

**USO PRETENDIDO**

ichroma™ AMH é um imunoenensaio fluorescente (FIA) para determinação quantitativa do AMH (hormônio anti-mulleriano) em **soro/plasma humano**. É útil no auxílio do gerenciamento e monitoramento da insuficiência ovariana prematura, menopausa e reserva ovariana. Uso somente em diagnóstico *in vitro*.

INTRODUÇÃO

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

O AMH é um marcador ideal para reserva funcional ovariana porque é formada 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 da reserva funcional ovariana.² 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.³ No que diz respeito à taxa de resposta à estimulação ovariana, o AMH possui valor muito maior do que a Inibina B.² Além disso, o AMH não está sujeito às mesmas flutuações dependentes do ciclo que a Inibina B e a FSH na avaliação da reserva funcional ovariana. Assim, o AMH pode ser usada em qualquer ponto durante o ciclo menstrual, enquanto os dias 3-5 do ciclo devem ser selecionados ao testar FSH e Inibina B.⁴

PRINCÍPIO

O teste utiliza um método de imunodeteção tipo sanduíche: 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 ser capturado 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 icroma mostrando a concentração de AMH na amostra.

COMPONENTES

O kit **ichroma™ AMH** consiste em 'cassetes', 'detectores', um 'diluyente'.

- O cassete contém uma membrana chamada de tira de teste que possui estreptavidina na linha de teste e anticorpos IgY de galinha na linha de controle. Cada cassete é individualmente selado em um invólucro de folha de alumínio contendo um dessecante.
- O detector possui 2 grânulos contendo anticorpos conjugados fluorescentes anti-AMH humano, conjugado fluorescente anti-IgY de galinha, conjugado de biotina anti-AMH humano, albumina de soro bovino (BSA) e sacarose como estabilizador, MAB33 como bloqueador no tampão Tris-HCl. Todos os detectores estão embalados em uma caixa.
- O diluyente contém a albumina de soro bovino e NaCl como estabilizador, tween 20 como surfactante e azida de sódio como um conservante em tampão fosfato-salino (PBS), e é pré-dispensado em um frasco. O diluyente está embalado em uma caixa.

ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Use somente em diagnóstico *in vitro*
- Seguir cuidadosamente as instruções e procedimentos descritos neste folheto informativo.
- Usar somente amostras frescas e evitar exposição direta à luz do sol.
- É possível usar amostras congeladas. Consulte a seção "COLETA E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS".
- Os números de lote de todos os componentes de teste (cassete, detector, diluyente e ID chip) devem coincidir entres si.
- 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 reutilizar cassetes ou detectores. O cassete deve ser utilizado para testar apenas uma amostra. Um detector deve ser utilizado para o processamento de apenas uma amostra.
- O cassete deve permanecer em seu invólucro original selado até imediatamente antes do uso. Não usar o cassete caso o invólucro esteja danificado ou aberto.
- Amostras congeladas devem ser descongeladas somente uma vez. Para transportá-las, as amostras devem ser embaladas de acordo com as normas locais. Amostras com hemólise severa e/ou hiperlipidemia não podem ser utilizadas e devem ser coletadas novamente.
- **O CASSETE, O DETECTOR, O DILUYENTE DO DETECTOR E A AMOSTRA DEVEM ESTAR À TEMPERATURA AMBIENTE POR APROXIMADAMENTE 30 MINUTOS ANTES DE SUA UTILIZAÇÃO.**
- O leitor icroma poderá emitir pequenas vibrações durante o uso.
- Os tubos de tampão de detecção, diluyente, as ponteiras e os cassetes devem ser manuseados cuidadosamente e descartados da forma apropriada conforme as normas locais.

Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico in vitro

- O detector e o diluente contêm NaN_3 como conservante. Uma exposição a grandes quantidades de azida sódica pode causar sérios problemas de saúde como convulsões, diminuição da pressão sanguínea e frequência cardíaca, perda de consciência, dano pulmonar e falha respiratória. Evite o contato com pele, olhos e roupas. Em caso de contato, lave imediatamente com água corrente.
- Não foi observada interferência de Biotina em **ichroma™ AMH** quando a concentração de biotina na amostra foi inferior a 2 ng/mL. Se um paciente tem administrado biotina em dose superior a 0,03 mg por dia, recomenda-se testar novamente 24 horas após a interrupção da ingestão de biotina.
- **ichroma™ AMH** fornecerá resultados precisos e confiáveis sujeitos às seguintes condições:
 - O kit **ichroma™ AMH** deve ser usado apenas em conjunto com instrumento para testes **ichroma™**.
 - Os seguintes anticoagulantes recomendados devem ser utilizados:

Anticoagulante recomendado

Heparina lítica

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Condição de armazenamento			
Componente	Temperatura de armazenamento	Validade	Nota
Cassete	2 - 30 °C	20 meses	Uso único
Detector	2 - 30 °C	20 meses	Uso único
Diluyente	2 - 30 °C	20 meses	Fechado
		3 meses	Após aberto

- Após a abertura do invólucro do cassete, o teste deve ser realizado imediatamente.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- O teste pode apresentar resultado falso-positivo devido à reação cruzada e/ou adesão não-específica de certos componentes da amostra aos anticorpos detectores/captura.
- O teste pode apresentar resultado falso-negativo. A não responsividade dos antígenos aos anticorpos é mais comum onde o epítipo é mascarado por algum componente desconhecido, de modo a não ser detectado ou capturado pelos anticorpos. A instabilidade ou degradação do antígeno com o tempo e/ou temperatura pode levar ao resultado falso-negativo, uma vez que se torna irreconhecível pelos anticorpos.
- Outros fatores podem interferir no teste e levar a resultados errôneos, tais como erros de procedimento/técnico, degradação dos componentes do teste/reagentes ou presença de substâncias interferentes nas amostras-teste.

Qualquer diagnóstico clínico baseado no resultado do teste deve ser suportado pela avaliação de um médico, incluindo sintomas clínicos e outros resultados relevantes.

MATERIAIS FORNECIDOS

Componentes do kit **ichroma™ AMH**

- Caixa dos Cassetes:
 - Cassetes 25
 - Tubo Detector (com tampa de plástico) 25
 - Diluyente 1
 - ID Chip 1
 - Instruções de Uso 1

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os itens seguintes podem ser adquiridos separadamente do kit **ichroma™ AMH**:

Por favor, contate nossos representantes para maiores informações.

- Equipamento **ichroma™** para realização dos testes
 - **ichroma™ II (MS: 10350840297)**
 - **ichroma™ III (MS: 10350840404)**
 - **ichamber (MS: 10350840301)**
- **Boditech AMH Control (MS: 10350840410)**

COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

O tipo de amostra para utilização no kit de **ichroma™ AMH** é soro/plasma humano.

- Recomenda-se testar a amostra dentro de 24 horas após a coleta.
- O soro ou plasma deve ser separado do coágulo por centrifugação dentro de 3 horas após a coleta de sangue total.
- As amostras podem ser armazenadas por até uma semana a 2-8 °C antes de serem testadas. Se os testes forem adiados por mais de uma semana, a amostra de soro ou plasma deve ser congelada a -20 °C.
- A amostra de soro ou plasma armazenada congelada a -20°C durante 2 meses não mostrou diferença de desempenho.
- Entretanto, a amostra de sangue total não deve ser congelada de maneira alguma.
- Uma vez que a amostra foi congelada, deve ser usada uma vez apenas para teste, pois o congelamento e o descongelamento repetidos podem resultar na mudança dos valores do teste.

CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **ichroma™ AMH**: Cassetes selados, tubos detectores, diluyente, ID Chip e instruções de uso.
- Assegure que o número do lote dos cassetes equivale ao do ID Chip, assim como o diluyente e detectores.
- Mantenha o cassete (se armazenado na geladeira), frasco com tampão de detecção e frasco com tampão de liberação à temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos antes da realização do teste. Coloque o cassete sobre uma superfície limpa, isenta de poeira e plana.
- Ligue o **ichroma** e configure para a temperatura de 35°C.
- Ligue o leitor de testes **ichroma™**.
(Favor consultar o Manual de Operações do leitor **ichroma** para obter informação completa e instruções de operação.)

Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico in vitro

CUIDADO

- Para minimizar resultados errôneos, sugerimos que a temperatura ambiente do cassete seja de 35°C durante o tempo de reação, após o carregamento da mistura da amostra no cassete.
- Para manter a temperatura ambiente a 35°C, você pode utilizar diferentes dispositivos tais como i-chamber ou uma incubadora.

PROCEDIMENTO DO TESTE

■ **ichroma™ II**

1. Transfira 150 µL do diluente usando uma pipeta para o tubo contendo o grânulo detector. Quando o grânulo estiver completamente dissolvido, ele se torna o tampão de detecção.

(O tampão de detecção deve ser utilizado imediatamente. Não exceder 30 segundos)

2. Transfira 50 µL (soro humano/plasma/controle) da amostra usando uma pipeta no detector preparado. Feche a tampa do detector e misture bem a amostra agitando-a cerca de 10 vezes.

(A mistura de amostra deve ser usada imediatamente. Não exceder 30 segundos.)

3. Transfira com a pipeta 75 µL da mistura para a cavidade de amostra do cassete.

4. Insira o cassete carregado com amostra no compartimento do i-chamber (35°C) e deixe incubando por 12 minutos.

⚠ Escaneie o cassete carregado com amostras imediatamente quando o tempo de incubação acabar. Caso contrário, isso causará resultado de testes imprecisos.

5. Para escanear o cassete carregado com a amostra, insira-o no suporte de cassetes do instrumento ichroma. Certifique-se da orientação correta do cassete antes de empurrá-lo totalmente para o interior do suporte de cassetes do leitor, respeitando a direção da seta marcada no cassete.

6. Toque no botão 'INICIAR' no instrumento ichroma™ para iniciar o processo de digitalização.

7. O instrumento ichroma™ começará a digitalizar o cassete carregado com amostras imediatamente.

8. Leia o resultado do teste na tela de exibição do ichroma™.

(Consulte o manual de operação ichroma™ II para obter informações completas e instruções de operação.)

■ **ichroma™ III**

1. O procedimento do teste é o mesmo do 'ichroma II' das etapas 1 a 3.

2. Insira-o o cassete com a amostra carregada no suporte de cassetes do instrumento ichroma III. Certifique-se da orientação correta do cassete antes de empurrá-lo totalmente para o interior do suporte de cassetes do leitor, respeitando a direção da seta marcada no cassete.

3. Toque no botão 'INICIAR' no instrumento ichroma™ III para iniciar o processo de digitalização.

4. O cassete entra automaticamente e o ichroma III automaticamente inicia a digitalização do cassete

com a amostra carregada após 12 minutos.

5. Leia o resultado do teste na tela de exibição do ichroma™ III.

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

- O equipamento ichroma™ calcula o resultado do teste automaticamente e exibe a concentração de AMH da amostra do ensaio na unidade de ng/mL. A faixa de medição é de: 0,02 – 15 ng/mL.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Testes de controle de qualidade (CQ) são parte das boas práticas laboratoriais para confirmar os resultados esperados e validade do ensaio e devem ser realizados em intervalos regulares.
- Os testes de CQ deverão ser realizados imediatamente antes de usar um novo lote do teste para garantir que a performance do teste não seja alterada ou quando houver dúvidas referentes à validade dos resultados dos testes.
- Os controles não são fornecidos com o kit **Ichroma™ AMH**. Para mais informações sobre a obtenção dos materiais de controle de qualidade, entre em contato com a BioSyst Ltda. (Por favor, consulte as instruções de uso do kit do controle.)

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

■ **Sensibilidade Analítica**

Limite do Branco (LoB): 0,014 ng/mL

Limite de Detecção (LoD): 0,017 ng/mL

Limite de Quantificação (LoQ): 0,02 ng/mL

■ **Especificidade Analítica**

- **Reatividade Cruzada**

Materiais como os apresentados na tabela abaixo foram adicionadas à amostra de teste em concentrações muito superiores aos seus níveis fisiológicos normais no sangue. Os resultados dos testes de ichroma™ AMH não mostraram nenhuma reatividade cruzada significativa com essas biomoléculas.

Material de Reatividade Cruzada	Concentração
Ativina A	100 ng/mL
Ativina B	100 ng/mL
Inibina A	50 ng/mL
Inibina B	50 ng/mL
FSH	500 IU/L
LH	500 IU/L

- **Interferência**

Materiais de interferência, como os listados abaixo na tabela, foram adicionados às amostras em testes conforme concentrações apresentadas. Os resultados dos testes ichroma™ AMH não mostraram qualquer interferência significativa com esses materiais.

Material de Interferência	Concentração
Heparina	100 U/mL
Hemoglobina	5 g/L
Triglicerídeos	35 g/L
Bilirrubina	300 mg/L
HAMA	2 µg/L
Albumina	65 g/L
Acetaminofeno	1655 µmol/L
Ibuprofeno	2425 µmol/L
Ampicilina	152 µmol/L

Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico in vitro

Ácido acetilsalicílico	3,62 µmol/L
Ácido ascórbico	528 µmol/L

■ Precisão

3 Lotes de ichroma™ AMH foram testados por 21 dias (1 lote a cada 7 dias em 1 local por um operador). Cada material padrão foi testado duas vezes por dia. Cada teste foi testado em duplicata.

- Repetibilidade (precisão serial)

A repetibilidade do **ichroma™ AMH** foi avaliada com resultados de 1 lote.

- Precisão Total (mesmo laboratório)

A precisão total (serial, entre-corridas, entre-dias) do **ichroma™ AMH** foi avaliada com 1 lote.

- Precisão entre lotes

A precisão entre lotes do **ichroma™ AMH** foi avaliada com resultados de 3 diferentes lotes.

Material Padrão [ng/mL]	Repetibilidade		Precisão Total		Precisão Entre Lotes	
	MED	CV(%)	MED	CV(%)	MED	CV(%)
0.25	0.25	5.49	0.25	5.58	0.25	5.66
1.0	0.99	5.89	0.99	5.67	1.00	5.86
8.0	8.00	6.74	8.02	6.09	8.01	5.72

- Entre operadores

Três pessoas diferentes testaram um lote de ichroma™ AMH, dez vezes em cada concentração do padrão de controle.

- Entre laboratórios

Uma pessoa testou um lote de ichroma™ AMH em três locais diferentes, dez vezes em cada concentração do padrão de controle.

Material Padrão [ng/mL]	Entre-operadores		Entre-laboratórios	
	MED	CV (%)	MED	CV (%)
0.25	0.25	5.63	0.25	5.63
1.0	1.00	5.92	0.99	5.72
8.0	8.01	5.84	8.03	5.86

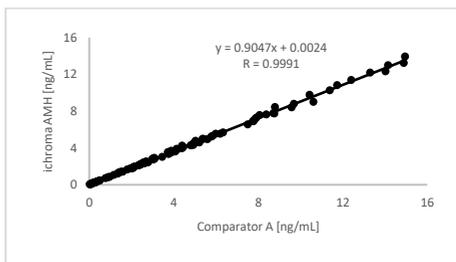
■ Acurácia

A acurácia foi confirmada por testes com 3 lotes diferentes de ichroma™ AMH. Os testes são repetidos 10 vezes em cada concentração diferente.

Valor Esperado [ng/mL]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	MED	Bias (%)
0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	101
0.85	0.85	0.83	0.87	0.85	100
1.65	1.62	1.60	1.67	1.63	99
4.84	4.88	4.78	4.96	4.87	101
6.43	6.52	6.38	6.60	6.50	101
9.62	9.13	9.55	9.28	9.32	97

■ Comparabilidade

A concentração de 100 amostras clínicas de AMH foram independentemente testadas com ichroma™ AMH (ichroma™ II) e comparador A conforme procedimentos de testes prescritos. Os resultados dos testes foram comparados, e sua comparabilidade foi investigada com regressão linear e coeficiente de correlação (R). A regressão linear e o coeficiente de correlação entre os dois testes foram as seguintes:



GARANTIA

Esta instrução de uso deve ser lida atentamente antes da utilização do produto e as instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do teste não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

DESCARTE

Seguir as disposições da resolução sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

REFERÊNCIAS

1. Didier Dewailly et al. The physiology and clinical utility of anti-Müllerian 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. Gnath C et al.: Relevance of anti-Müllerian 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.
8. E. Anckaert et al. Multicenter analytical performance evaluation of a fully automated anti-Müllerian hormone assay and reference interval determination. Clinical Biochemistry. 49:260-267, 2016

Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico in vitro

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

	Suficiente para <n> testes
	Consulte as instruções de uso
	Validade
	Lote
	Catálogo
	Cuidado
	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 Incorporated



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

Fabricado por: Boditech Med Incorporated

Importado e Distribuído por: BioSys Ltda

Rua Coronel Gomes Machado, 358, Centro, Niterói, RJ

Cep: 24020-112

CNPJ: 02.220.795/0001-79

MS – nº 10350840410

SAC: sac@biosys.com.br - (21) 3907-2534 / 0800 015 1414
www.biosys.com.br