middle East Fertility Society Journal, Vol. 18, págs. 15-17
- Utilidad de la hormona antimülleriana (AMH) según especialistas latinoamericanos en reproducción asistida. Serrano, Pedro José González. 3, 2014, Reproducción, Vol. 29, págs. 89-97
- Anti-müllerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. Van Rooij I, Den Tonkelaar I, Broekman F, Looman C., 6, 2004, Menopause, Vol. 11, págs. 601-606.
- Polycystic ovary syndrome. Norman RJ, Dewailly D, Legro RS, Hickley T. 370, 2007, Lancet, págs. 685-697
- Hormona antimülleriana. Reserva ovárica y reserva testicular. Samanta Unger, Helga Beraja Pizzoglio. 3, 2010, Reproducción, Vol. 25

### SÍMBOLOS UTILIZADOS EN ETIQUETAS:

	Dispositivo de diagnostico In vitro
	Fecha de vencimiento
	Almacenar a x-y °C
	Contiene suficiente para <n> pruebas
	Código de Lote
	Número de catalogo
	Consultar instrucciones de uso
	<x> Pozos



CDG Biotech Corporation  
31332 Via Colinas, unit 106/111  
Westlake Village, CA. 91362.USA  
[www.cdgbiotech.com](http://www.cdgbiotech.com)



EU representative:  
Emergo Europe  
Prinsessegracht 20. 2514 AP The Hague The Netherlands  
Email: [EmergoVigilance@ul.com](mailto:EmergoVigilance@ul.com)  
Rev A  
Effective Date: 25.06.20  
Approved: Noel Silva