



# AFIAS AMH

## USO PRETENDIDO

**AFIAS AMH** é um imunoensaio fluorescente (FIA) para a determinação quantitativa de AMH (hormônio anti-mulleriano) em sangue total/soro/plasma humano. É útil no auxílio do manejo e monitoramento da insuficiência ovariana prematura, menopausa e reserva ovariana.

Uso somente em diagnóstico *in vitro*.

## INTRODUÇÃO

AMH é uma glicoproteína dimérica, também chamada substância inibidora mulleriana (MIS). A AMH é membro da família Fator de Crescimento Transformador Beta (TGF-β) de fatores de crescimento e diferenciação<sup>1,2</sup>. No sexo masculino, a principal função da AMH é ser responsável pela regressão das estruturas mullerianas no útero. A AMH é produzida nos testículos até a puberdade e, em seguida, diminui lentamente após o término dessa fase<sup>3</sup>. A liberação de AMH das células granulosas dos folículos antrais leva a níveis séricos mensuráveis, e essas concentrações têm se mostrado proporcionais ao número de folículos em desenvolvimento nos ovários. Portanto, a AMH foi considerada um marcador para o processo de envelhecimento ovariano<sup>1</sup>.

O AMH é um marcador ideal para reserva funcional ovariana porque é formado apenas pelos folículos primários, que são potencialmente capazes de maturação, e pelos folículos secundários. Há, portanto, uma correlação muito boa entre o nível de AMH sérico e o número de folículos potencialmente capazes de maturação e, portanto, também a reserva funcional ovariana<sup>2</sup>. Em mulheres com mais de 30 anos e, particularmente, aquelas com mais de 35 anos, o AMH pode ser usado como um teste de triagem para avaliar o estado de fertilidade<sup>3</sup>. No que diz respeito à taxa de resposta à estimulação ovariana, o AMH possui um valor muito maior do que a Inibina B<sup>2</sup>. Além disso, a AMH não está sujeita às mesmas flutuações dependentes do ciclo que a Inibina B e o FSH na avaliação da reserva funcional ovariana. Assim, o AMH pode ser utilizado em qualquer momento durante o ciclo menstrual, enquanto os dias 3-5 do ciclo devem ser escolhidos ao testar FSH e Inibina B<sup>4</sup>.

## PRINCÍPIO

O teste utiliza um método de imunodetecção tipo sanduíche com fluorescência de Európio.

O anticorpo detector presente no tampão se liga ao antígeno presente na amostra, formando complexos antígeno-anticorpo que migram para a matriz de nitrocelulose para serem capturados pelo outro anticorpo imobilizado na tira de teste.

Quanto mais antígeno estiver presente na amostra, mais complexos antígeno-anticorpo serão acumulados na tira teste, levando a uma maior intensidade do sinal da fluorescência do anticorpo detector, a qual é processada no leitor AFIAS mostrando a concentração de AMH na amostra.

## COMPONENTES

- AFIAS AMH** consiste em ‘cartuchos’.
- Cada embalagem de alumínio contém dois cartuchos.
  - Cada cartucho em uma embalagem de alumínio contém três componentes, um correspondente ao cartucho, um ao tampão de detecção e outra correspondente ao diluente.
  - A parte do cassete contém uma membrana teste que possui estreptavidina na linha teste, e anticorpo IgY de galinha na linha controle.
  - A parte do tampão de detecção contém um conjugado fluorescente anti-AMH humano, um conjugado fluorescente anti-AMH-Biotina humana, conjugado fluorescente anti-IgY de galinha, MAB-33-IgG, sacarose, azul de bromofenol e albumina de soro bovino (BSA) no tampão TRIS, como estabilizador.
  - A parte do diluente contém BSA, Tween 20, CA-630, cloreto de sódio e azida sódica como conservante em tampão salino de fosfato.

## ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Uso somente em diagnóstico *in vitro*.
- Siga as instruções e procedimentos descritos nesta "Instrução de uso".
- Usar somente amostras frescas e evitar a exposição direta à luz solar.
- Os números de lote de todos os componentes do teste (cartucho e ID chip) devem ser correspondentes.
- Não misturar materiais de diferentes lotes do produto ou usar o produto após a data de validade, em qualquer um dos casos, resultados incorretos poderão ocorrer.
- Não reutilize cartuchos. Um cartucho deve ser usado para testar apenas uma amostra.
- O cartucho deve permanecer selado em sua embalagem original até seu uso imediato. Não usar um cartucho se a embalagem estiver danificada ou já tiver sido aberta.
- A amostra congelada deve ser descongelada apenas uma vez. Para transporte, as amostras devem ser embaladas de acordo com os regulamentos locais. Amostras com hemólise severa e/ou hiperlipidemia não devem ser utilizadas.
- Se os componentes do teste e/ou a amostra forem armazenados na geladeira, deve-se deixar o cartucho e a amostra em temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos antes do uso.
- O equipamento AFIAS pode gerar leve vibração durante o uso.
- Os cartuchos e ponteiras utilizadas devem ser manuseadas cuidadosamente e descartadas de forma apropriada, de acordo com as regulamentações locais pertinentes.
- O cartucho contém azida sódica (NaN<sub>3</sub>) e pode causar certos problemas de saúde, como convulsões, pressão arterial e frequência cardíaca baixa, perda de consciência, lesão pulmonar e insuficiência respiratória. Evite contato com pele, olhos e roupas. Em caso de contato, enxágue imediatamente com água corrente.
- Não foi observada interferência de Biotina no teste **AFIAS AMH** quando a concentração de biotina na amostra foi inferior a 2 ng/mL. Caso um paciente tenha tomado biotina em dose superior a 0,03 mg por dia, recomenda-se testar novamente 24 horas após a interrupção da ingestão de biotina.
- Quimioterapia ou radioterapia para tratamento de câncer

- podem causar danos aos ovários e impactar os níveis de AMH.
- Em pacientes com certas doenças autoimunes ou crônicas inflamatórias, como artrite reumatoide, a função ovariana pode ser prejudicada, o que pode influenciar nos níveis de AMH.
  - Certas medicações, incluindo contraceptivos orais, tratamentos hormonais, suplementos dietéticos ou antidepressivos, podem alterar a atividade ovariana, afetando os níveis de AMH.
  - **AFIAS AMH** fornecerá resultados precisos e confiáveis se sujeitos às condições abaixo.
  - **AFIAS AMH** deve ser utilizado somente em conjunto com os instrumentos AFIAS.
  - Tem que ser usado com anticoagulantes recomendados:

Anticoagulante recomendado
Heparina de Lítio

- **O modo C-tip deve ser usado quando as seguintes condições forem atendidas:**
  - O uso do C-tip fornecido junto ao kit é recomendado para a obtenção de resultados corretos.
  - O sangue total deve ser imediatamente testado após a coleta.
  - Não realizar um teste com o C-tip no ‘Modo Geral’. Pode causar um resultado errado.
  - O excesso de sangue ao redor do C-tip deve ser limpo.
  - Para evitar contaminação cruzada, não reutilize a ponteira C-tip para várias amostras.
  - O cartucho AFIAS deve ser inserido e posicionado na entrada de cartuchos no equipamento antes da coleta da amostra de sangue.
  - Ao coletar o sangue, tenha cuidado para não criar bolhas de ar no C-tip.

## LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- O teste pode apresentar resultados falso-positivos devido a reações cruzadas e/ou adesão não específica de certos componentes da amostra aos anticorpos de captura/detectores.
- O teste pode apresentar resultados falso-negativos devido à não responsividade do antígeno aos anticorpos, o que é o mais comum se o epítopo for mascarado por alguns componentes desconhecidos, portanto, não pode ser detectado ou capturado pelos anticorpos. A instabilidade ou degradação do antígeno com tempo e/ou temperatura também pode causar resultado falso-negativo, pois torna o antígeno irreconhecível pelos anticorpos.
- Outros fatores podem interferir no teste e causar resultados errôneos, como erros técnicos e de procedimento, degradação dos componentes/reagentes do teste ou presença de substâncias interferentes nas amostras do teste.
- Qualquer diagnóstico clínico baseado no resultado do teste deve ser apoiado por uma avaliação abrangente do médico em conjunto com sintomas clínicos e outros achados relevantes.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE			
Condição de armazenamento			
Componente	Temperatura de armazenamento	Validade	Nota
Cartucho	2 - 30 °C	20 meses	Fechado

	1 meses	Aberto
--	---------	--------

- Devolva o cartucho não utilizado à embalagem zipperbag para cartucho sobressalente que contém o agente dessecante e feche novamente a embalagem até o uso.

## MATERIAS FORNECIDOS

Componentes do <b>AFIAS AMH</b>	
■ A Caixa do kit contém:	
- Cartuchos	24
- Ponteiras	24
- Embalagem zipperbag para cartuchos	1
- ID chip	1
- Instrução de uso	1
- C-tip (30 µL)	24

## MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os itens a seguir podem ser adquiridos separadamente do kit **AFIAS AMH**.

Entre em contato para obter mais informações.

- **AFIAS-1**
- **AFIAS-3**
- **AFIAS-6**
- **AFIAS-10**
- **Boditech AMH Control**
- **Boditech AMH Calibrator**

## COLETA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

Os tipos de amostras utilizadas com o kit **AFIAS AMH** são plasma/soro/sangue total humano.

- Recomenda-se testar a amostra em até 24h após a coleta.
- As amostras de soro e plasma devem ser separadas por centrifugação dentro de 3 horas após coleta do sangue total.
- As amostras de sangue total, soro e plasma podem ser armazenadas por uma semana a 2-8 °C antes de serem testadas. Se os testes forem adiados por mais de uma semana, as amostras de soro e plasma devem ser congeladas a -20 °C.
- As amostras de soro e plasma congeladas a -20 °C durante 2 meses não mostraram diferença de desempenho.
- No entanto, amostras de sangue total não devem ser mantidas congeladas em nenhum caso.
- Uma vez que as amostras forem descongeladas, essas devem ser utilizadas somente uma vez. O congelamento e descongelamento sucessivo pode afetar o resultado do teste.
- Coleta de amostra de sangue total usando C-tip.
  - ① Segure a ponta do C-tip horizontalmente e toque na superfície do sangue com o C-tip.
  - ② A ação da capilaridade irá automaticamente retirar a amostra de sangue para a ponta do C-tip e parar.
  - ③ Limpe o excesso de sangue ao redor da ponteira.
  - ④ Verifique atentamente se o sangue total está preenchido corretamente no C-tip e se o equipamento AFIAS está pronto para uso no ‘Modo C-tip’.

## CONFIGURAÇÕES DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **AFIAS AMH** conforme descrito: cartuchos, ponteiras, C-tips, ID chip, embalagem zipperbag para cartucho e instruções de uso.
- Certifique-se de que o número de lote do cartucho corresponde ao do chip de identificação.
- Se o cartucho selado tiver sido armazenado na geladeira,

Instruções de Uso

- Para uso em diagnóstico *in vitro*
- coloque-o em uma superfície plana à temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos antes da realização do teste.
- Ligue o equipamento AFIAS.
  - Esvazie a caixa de ponteiras.
  - Insira o ID chip na porta do chip 'ID'.
- ✳ **Favor consultar o Manual de Operações dos equipamentos AFIAS para obter informação completa e instruções de operação.**

PROCEDIMENTO DO TESTE

► AFIAS-1, AFIAS-3, AFIAS-6

Modo Geral

- 1) Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- 2) Insira a ponteira no orifício para ponteiras no cartucho.
- 3) Selecione ‘General mode’ no equipamento.
- 4) Pipete 100 µL de amostra (sangue total/soro/plasma) e coloque-a no poço de amostra no cartucho.
- 5) Selecione o ícone 'START' na tela.
- 6) O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

Modo C-tip

- 1) Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- 2) Pegue 30 µL de sangue total usando C-tip.
- 3) Insira o C-tip contendo o sangue total no orifício para ponteiras no cartucho.
- 4) Selecione ‘Modo C-tip’ no equipamento.
- 5) Selecione o ícone ‘START’ na tela.
- 6) O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

► AFIAS-10

Modo Geral

- 1) Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- 2) Insira a ponteira no orifício para ponteiras no cartucho.
- 3) Selecione o botão ‘Carregar’ para ler o Código de barras do cartucho e confirme o nome escrito no cartucho.
- 4) Insira o tubo de amostra no rack de tubos.
- 5) Insira o rack de tubos na parte de carregamento da estação de amostras.
- 6) Selecione o ícone ‘START’ na tela.
- 7) O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

Modo de Emergência – Modo Geral

- 1) O procedimento do teste é o mesmo do ‘Modo Geral’ 1) – 3)‘.
- 2) Passe para o ‘Modo de Emergência’ no AFIAS-10.
- 3) Selecione o tipo de ponteira (general tip) na tela.
- 4) Selecione o tipo de amostra (sangue total/soro/plasma) na tela.
- 5) Pipete 100 µL de amostra e coloque-a no poço de amostra no cartucho.
- 6) Selecione o ícone 'START' na tela.
- 7) O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

Modo de Emergência – C-tip

- 1) Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- 2) Pegue 30 µL de sangue total usando C-tip.
- 3) Insira o C-tip contendo o sangue total no orifício para ponteiras no cartucho.

- 4) Selecione o botão ‘Carregar’ para ler o Código de barras do cartucho e confirme o nome escrito no cartucho.
- 5) Passe para o ‘Modo de Emergência’ no equipamento.
- 6) Selecione o tipo de ponteira (C-tip) na tela.
- 7) Selecione o ícone ‘START’ na tela.
- 8) O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

- O equipamento AFIAS calcula automaticamente a concentração de AMH na amostra em termos de ng/mL.
- Faixa de medição: 0,02 – 15 ng/mL
- Os níveis de AMH podem variar de acordo com vários fatores, incluindo idade, etnia, estilo de vida, fundo genético e presença de certas condições médicas.
- Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores de referência.
- Os resultados fornecidos por este ensaio não devem ser utilizados como base única para decisões clínicas, como avaliação da função ovariana, diagnóstico de infertilidade ou predição de menopausa. Os resultados devem ser interpretados em conjunto com outros testes hormonais e achados clínicos.
- Esse produto não se destina a diagnóstico confirmatório. O diagnóstico final deve ser feito por um médico qualificado, baseado em métodos de testes mais específicos e uma avaliação abrangente dos achados clínicos.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Controle de qualidade (CQ) são parte das boas práticas laboratoriais para confirmar os resultados esperados e a validade do ensaio e devem ser realizados em intervalos regulares.
- Os testes de controle de qualidade também devem ser realizados sempre que houver qualquer dúvida sobre a validade dos resultados dos testes.
- Os controles do kit **AFIAS AMH** são fornecidos sob demanda. Para maiores informações sobre a obtenção do controle, entre em contato com o setor comercial da BioSys. (Por favor, consulte as instruções de uso do kit do controle).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

- **Sensibilidade analítica**  
Limite do Branco (LoB): 0,015 ng/mL  
Limite de Detecção (LoD): 0,02 ng/mL  
Limite de Quantificação (LoQ): 0,02 ng/mL

- **Especificidade analítica**  
- **Reatividade cruzada**  
Biomoléculas como as da tabela foram adicionadas à amostra em concentrações muito superiores aos seus níveis fisiológicos normais no sangue. Os resultados dos testes do kit **AFIAS AMH** não mostraram qualquer reatividade cruzada significativa com essas biomoléculas.

Materiais de Reatividade Cruzada	Concentração
Activina A	100 ng/mL
Activina B	100 ng/mL
Inibina A	50 ng/mL
Inibina B	50 ng/mL

FSH	500 IU/L
LH	500 IU/L

- Interferências

As interferências listadas na tabela a seguir foram adicionados à amostra de ensaio na concentração mencionada abaixo. Os resultados dos testes do kit **AFIAS AMH** não mostraram qualquer interferência significativa com esses materiais.

Interferentes	Concentrações
Hemoglobina	5 g/L
Triglicerídeo	35 g/L
Bilirrubina	300 mg/L
HAMA	2 µg/L
Albumina	65 g/L
Paracetamol	1655 µmol/L
Ibuprofeno	2425 µmol/L
Ampicilina	152 µmol/L
Ácido acetilsalicílico	3.62 µmol/L
Ácido Ascórbico	528 µmol/L
Heparina de Lítio	100 U/mL

■ Precisão

3 lotes de **AFIAS AMH** foram testados por 21 dias (7 dias por Lote em 1 local por um operador). Cada material padrão foi testado duas vezes por dia. Para cada teste, cada material foi duplicado.

- Repetibilidade (precisão entre corridas).

A repetibilidade da **AFIAS AMH** foi avaliada com 1 Lote.

- Precisão Total (precisão dentro do laboratório)

A Precisão Total (entre corridas, entre execução, entre dias) do **AFIAS AMH** foi avaliada com 1 Lote.

- Precisão entre lotes

A precisão entre lotes do **AFIAS AMH** foi avaliada com 3 lotes.

Conc. [ng/mL]	Repetibilidade		Precisão Total		Entre lotes	
	Média	CV(%)	Média	CV(%)	Média	CV(%)
0.25	0.25	5.8	0.25	5.7	0.25	5.7
1	0.99	6.6	0.99	6.0	0.99	6.0
8	8.08	6.0	8.04	6.0	8.03	5.9

- Entre operadores

Três pessoas diferentes testaram **AFIAS AMH** dez vezes em cada concentração do controle padrão.

- Entre locais

Três pessoas diferentes testaram **AFIAS AMH** em três locais diferentes; dez vezes em cada concentração do controle padrão.

- Entre equipamentos

Três pessoas diferentes testaram **AFIAS AMH** com três leitores diferentes, cinco vezes em cada concentração do controle padrão.

Conc. [ng/mL]	Entre Pessoas		Entre Locais		Entre Equipamentos	
	Média	CV(%)	Média	CV(%)	Média	CV(%)
0.25	0.25	6.1	0.25	5.1	0.25	4.9
1	1.00	6.1	1.00	5.8	1.01	5.6
8	7.9	6.0	7.97	6.4	8.00	6.2

■ Exatidão

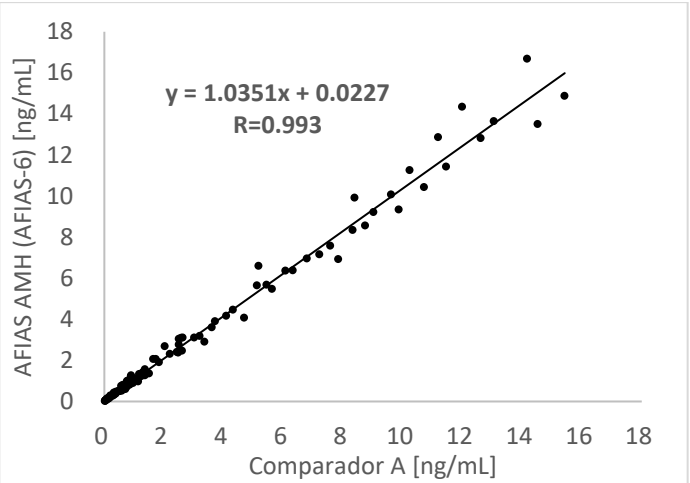
A precisão foi realizada através do teste de 3 lotes diferentes do **AFIAS AMH**. Os testes foram repetidos 10 vezes em cada

concentração do controle padrão.

Conc. esperada [ng/mL]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média	Recuperação (%)
0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	102.7%
0.85	0.83	0.83	0.84	0.84	98.3%
1.65	1.65	1.66	1.66	1.66	100.5%
3.24	3.20	3.32	3.26	3.26	100.6%
5.37	5.34	5.49	5.30	5.38	100.1%
8.03	8.05	8.02	8.08	8.05	100.2%

■ Comparabilidade

A concentração de AMH foi medida em 100 amostras clínicas, independentemente com AFIAS AMH (AFIAS-6) e Comparador A de acordo com os procedimentos de teste prescritos. Os resultados dos testes foram comparados e sua comparabilidade foi investigada com regressão linear e coeficiente de correlação (R). A equação de regressão e o coeficiente de correlação são os seguintes:



REFERÊNCIAS

1. Didier Dewailly et al. The physiology and clinical utility of anti-Mullerian hormone in women, Hum Reprod 20(3):370-385., 2014.
2. de Vet A et al. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging, Fertil Steril 77(2): 357–62., 2002.
3. Taguchi, Osamu et al. Timing and irreversibility of Müllerian duct inhibition in the embryonic reproductive tract of the human male. Developmental Biology. 106 (2): 394–398., 1984.
4. Rey R et al. AMH/MIS: what we know already about the gene, the protein and its regulation. Molecular and Cellular Endocrinology. 211 (1-2): 21–31., 2003.
5. Behringer RR. The in vivo roles of müllerian-inhibiting substance. Current Topics in Developmental Biology. Current Topics in Developmental Biology. 29: 171–87., 1994.
6. Gnoth C et al.: Relevance of anti-Mullerian hormone measurement in a routine IVF program. Human Reprod. 23: 1359–65., 2008.
7. Tsepelidis S et al.: Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. Human Reprod 22: 1837–1840., 2007.

Instruções de Uso

Para uso em diagnóstico *in vitro*

8. E. Anckaert et al. Multicenter analytical performance evaluation of a fully automated anti-Mullerian hormone assay and reference interval determination. Clinical Biochrmistry. 49:260-267, 2016.

**Observação:** Favor consultar a tabela abaixo para identificar os diversos símbolos:

	Suficiente para <n> testes
	Consulte as instruções de uso
	Validade
	Lote
	Catálogo
	Cuidado, consulte documentos anexos
	Fabricante
	Representante autorizado da Comunidade Europeia
	Diagnóstico <i>in vitro</i>
	Limites de temperatura
	Não reutilizar
	Este produto cumpre as exigências da Diretiva 98/79/CE relativa aos dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i>

**Boditech Med Inc.**  
43, Geodudanji 1-gil, Dongnae-myeon, Chuncheon-si,  
Gang-won-do, 24398, Republic of Korea  
Tel: +(82) -33-243-1400  
Fax: +(82) -33-243-9373  
www.boditech.co.kr



**Fabricante:** Boditech Med Incorporated  
**Regularizado por:** BioSys Ltda  
**Rua** Coronel Gomes Machado, 358, Centro, Niterói, RJ  
**Cep:** 24020-112  
**CNPJ:** 02.220.795/0001-79  
**Anvisa:** 10350840421  
**SAC:** sac@biosys.com.br- (21) 3907-2534 / 0800 015 1414  
**www.grupokovalent.com.br/**