



IMMUNOASSAYS AND SERVICES

BIOGENIC AMINES & NEUROSCIENCE | ENDOCRINOLOGY | FOOD SAFETY

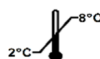
LABOR DIAGNOSTIKA NORD GmbH & Co.KG | Am Eichenhain 1 | 48531 Nordhorn | Germany | Tel. +49 5921 8197-0 | Fax +49 5921 8197-222 | info@ldn.de | www.ldn.de

Instructions for use

AMH ELISA

REF

FR E-2900



IVD

CE

1 INTENDED USE

The **AMH ELISA** is a manual enzyme immunoassay for the **quantitative** measurement of Anti-Müllerian Hormone (AMH) in human serum or plasma (EDTA or Li-heparin plasma).

For *in vitro* diagnostic use. For laboratory professional use.

The device is **intended to be used** for prognosis of individuals where information on one or more of the following is required:

- Assessment of ovarian reserve in women

Or as an aid to one or more of the following:

- Distinction between women presenting with AFC (antral follicle count) values > 15 (high ovarian reserve) and women with AFC values ≤ 15 (normal or diminished ovarian reserve)
- Prediction of early ovarian follicle loss and menopause onset
- Contribution in the diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS)

The device is **not intended** to be used for monitoring of women undergoing controlled ovarian stimulation in an Assisted Reproduction Technology program.

1.1 Scientific Validity Report

Anti-Müllerian Hormone (AMH), a dimeric 140 kDa glycoprotein, is a member of the transforming growth factor- β (TGF- β) family of cytokines which plays an essential role in the normal differentiation of reproductive structures. (1)

AMH is secreted by Sertoli cells of the testes during embryogenesis of the fetal male, preventing the development of the Müllerian ducts to the uterus and other Müllerian structures. In females, AMH is secreted by the granulosa cells of ovarian follicles. (2, 3)

AMH has been identified as a reliable marker of ovarian reserve that can help predict early ovarian follicle loss and menopause onset. AMH levels also reflect the effects of damaging gynecologic surgeries or gonadotoxic treatments such as chemotherapy on ovarian reserve. Furthermore, AMH contributes in the diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS). (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10)

2 PRINCIPLE OF THE TEST

The AMH ELISA is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) based on the **sandwich principle**. The microtiter wells are coated with a monoclonal antibody (mouse) directed towards a unique antigenic site of the AMH molecule.

During the first incubation, AMH in the added sample binds to the immobilized antibody. The simultaneously added enzyme conjugate, which contains an anti-AMH antibody conjugated to horseradish peroxidase, binds to the AMH forming a sandwich complex.

After a washing step to remove all unbound substances, the solid phase is incubated with the substrate solution. The colorimetric reaction is stopped by addition of stop solution, and optical density (OD) of the resulting yellow product is measured. The intensity of color is proportional to the concentration of the analyte in the sample.

A standard curve is constructed by plotting OD values against concentrations of standards, and concentrations of unknown samples are determined using this standard curve.

3 WARNINGS AND PRECAUTIONS

- This kit is for *in vitro* diagnostic use only. For laboratory professional use only.
- Before starting the assay, read the instructions for use completely and carefully. Use the valid version of instructions for use provided with the kit. Be sure that everything is understood.
- Do not mix or use components from kits with different lot numbers. It is advised not to interchange wells of different plates even of the same lot. The kits may have been shipped or stored under different conditions and the binding characteristics of the plates may result slightly different.
- Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
- Do not reuse microtiter wells.
- Reagents of other manufacturers must not be used together with the reagents of this test kit.
- All reagents in this kit are clear liquids, substrate solution is clear and colorless. Changes in its appearance may affect the performance of the test. In that case, contact the manufacturer.
- Microbial contamination of reagents or samples may give false results.
- Allow the reagents to reach room temperature (20 °C to 26 °C) before starting the test. Temperature will affect the optical density readings of the assay. However, values for the patient samples will not be affected.
- All indicated volumes must be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiter plate readers.
- Use reservoirs only for single reagents. This especially applies to the substrate reservoirs. Using a reservoir for dispensing a substrate solution that had previously been used for the conjugate solution may turn solution coloured. Do not pour reagents back into original vials as reagent contamination may occur.

General precautions

- Follow laboratory quality assurance and laboratory safety guidelines.
- Never pipet by mouth and avoid contact of reagents and samples with skin and mucous membranes.
- Do not smoke, eat, drink, or apply cosmetics in areas where samples or kit reagents are handled.
- Wear lab coats and disposable latex gloves when handling samples and reagents and where necessary safety glasses.

Biohazard information

- All reagents of this test kit which contain human serum or plasma have been tested and confirmed negative for HIV I/II, HBsAg and HCV by FDA approved procedures. However, no known test method can offer total assurance that no infectious agent is present.
- The device contains material of animal origin, which is certified apparently free of infectious or contagious diseases and injurious parasites.
- Bovine components originate from countries where BSE (Bovine spongiform encephalopathy) has not been reported.
- All materials and samples of human or animal origin must be handled as if capable of transmitting infectious diseases.
- Handling must be done in accordance with the procedures defined by appropriate national biohazard and safety guideline or regulation. Waste must be discarded according to local rules and regulations.

Information to chemical hazards and hazard classification

- Some reagents contain preservatives in non-declarable concentrations. Nevertheless, in case of contact with eyes or skin, flush immediately with water.
- Substrate Solution contains an ingredient in non-declarable concentrations which causes serious eye irritation. In case of possible contact with eyes, rinse immediately carefully and thoroughly with eye wash or water. After contact with skin, wash with plenty of water. Take-off contaminated clothing and wash it before reuse.
- Avoid contact with Stop Solution containing < 5% H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns.
- Chemicals and prepared or used reagents must be treated as hazardous waste according to the national safety guideline or regulation.
- This product does not contain substances which have carcinogenic, mutagenic or toxic for reproduction (CMR) properties.

All reagents of this test kit do NOT contain hazardous substances in concentrations to be declared, a classification and labelling is not required.

For detailed information, please refer to the Safety Data Sheet, which is available upon request directly from the manufacturer.

4 MATERIALS

4.1 Materials provided with the kit

FR E-2931  **Microtiterwells** – Ready to use

Content: 12 x 8 wells (break apart);
Coated with anti-AMH antibody (monoclonal).

Standards and Controls – Ready to use

| Cat. no. | Component | Standard | Concentration ng/ml | Volume / vial |
|------------------|-------------------|------------|---|---------------|
| FR E-2901 | STANDARD A | Standard A | 0.0 | 1 ml |
| FR E-2902 | STANDARD B | Standard B | 0.4 | 1 ml |
| FR E-2903 | STANDARD C | Standard C | 1.0 | 1 ml |
| FR E-2904 | STANDARD D | Standard D | 4.0 | 1 ml |
| FR E-2905 | STANDARD E | Standard E | 10 | 1 ml |
| FR E-2906 | STANDARD F | Standard F | 20 | 1 ml |
| FR E-2951 | CONTROL 1 | Control 1 | For control values and ranges please refer to vial label or QC-Report | 1 ml |
| FR E-2952 | CONTROL 2 | Control 2 | | 1 ml |

Conversion: 1 ng/ml = 7.14 pmol/l

The Standard are calibrated against the following reference material:

1st WHO International Reference Reagent, Mullerian Inhibiting Substance/Anti-Mullerian Hormone, NIBSC code: 16/190

Contains non-mercury preservative.

4.5 Disposal of the Kit

The disposal of the kit and all used materials/reagents must be performed according to the national regulations. Special information for this product is given in the Safety Data Sheet, section 13.

4.6 Damaged Test Kits

In case of any damage to the test kit or components, the manufacturer must be informed in writing, at the latest one week after receiving the kit. Damaged single components must not be used for a test run. They have to be stored until a final solution has been found. After this, they must be disposed of according to the official regulations.

5 SAMPLE COLLECTION, STORAGE AND PREPARATION

The following sample material can be used in this test:

Human serum or plasma (EDTA plasma or lithium heparin plasma)

Samples containing sodium azide should not be used in the assay.

In general, it should be avoided to use hemolytic, icteric, or lipemic samples. For further information refer to chapter "Interfering Substances".

5.1 Sample Collection

Serum: Collect blood by venipuncture (e.g. Sarstedt Monovette for serum), allow to clot, and separate serum by centrifugation at room temperature. Do not centrifuge before complete clotting has occurred. Patients receiving anticoagulant therapy may require increased clotting time.

Plasma: Whole blood should be collected into centrifuge tubes containing anticoagulant (e.g. Sarstedt Monovette with the appropriate plasma preparation) and centrifuged immediately after collection.

Whole blood should not be frozen before centrifugation.

5.2 Samples Storage

Samples must be stored tightly capped prior to performing the assay. If stored frozen, freeze only once. Thawed samples must be inverted several times prior to testing.

| | | |
|-----------|-------------------------|----------------|
| Stability | at 2 °C to 8 °C | 7 days |
| | at -20 °C (in aliquots) | up to 3 months |

5.3 Sample Preparation

Samples can be assayed without additional preparation.

6 ASSAY PROCEDURE

6.1 Procedural Notes

- All reagents and samples must be allowed to come to room temperature (20 °C to 26 °C) before use.
- All reagents must be mixed without foaming.
- Do not interchange caps of reagent vials to avoid cross-contamination.
- Use new disposal plastic pipette tips for each standard, control, or sample in order to avoid carry-over.
- To avoid cross-contamination and falsely elevated results pipette patient samples and dispense conjugate without splashing accurately to the bottom of wells.
- Mix the contents of the microtiter plate wells thoroughly to ensure good test results.
- Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
- Once the test has been started, all steps must be completed without interruption and in the same sequence for each step.
- The enzymatic reaction is linearly proportional to time and temperature.
- Optical density is a function of the incubation time and temperature. Respect the incubations times and temperatures as given in chapter "Test Procedure".
- Before starting the assay, it is recommended that all reagents are ready, caps removed, all needed wells secured in holder, etc. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step without interruption.
- **Important note to wash procedure:**
Washing is critical. Improperly washed wells will give erroneous results. The sensitivity and precision of this assay is markedly influenced by the correct performance of the washing procedure!
- **Test performance using fully automated analysis devices:**
Automated test performance using fully automated, open-system analysis devices is possible. However, the combination must be validated by the user.

6.2 Test Procedure

Each run must include a standard curve.

The controls serve as internal controls for the reliability of the test procedure. They must be assayed with each test run.

The given test procedure describes manual processing.

| | |
|-----------|---|
| 1. | Secure the desired number of microtiter wells in the frame holder. |
| 2. | Pipette 25 µl of each Standard, Control, and sample <u>with new disposable tips</u> into appropriate wells. |
| 3. | Add 100 µl Enzyme Conjugate into each well. Thoroughly mix for 10 seconds. It is important to have a complete mixing in this step. |
| 4. | Incubate for 60 minutes at room temperature. |
| 5. | Wash the wells as follows: If the wash step is performed <u>manually</u> : Briskly shake out the contents of the wells. Rinse the wells 3 times with 300 µl diluted <i>Wash Solution</i> per well. If an <u>automated plate washer</u> is used: Rinse the wells 3 times with 400 µl diluted <i>Wash Solution</i> per well. <u>At the end of the washing step, always</u> strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets! |
| 6. | Pipette 100 µl of Substrate Solution to each well. |
| 7. | Incubate for 15 minutes at room temperature. |
| 8. | Stop the enzymatic reaction by adding 50 µl of Stop Solution to each well. |
| 9. | Measure the optical density (OD) of the solution in each well at 450 nm (reading) and at 620 nm to 630 nm (background subtraction, recommended) with a microtiter plate reader. It is recommended that the wells be read within 10 minutes after adding the <i>Stop Solution</i> . |

6.3 Calculation of Results

- The concentration of the samples can be read directly from the standard curve.
- For duplicate determinations, the mean of the two optical density (OD) values for each standard, control, and patient sample must be taken. If the two values deviate substantially from one another, the manufacturer recommends retesting the samples.
- Samples with concentrations exceeding the highest standard can be further diluted with *Standard 0* and re-assayed as described in "Test Procedure", or must be reported as > 20 ng/ml. For the calculation of the concentrations, this dilution factor must be considered.
(*Example: dilution 1:10: 10 µl sample + 90 µl Standard A*)
- Automated method:
The results in the instructions for use have been calculated automatically using a four-parameter logistic (4PL) curve fit. (4PL Rodbard or 4PL Marquardt are the preferred methods.) Other data reduction functions may give slightly different results.
- Manual method:
Using linear or semi-logarithmic graph paper, construct a standard curve by plotting the (mean) OD obtained from each standard against its concentration with OD value on the vertical (Y) axis and concentration on the horizontal (X) axis.
Determine the corresponding sample concentration from the standard curve by using the (mean) OD value for each sample.

6.3.1 Example of Typical Standard Curve

The following data is for demonstration only and **cannot** be used in place of data generations at the time of assay.

| Standard | Optical Density (450 nm) |
|-------------------------------|--------------------------|
| <i>Standard A</i> (0.0 ng/ml) | 0.03 |
| <i>Standard B</i> (0.4 ng/ml) | 0.08 |
| <i>Standard C</i> (1.0 ng/ml) | 0.16 |
| <i>Standard D</i> (4.0 ng/ml) | 0.55 |
| <i>Standard E</i> (10 ng/ml) | 1.27 |
| <i>Standard F</i> (20 ng/ml) | 2.28 |

7 REFERENCE VALUES

It is strongly recommended that each laboratory determine its own reference values.

In a study conducted with apparently healthy adults, using the AMH ELISA the following data were observed:

| Population | n | Mean (ng/ml) | Median (ng/ml) | 2.5 th – 97.5 th Percentile (ng/ml) | Range (min. – max.) (ng/ml) |
|--------------------------------|----|--------------|----------------|---|-----------------------------|
| Males | 30 | 3.99 | 3.69 | 0.32 – 7.36 | 0.06 – 7.75 |
| Females (20 – 29 years) | 30 | 2.71 | 2.38 | 0.69 – 6.23 | 0.66 – 6.37 |
| Females (30 – 39 years) | 30 | 2.42 | 1.85 | 0.51 – 6.72 | 0.48 – 8.39 |
| Females (40 – 49 years) | 30 | 0.61 | 0.29 | < 0.06 – 4.09 | < 0.06 – 4.37 |

Median AMH values in women diagnosed with polycystic ovary syndrome (PCOS) were two- to four-fold higher compared to healthy women and did not markedly decline with increasing age. In women diagnosed with PCOS, a median of 7.19 ng/ml was observed in subjects aged 20 – 24 years, and a median of 6.46 ng/ml was observed in subjects aged 35 – 39 years. (11)

For women with AMH values ≤ 0.681 ng/ml, the probability of a low antral follicle count (AFC 0 – 7) is 63%, the probability of belonging to the middle AFC group (8 – 15) is approximately 32%, and the probability of AFC > 15 is only 4.4%. (12, 13)

Values above or below reference range should be considered as suspicious and require additional testing. The results alone should not be the only reason for any therapeutic consequences. The results must be correlated to other clinical observations and diagnostic tests.

8 QUALITY CONTROL

Good quality assurance in the laboratory requires that controls be run with each standard curve. A statistically significant number of controls should be assayed to establish mean values and acceptable ranges to assure proper performance.

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day-to-day validity of results. Use controls at both normal and pathological levels.

The controls and the corresponding results of the Quality Control Laboratory are stated in the Certificate of Analyses (CoA) added to the kit. The values and ranges stated on the CoA always refer to the current kit lot and must be used for direct comparison of the results.

If available, it is also recommended to make use of national or international Quality Assessment programs in order to ensure the accuracy of the results.

Apply appropriate statistical methods for analyzing control values and trends. If the results of the assay do not agree with the established acceptable ranges of control materials, patient results should be considered invalid.

In this case, please check the following technical areas: Pipetting and timing devices; photometer, expiration dates of reagents, storage and incubation conditions, aspiration and washing methods.

After checking the above-mentioned items without finding any error contact your distributor or the manufacturer directly.

9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

9.1 Specificity of Antibodies (Cross-Reactivity)

The following substances were tested for cross-reactivity of the assay:

| Substance | Concentration Range of Spiked Substance (ng/ml) | Mean cross-reactivity (%) |
|----------------|---|---------------------------|
| AMH | 0.40 – 10 | 100 |
| Inhibin A | 2.0 – 2000 | 0.03 |
| Actvin AB | 2.0 – 2000 | 0.27 |
| LH | 2.0 – 2000 | 0.18 |
| FSH | 2.0 – 2000 | 0.26 |
| HCG | 2.0 – 2000 | 0.12 |
| TSH | 2.0 – 2000 | 0.39 |
| TGF- β 1 | 2.0 – 2000 | 0.18 |
| TGF- β 2 | 2.0 – 2000 | 0.18 |
| Prolactin | 2.0 – 2000 | 0.38 |

9.2 Sensitivity

| | |
|-------------------------------|--------------------------|
| Limit of Blank (LoB) | 0.044 ng/ml |
| Limit of Detection (LoD) | 0.052 ng/ml |
| Limit of Quantification (LoQ) | 0.062 ng/ml |
| | |
| Measuring range | 0.052 ng/ml – 20.0 ng/ml |
| Linear range | 0.19 ng/ml – 20 ng/ml |

9.3 Reproducibility

9.3.1 Within-run Precision

The within-run precision was determined with 4 patient samples covering the complete measuring range in 1 run with 10 replicates. CV was calculated as mean CV of 10 replicates.

| Sample | n | Mean (ng/ml) | CV (%) |
|--------|----|--------------|--------|
| 1 | 10 | 0.22 | 7.3 |
| 2 | 10 | 0.67 | 3.1 |
| 3 | 10 | 5.76 | 2.4 |
| 4 | 10 | 15.88 | 2.6 |

9.3.2 Between-run Precision

The between-run precision was determined for 4 patient samples covering the measuring range in 3 independent runs on 3 days with 10 determinations. CV was calculated from 30 determinations.

| Sample | n | Mean (ng/ml) | CV (%) |
|--------|----|--------------|--------|
| 1 | 30 | 0.23 | 6.0 |
| 2 | 30 | 0.69 | 5.4 |
| 3 | 30 | 5.73 | 3.1 |
| 4 | 30 | 15.90 | 4.1 |

9.3.3 Between-lot Precision

The between-lot variation was determined by 6 measurements of different samples with 3 different kit lots.

| Sample | n | Mean (ng/ml) | CV (%) |
|--------|----|--------------|--------|
| 1 | 18 | 0.33 | 7.82 |
| 2 | 18 | 1.04 | 5.59 |
| 3 | 18 | 6.63 | 1.99 |
| 4 | 18 | 12.87 | 0.27 |

9.4 Recovery

Recovery was determined by adding increasing amounts of the analyte to different patient samples containing different amounts of endogenous analyte. The percentage recoveries were determined by comparing expected and measured values of the samples.

| | | Sample 1 | Sample 2 | Sample 3 | Sample 4 |
|------------------------------|-------------|----------|----------|----------|----------|
| Concentration (ng/ml) | | 0.20 | 0.70 | 5.85 | 15.89 |
| Average Recovery (%) | | 98.8 | 97.5 | 97.0 | 98.5 |
| Range of Recovery (%) | from | 94.2 | 95.4 | 94.1 | 95.9 |
| | to | 101.8 | 100.3 | 101.1 | 100.8 |

9.5 Linearity

Samples containing different amounts of analyte were serially diluted with *Standard A*. The percentage recovery was calculated by comparing the expected and measured values for the analyte.

| | | Sample 1 | Sample 2 | Sample 3 | Sample 4 |
|------------------------------|-------------|----------|----------|----------|----------|
| Concentration (ng/ml) | | 3.01 | 5.99 | 9.75 | 16.29 |
| Average Recovery (%) | | 105.2 | 106.8 | 95.2 | 110.3 |
| Range of Recovery (%) | from | 94.7 | 102.4 | 94.5 | 106.6 |
| | to | 111.9 | 110.9 | 95.9 | 113.8 |

9.5 Method Comparison

A comparison of AMH ELISA (EIA-6141) (y) and the reference method Roche Elecsys® AMH Plus (x) using clinical samples gave the following correlation:

$$y = -0.1419 + 0.905x; \quad n = 52, r = 0.980$$

10 LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Reliable and reproducible results will be obtained when the assay procedure is performed with a complete understanding of the instructions for use and in compliance with the laboratory quality assurance guidelines. Any improper handling of samples or modification of this test might influence the results.

10.1 Interfering Substances

Hemoglobin (up to 4 mg/ml), bilirubin (up to 0.5 mg/ml) and triglyceride (up to 7.5 mg/ml) have no influence on the assay results.

10.2 Drug Interferences

Until today no substances (drugs) are known to us, which have an influence on the measurement of AMH in a sample.

10.3 High-Dose Hook Effect

"High-Dose Hook Effect" is not detected up to 400 ng/ml of AMH.

11 LEGAL ASPECTS

11.1 Reliability of Results

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover, the user must strictly adhere to the laboratory quality assurance guidelines and applicable national standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications. If there is any doubt or concern regarding a result, please contact the manufacturer.

11.2 Therapeutic Consequences

Therapeutic consequences should never be based on laboratory results alone even if all test results are in agreement with the items as stated under point 11.1. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of a patient.

Only in cases where the laboratory results are in acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient should therapeutic consequences be derived.

The test result itself should never be the sole determinant for deriving any therapeutic consequences.

11.3 Liability

Any modification of the test kit and/or exchange or mixture of any components of different lots from one test kit to another could negatively affect the intended results and validity of the overall test. Such modification and/or exchanges invalidate any claim for replacement.

Claims submitted due to customer misinterpretation of laboratory results subject to point 11.2 are also invalid. Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the test kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.














11.4 Reporting of Serious Incident

Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and/or the patient is established.

12 LITERATURE

1. Jopling H, Yates A, Burgoyne N, Hayden K, Chaloner C, Tetlow L. Paediatric Anti-Müllerian Hormone measurement: Male and female reference intervals established using the automated Beckman Coulter Access AMH assay. *Endocrinol Diabetes Metab.* 2018;1(4):e00021.
2. Hampl R, Šnajderová, M, Mardešić T. Antimüllerian Hormone (AMH) Not Only a Marker for Prediction of Ovarian Reserve. *Physiol. Res.* 60: 217-223, 2011.
3. Matuszczak E, Hermanowicz A, Komarowska M, Debek W. Serum AMH in Physiology and Pathology of Male Gonads. *Int J Endocrinol.* 2013:128907.
4. Victoria M, Labrosse J, Krief F, Cédric-Durnerin I, Comtet M, Grynberg M. Anti Müllerian Hormone: More than a biomarker of female reproductive function. *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* 2019 Jan;48(1):19-24.
5. Broer S, Broekmans F, Laven J, Fauser B. Anti-Müllerian hormone: ovarian reserve testing and its potential clinical implications. *Hum Reprod Update.* 2014 Sep-Oct;20(5):688-701.
6. Broer S, Eijkemans M, Scheffer G, van Rooij I, de Vet A, Themmen A, Laven J, de Jong F, te Velde E, Fauser B, Broekmans F. Anti-Müllerian Hormone Predicts Menopause: A Long-Term Follow-Up Study in Normoovulatory Women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Aug;96(8):2532-9.
7. Visser J, de Jong F, Laven, J, Themmen A. Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction.* 2006 Jan;131(1):1-9.
8. Broer S, van Disseldorp J, Broeze K, Dolleman M, Opmeer B, Bossuyt P, Eijkemans M, Mol B, Broekmans F; IMPORT study group. Added value of ovarian reserve testing on patient characteristics in the prediction of ovarian response and ongoing pregnancy: an individual patient data approach. *Hum Reprod Update.* 2013 Jan-Feb;19(1):26-36.
9. Ebner T, Sommergruber M, Moser M, Shebl O, Schreier-Lechner E, Tews G. Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles. *Hum Reprod.* 2006 Aug;21(8):2022-6.
10. Sun H, Mao H, Cai J, Zhao Y. Research progress on anti-müllerian hormone clinical applications and immunoassay development. *Frontiers in Laboratory Medicine.* 2018 2(1):14-18.
11. Anckaert E, Öktem M, Thies A, Cohen-Bacrie M, Daan NM, Schiettecatte J, Müller C, Topcu D, Gröning A, Ternaux F, Engel C, Engelmann S, Milczynski C. Multicenter analytical performance evaluation of a fully automated anti-Müllerian hormone assay and reference interval determination. *Clinical biochemistry* 2016, 49(3), 260–267.
12. Anderson R A, Anckaert E, Bosch E, Dewailly D, Dunlop CE, Fehr D, Nardo L, Smitz J, Tremellen K, Denk B, Geistanger A, Hund M. Prospective study into the value of the automated Elecsys antimüllerian hormone assay for the assessment of the ovarian growing follicle pool. *Fertility and sterility* 2015, 103(4), 1074–1080.e4.
13. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. *Fertility and sterility* 2012, 98(6), 1407–1415.

Symbols:

| | | | | | |
|---|------------------------------|---|------------------|---|-----------------------------------|
|  | Storage temperature |  | Manufacturer |  | Contains sufficient for <n> tests |
|  | Use-by date |  | Batch code |  | For in-vitro diagnostic use only! |
|  | Consult instructions for use |  | Content |  | CE marking of conformity |
|  | Caution |  | Catalogue number |  | Distributor |
|  | Date of manufacture | | | | |

1 ZWECKBESTIMMUNG

Der **AMH ELISA** ist ein manueller Enzymimmunoassay zur **quantitativen** Messung des Anti-Müller-Hormons (AMH) in Serum oder Plasma (EDTA- oder Lithium-Heparinplasma).

Für den Einsatz in der *In-vitro* Diagnostik. Für den beruflichen Gebrauch in Laboratorien.

Weitere Informationen zur bestimmungsgemäßen Verwendung finden Sie in der englischen Version der Gebrauchsanweisung.

2 TESTPRINZIP

Der **AMH ELISA** ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay, der auf der **Sandwichtechnik** basiert.

Die Wells der Mikrotiterplatten sind mit einem monoklonalen Antikörper (Maus) beschichtet, der gegen eine definierte Antikörper-Bindungsstelle des AMH-Moleküls gerichtet ist.

Während der ersten Inkubation bindet das AMH-Molekül in der zugegebenen Probe an den immobilisierten Antikörper. Die Konjugatlösung, die gleichzeitig zugegeben wird und einen an Meerrettichperoxidase konjugierten AMH-Antikörper enthält, bindet an AMH unter Bildung eines Sandwich-Komplexes.

Nach einem Waschschrift, um alle ungebundenen Substanzen zu entfernen, wird die feste Phase mit der Substratlösung inkubiert. Die Farbreaktion wird durch die Zugabe der Stopplösung beendet und die optische Dichte (OD) des resultierenden gelben Produktes gemessen. Die Intensität der Farbe ist proportional zur Konzentration des Analyten in der Probe.

Durch Auftragen der OD-Werte gegen die Konzentrationen der Standards wird eine Standardkurve erstellt, und die Konzentrationen der unbekanntenen Proben werden anhand dieser Standardkurve bestimmt.

3 WARNUNGEN UND VORSICHTSMAßNAHMEN

- Dieser Kit ist nur für den Einsatz in der In-vitro Diagnostik bestimmt. Nur für den professionellen Gebrauch in Laboratorien.
- Bevor Sie mit dem Test beginnen, lesen Sie die Gebrauchsanweisung vollständig und sorgfältig durch. Verwenden Sie nur die gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung. Stellen Sie sicher, dass Sie alles verstanden haben.
- Komponenten aus Kits mit unterschiedlichen Chargennummern dürfen nicht gemischt oder zusammen verwendet werden. Vertiefungen verschiedener Platten, auch aus derselben Charge, sollten nicht untereinander ausgetauscht werden. Die Kits können unter unterschiedlichen Bedingungen transportiert oder gelagert worden sein, so dass die Bindungscharakteristik der Platten leichte Unterschiede aufweisen kann.
- Reagenzien nicht über das auf den Kit-Etiketten angegebene Verfallsdatum hinaus verwenden.
- Mikrotitervertiefungen nicht wiederverwenden.
- Reagenzien anderer Hersteller dürfen nicht zusammen mit den Reagenzien dieses Testkits verwendet werden.
- Alle Reagenzien dieses Kits sind klare Lösungen, die Substratlösung ist klar und farblos. Veränderungen des Aussehens können die Durchführung des Tests beeinträchtigen. In diesem Fall wenden Sie sich bitte an den Hersteller.
- Eine mikrobielle Kontamination von Reagenzien oder Proben kann zu falschen Ergebnissen führen.
- Lassen Sie die Reagenzien vor Testbeginn Raumtemperatur (20 °C bis 26 °C) erreichen. Die Temperatur wirkt sich auf die Messungen der optischen Dichte des Assays aus. Die Werte für die Patientenproben werden jedoch nicht beeinflusst.
- Alle im Kit-Protokoll angegebenen Volumina müssen genau eingehalten werden. Optimale Ergebnisse können nur durch Verwendung kalibrierter Pipetten und Mikrotiterplatten-Lesegeräte erreicht werden.
- Behältnisse jeweils nur für ein einziges Reagenz verwenden. Dies gilt insbesondere für die Substrat-Behälter. Die Verwendung eines Behälters zum Pipettieren der Substratlösung, der zuvor für die Konjugatlösung verwendet wurde, kann zu einer Verfärbung der Lösung führen. Geben Sie keine Reagenzien zurück in die Originalfläschchen, da es zu einer Kontamination der Reagenzien kommen kann.

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

- Befolgen Sie die Richtlinien zur Qualitätssicherung und zur Sicherheit im Labor.
- Niemals mit dem Mund pipettieren und den Kontakt von Reagenzien und Proben mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- In Bereichen, in denen mit Kitbestandteilen oder Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen, trinken oder Kosmetika verwenden.
- Beim Umgang mit Proben und Reagenzien sind Laborkittel und Einweg-Latexhandschuhe sowie, falls erforderlich, eine Schutzbrille zu tragen.

Informationen zur biologischen Gefährdung

- Alle Bestandteile dieses Testkits, die humanes Serum oder Plasma enthalten, wurden mit FDA-geprüften Methoden auf HIV I/II, HbsAg und HCV getestet und als negativ bestätigt. Kein bekanntes Testverfahren kann jedoch mit absoluter Sicherheit ausschließen, dass kein Infektionserreger vorhanden ist.
- Das Produkt enthält Material tierischen Ursprungs, das nachweislich frei von infektiösen oder ansteckenden Krankheiten und schädigenden Parasiten ist.
- Komponenten von Rindern stammen aus Ländern, in denen keine BSE (Bovine Spongiforme Enzephalopathie) gemeldet wurde.
- Alle Materialien und Proben menschlichen oder tierischen Ursprungs müssen so behandelt werden, als ob sie ansteckende Krankheiten übertragen könnten.
- Die Handhabung muss in Übereinstimmung mit den Verfahren erfolgen, die in den entsprechenden nationalen Richtlinien oder Vorschriften für Biogefährdung und Sicherheit festgelegt sind. Abfälle müssen gemäß den lokalen Regeln und Vorschriften entsorgt werden.

Informationen zu chemischen Gefahren und zur Gefahreinstufung


- Einige Reagenzien enthalten Konservierungsmittel in nicht kennzeichnungspflichtigen Konzentrationen. Bei Kontakt der Reagenzien mit den Augen oder der Haut dennoch sofort mit ausreichend Wasser spülen.
- Die Substratlösung enthält einen Inhaltsstoff in nicht kennzeichnungspflichtiger Konzentration, der schwere Augenreizungen verursacht. Bei möglichem Kontakt mit den Augen sofort sorgfältig und gründlich mit Augenspülung oder Wasser spülen. Bei Berührung mit der Haut mit reichlich Wasser abwaschen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor Wiederverwendung waschen.
- Kontakt mit der Stopplösung (*Stop Solution*) vermeiden, da sie < 5% H₂SO₄ enthält. Schwefelsäure kann Hautreizungen und -verätzungen verursachen.
- Chemikalien und zubereitete oder gebrauchte Reagenzien müssen als gefährlicher Abfall gemäß den nationalen Sicherheitsrichtlinien oder -vorschriften behandelt werden.
- Dieses Produkt enthält keine Stoffe, die krebserregende, erbgutverändernde oder fortpflanzungsgefährdende Eigenschaften (CMR) haben.

Alle Reagenzien dieses Testkits enthalten KEINE gefährlichen Stoffe in deklarationspflichtigen Konzentrationen, eine Einstufung und Kennzeichnung ist nicht erforderlich.


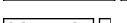

Ausführliche Informationen entnehmen Sie bitte dem Sicherheitsdatenblatt, das Sie auf Anfrage direkt bei dem Hersteller erhalten.

4 MATERIALIEN


4.1 Im Kit mitgelieferte Materialien

FR E-2931  96 **Microtiterwells** – Gebrauchsfertig
Inhalt: 12 x 8 Wells (einzeln brechbar);
Mit anti-AMH-Antikörper (monoklonal) beschichtet.

Standards und Kontrollen – Gebrauchsfertig

| Art.-Nr. | Komponente | Standard | Konzentration ng/ml | Volumen / Fläschchen |
|------------------|---|-------------|---|----------------------|
| FR E-2901 |  A | Standard A | 0,0 | 1 ml |
| FR E-2902 |  B | Standard B | 0,4 | 1 ml |
| FR E-2903 |  C | Standard C | 1,0 | 1 ml |
| FR E-2904 |  D | Standard D | 4,0 | 1 ml |
| FR E-2905 |  E | Standard E | 10 | 1 ml |
| FR E-2906 |  F | Standard F | 20 | 1 ml |
| FR E-2951 |  1 | Kontrolle 1 | Kontrollwerte und -bereiche entnehmen Sie bitte dem | 1 ml |
| FR E-2952 |  2 | Kontrolle 2 | Fläschchenetikett oder dem QC-Report. | 1 ml |

Umrechnung: 1 ng/ml = 7,14 pmol/l
*Die Standards sind gegen das folgende Referenzmaterial kalibriert:
1st WHO International Reference Reagent, Mullerian Inhibiting Substance/Anti-Mullerian Hormone, NIBSC code: 16/190
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.*

FR E-2940  **Enzyme Conjugate** (Enzymkonjugat) – Gebrauchsfertig
Inhalt: Anti-AMH-Antikörper mit Meerrettichperoxidase konjugiert; Rot gefärbt.
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
Volumen: 1 x 14 ml

FR E-0055 **SUBSTRATE** **Substrate Solution** (Substratlösung) – Gebrauchsfertig

Inhalt: Enthält 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB).
Von direktem Sonnenlicht fernhalten.

Volumen: 1 x 14 ml

FR E-0080 **STOP-SOLN** **Stop Solution** (Stopplösung) – Gebrauchsfertig

Inhalt: Enthält < 5% H₂SO₄,
Kontakt mit der Stopplösung vermeiden! Kann Hautreizungen und -verätzungen verursachen.

Volumen: 1 x 14 ml

Mögliche Gefahren:



H290 Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.
H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.

FR E-0030 **WASH-CONC 40x** **Wash Solution** (Waschlösung) – 40X-Konzentrat

Volumen: 1 x 30 ml
Siehe „Vorbereitung der Reagenzien“.

Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.

1x Gebrauchsanweisung (IFU)

1x Analysenzertifikat (CoA)

4.2 Erforderliche, aber nicht enthaltene Materialien

- Kalibriertes Mikrotiterplattenlesegerät (450 nm, mit Referenzwellenlänge bei 620 nm bis 630 nm)
- Kalibrierte variable Präzisions-Mikropipetten
- Manuelle oder automatische Wascheinrichtung für Mikrotiterplatten
- Saugfähiges Papier
- Destilliertes Wasser
- Laborwecker
- Millimeterpapier oder Software zur Datenauswertung

4.3 Lagerung und Haltbarkeit des Kits

Ungeöffnete Kits und Reagenzien sowie **geöffnete Reagenzien** müssen bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Die Mikrotiterplatte muss immer in dem wiederverschließbaren Aluminiumbeutel, der ein Trockenmittel enthält, gelagert werden. Öffnen Sie den Beutel erst, wenn er Raumtemperatur erreicht hat. Die Mikrotiterplatte besteht aus 12 einzelnen Streifen. Jeder Streifen kann in 8 einzelne Kavitäten (Wells) unterteilt werden. Nicht benötigte Kavitäten müssen sofort in den Aluminiumbeutel mit dem Trockenmittel zurückgegeben und wieder dicht verschlossen bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Einmal geöffnete Reagenzfläschchen müssen wieder fest verschlossen werden.

| | Lagerungstemperatur | Stabilität |
|---|---------------------|--|
| Ungeöffneter Kit und ungeöffnete Reagenzien | 2 °C bis 8 °C | Bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatum. Reagenzien nach Ablauf dieses Datums nicht mehr verwenden! |
| Geöffneter Kit | 2 °C bis 8 °C | 8 Wochen |

4.4 Vorbereitung der Reagenzien

Alle Reagenzien und die benötigte Anzahl der Mikrotiterstreifen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (20 °C bis 26 °C) bringen.

Wash Solution

Fügen Sie der 40-fach konzentrierten Waschlösung (*Wash Solution*) destilliertes Wasser hinzu. 30 ml der konzentrierten Waschlösung mit 1170 ml destilliertem Wasser auf ein Endvolumen von 1200 ml verdünnen.

| | | |
|-----------------------------|---------------------|---------|
| Stabilität nach Verdünnung: | bei 20 °C bis 26 °C | 1 Woche |
|-----------------------------|---------------------|---------|

4.5 Entsorgung des Kits

Die Entsorgung des Kits und aller verwendeten Materialien / Reagenzien muss gemäß den nationalen gesetzlichen Vorschriften erfolgen. Spezielle Informationen für dieses Produkt finden Sie im Sicherheitsdatenblatt, Abschnitt 13.

4.6 Beschädigte Testkits

Im Falle einer Beschädigung des Testkits oder der Komponenten muss der Hersteller in schriftlicher Form spätestens eine Woche nach Erhalt des Kits informiert werden. Beschädigte Einzelkomponenten dürfen nicht für den Testlauf verwendet werden. Sie müssen aufbewahrt werden, bis eine endgültige Lösung gefunden wurde. Danach sollten Sie gemäß den offiziellen Richtlinien entsorgt werden.

5 ENTNAHME, LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER PROBEN

Das folgende Probenmaterial kann in diesem Test eingesetzt werden:

Humanes Serum oder Plasma (EDTA- oder Lithium-Heparinplasma)

Proben, die Natriumazid enthalten, sollten nicht verwendet werden.

Generell sollte die Verwendung von hämolytischen, ikterischen oder lipämischen Proben vermieden werden. Weitere Informationen finden Sie im Kapitel „Interferenzen“.

5.1 Probenentnahme

Serum: Blut durch Venenpunktion entnehmen (z.B. mit Sarstedt Monovette für Serum), gerinnen lassen und das Serum durch Zentrifugation bei Raumtemperatur abtrennen. Vor der Zentrifugation muss die Gerinnung vollständig abgeschlossen sein. Bei Patienten, die Antikoagulantien erhalten, kann die Gerinnungszeit länger dauern.

Plasma: Die Blutentnahme erfolgt mit Röhrchen, die ein Antikoagulant enthalten (z.B.: Sarstedt Monovette – mit entsprechender Plasma-Präparierung). Das Plasma wird als Überstand nach einer Zentrifugation gewonnen.

Vollblut sollte vor der Zentrifugation nicht eingefroren werden.

5.2 Probenlagerung

Die Proben müssen bis zur Durchführung des Tests fest verschlossen aufbewahrt werden. Wenn sie gefroren gelagert werden, nur einmal einfrieren. Auftaute Proben müssen vor dem Test mehrmals geschwenkt werden.

| | | |
|-------------|---------------------------|-----------------|
| Stabilität: | bei 2 °C bis 8 °C | 7 Tage |
| | bei -20 °C (in Aliquoten) | bis zu 3 Monate |

5.3 Probenvorbereitung

Die Proben können ohne zusätzliche Vorbereitung analysiert werden.

6 TESTDURCHFÜHRUNG

6.1 Hinweise zur Durchführung

- Alle Reagenzien und Proben müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20 °C bis 26 °C) gebracht werden.
- Alle Reagenzien müssen ohne Schaumbildung gemischt werden.
- Die Kappen der Reagenzfläschchen dürfen nicht vertauscht werden, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
- Für jeden Standard, jede Kontrolle oder Probe eine neue Einweg-Plastikspitze verwenden, um Verschleppungen zu vermeiden.
- Mischen Sie den Inhalt der Mikrotiterplatten-Vertiefungen gründlich, um gute Testergebnisse zu gewährleisten.
- Kavitäten während der Testdurchführung nicht trocknen lassen; Reagenzien unmittelbar nach Ende des Waschschriffs hinzufügen.
- Sobald der Test begonnen wurde, müssen alle Schritte ohne Unterbrechung und in der gleichen Reihenfolge für jeden Schritt abgeschlossen werden.
- Die enzymatische Reaktion ist linear proportional zu Zeit und Temperatur.
- Die optische Dichte ist eine Funktion der Inkubationszeit und -temperatur. Die in Kapitel "Testverfahren" angegebenen Inkubationszeiten und -temperaturen müssen eingehalten werden.
- Es wird empfohlen, vor Beginn der Testdurchführung alle Reagenzien in einen arbeitsbereiten Zustand zu bringen, die Deckel der Fläschchen zu öffnen, alle benötigten Wells in den Halter zu setzen, usw. Nur eine solche Vorbereitung garantiert für jeden Pipettierschritt gleiche Zeiten ohne Unterbrechung.
- **Wichtiger Hinweis zum Waschvorgang:**
Das Waschen ist entscheidend. Unsachgemäß gewaschene Kavitäten führen zu fehlerhaften Ergebnissen. Die Sensitivität und Präzision dieses Assays wird erheblich beeinflusst von der korrekten Durchführung des Waschschriffs!
- **Testdurchführung mit vollautomatischen Analysegeräten:**
Eine automatisierte Testdurchführung mit vollautomatischen, systemoffenen Analysegeräten ist möglich. Die Kombination muss jedoch vom Anwender validiert werden.

6.2 Testdurchführung

Jeder Lauf muss eine Standardkurve beinhalten.

Die Kontrollen dienen der internen Überprüfung der Zuverlässigkeit des Testverfahrens. Sie müssen bei jedem Testdurchlauf gemessen werden.

Das angegebene Testverfahren beschreibt die manuelle Abarbeitung.

| | |
|-----------|--|
| 1. | Die benötigte Anzahl der Mikrotiter-Wells in der Halterung befestigen. |
| 2. | Je 25 µl Standard, Kontrolle und Probe <u>mit neuen Plastikspitzen</u> in die entsprechenden Wells pipettieren. |
| 3. | 100 µl Enzyme Conjugate in jedes Well zugeben. Für 10 Sekunden gut schütteln. Es ist sehr wichtig, in diesem Schritt eine komplette Durchmischung zu erreichen. |
| 4. | 60 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren. |
| 5. | Die Vertiefungen folgendermaßen waschen: Wenn der Waschschrift <u>manuell</u> durchgeführt wird: Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln. Wells 3-mal mit 300 µl verdünnter <i>Wash Solution</i> pro Well waschen. Bei Verwendung eines <u>Waschautomaten</u> : Wells 3-mal mit 400 µl verdünnter <i>Wash Solution</i> pro Well waschen. <u>Am Ende des Waschschriffs die Vertiefungen immer</u> kräftig auf saugfähigem Papier ausklopfen, um verbliebene Flüssigkeit zu entfernen. |
| 6. | 100 µl Substrate Solution in jedes Well pipettieren. |
| 7. | 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren. |
| 8. | Die enzymatische Reaktion durch Zugabe von 50 µl Stop Solution in jedes Well abstoppen. |
| 9. | Die Optische Dichte (OD) der Lösung in jedem Well bei 450 nm (Messung) und 620 nm bis 630 nm (Abzug des Hintergrundes, empfohlen) mit einem Mikrotiterplattenleser bestimmen. Es wird empfohlen, die Vertiefungen innerhalb von 10 Minuten nach Zugabe der Stopplösung abzulesen. |

6.3 Berechnung der Ergebnisse

1. Die Konzentration der Proben kann direkt von der Standardkurve abgelesen werden.
2. Bei Doppelbestimmungen muss für jeden Standard, jede Kontrolle und Patientenproben der Mittelwert der beiden OD-Werte verwendet werden. Weichen die beiden Werte erheblich voneinander ab, empfiehlt der Hersteller, die Proben erneut zu testen.
3. Proben mit Konzentrationen, die den höchsten Standard überschreiten, können mit *Standard A* weiter verdünnt und wie unter "Testdurchführung" beschrieben erneut gemessen werden oder müssen als > 20 ng/ml angegeben werden. Bei der Berechnung der Konzentrationen muss dieser Verdünnungsfaktor berücksichtigt werden.
(*Beispiel: Verdünnung 1:10: 10 µl Probe + 90 µl Standard A*)
4. Automatische Methode:
Die in der Gebrauchsanweisung angegebenen Ergebnisse wurden automatisch mit Hilfe der 4-Parameter-Gleichung bestimmt. (4-Parameter-Rodbard oder 4-Parameter-Marquardt sind die bevorzugten Methoden.) Andere Auswertungsfunktionen können leicht abweichende Werte ergeben.
5. Manuelle Methode:
Erstellen Sie unter Verwendung von linearem oder halblogarithmischem Millimeterpapier eine Standardkurve, indem Sie die (mittlere) OD jedes Standards gegen seine Konzentration auftragen, wobei der OD-Wert auf der vertikalen (Y) Achse und die Konzentration auf der horizontalen (X) Achse liegt. Bestimmen Sie die entsprechende Probenkonzentration anhand der Standardkurve, indem Sie den (mittleren) OD-Wert für jede Probe verwenden.

6.3.1 Beispiel einer typischen Standardkurve

Die folgenden Daten dienen nur zur Orientierung und dürfen **nicht** anstelle der Datengenerierung zum Zeitpunkt des Tests verwendet werden.

| Standard | Optische Dichte (450 nm) |
|------------------------|--------------------------|
| Standard A (0,0 ng/ml) | 0,03 |
| Standard B (0,4 ng/ml) | 0,08 |
| Standard C (1,0 ng/ml) | 0,16 |
| Standard D (4,0 ng/ml) | 0,55 |
| Standard E (10 ng/ml) | 1,27 |
| Standard F (20 ng/ml) | 2,28 |

7 REFERENZWERTE

Es wird dringend empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzwerte ermittelt.

In einer Studie mit dem AMH ELISA wurden die Proben von scheinbar gesunden Erwachsenen untersucht. Dabei ergaben sich folgende Werte:

| Population | n | Mittelwert (ng/ml) | Median (ng/ml) | 2,5. – 97,5. Perzentile (ng/ml) | Bereich (min. – max.) (ng/ml) |
|-------------------------------|----|--------------------|----------------|---------------------------------|-------------------------------|
| Männer | 30 | 3,99 | 3,69 | 0,32 – 7,36 | 0,06 – 7,75 |
| Frauen (20 – 29 Jahre) | 30 | 2,71 | 2,38 | 0,69 – 6,23 | 0,66 – 6,37 |
| Frauen (30 – 39 Jahre) | 30 | 2,42 | 1,85 | 0,51 – 6,72 | 0,48 – 8,39 |
| Frauen (40 – 49 Jahre) | 30 | 0,61 | 0,29 | < 0,06 – 4,09 | < 0,06 – 4,37 |

Die Median-AMH-Werte von Frauen, bei denen ein polyzystisches Ovarialsyndrom (PCOS) diagnostiziert wurde, waren im Vergleich zu gesunden Frauen zwei- bis viermal höher und gingen mit zunehmendem Alter nicht merklich zurück.

Bei Frauen mit diagnostiziertem PCOS wurde bei Probanden im Alter von 20 bis 24 Jahren ein Median von 7,19 ng/ml und bei Probanden im Alter von 35 bis 39 Jahren ein Median von 6,46 ng/ml beobachtet. (11)

Bei Frauen mit AMH ≤ 0,681 ng/ml beträgt die Wahrscheinlichkeit einer niedrigen Antralfollikelzahl (AFC 0 – 7) 63%, die Wahrscheinlichkeit, zur mittleren AFC-Gruppe (8 – 15) zu gehören, etwa 32% und die Wahrscheinlichkeit einer AFC > 15 beträgt nur 4,4%. (12, 13)

Werte, die über oder unter dem Referenzbereich liegen, sollten als verdächtig angesehen werden und erfordern zusätzliche Untersuchungen.

Die mit diesem Testkit erzielten Ergebnisse sollten niemals als alleinige Grundlage für therapeutische Konsequenzen dienen. Die Ergebnisse müssen zusammen mit anderen klinischen Befunden und diagnostischen Tests des Patienten interpretiert werden.

8 QUALITÄTSKONTROLLE

Eine gute Qualitätssicherung im Labor erfordert, dass mit jeder Standardkurve Kontrollen mitgeführt werden. Eine statistisch signifikante Anzahl von Kontrollen sollte gemessen werden, um Mittelwerte und Akzeptanzbereiche zu ermitteln und damit eine korrekte Testdurchführung zu gewährleisten.

Es wird empfohlen, die Kontrollproben gemäß den nationalen gesetzlichen Bestimmungen einzusetzen. Durch die Verwendung von Kontrollproben wird eine Tag-zu-Tag-Überprüfung der Ergebnisse erzielt. Es sollten Kontrollen sowohl mit normalem als auch pathologischem Level eingesetzt werden.

Die Kontrollen mit den entsprechenden Ergebnissen des QC-Labors sind im Analysenzertifikat (CoA), das dem Kit beiliegt, aufgeführt. Die im CoA angegebenen Werte und Bereiche beziehen sich stets auf die aktuelle Kitcharge und sollen zum direkten Vergleich der Ergebnisse verwendet werden.

Falls verfügbar, wird ebenfalls empfohlen, an nationalen oder internationalen Qualitätssicherungsprogrammen teilzunehmen, um die Genauigkeit der Ergebnisse zu sichern.

Es sollten geeignete statistische Methoden zur Analyse von Kontrollwerten und Trends angewendet werden. Wenn die Ergebnisse des Assays nicht mit den angegebenen Akzeptanzbereichen des Kontrollmaterials übereinstimmen, sollten die Patientenergebnisse als ungültig eingestuft werden.

In diesem Fall überprüfen Sie bitte die folgenden Bereiche: Pipetten und Zeitnehmer, Photometer, Verfallsdaten der Reagenzien, Lagerungs- und Inkubationsbedingungen, Absaug- und Waschmethode.

Sollten nach Überprüfung der vorgenannten Bereiche keine Fehler erkennbar sein, setzen Sie sich bitte mit Ihrem Lieferanten oder direkt mit dem Hersteller in Verbindung.

9 LEISTUNGSMERKMALE

9.1 Spezifität der Antikörper (Kreuzreaktivität)

Ausführliche Informationen zu den getesteten Substanzen finden Sie in der englischen Version der Gebrauchsanweisung.

9.2 Sensitivität

| | |
|------------------------------|--------------------------|
| „Limit of Blank“ (LoB) | 0,044 ng/ml |
| Nachweisgrenze (LoD) | 0,052 ng/ml |
| Quantifizierungsgrenze (LoQ) | 0,062 ng/ml |
| | |
| Messbereich | 0,052 ng/ml – 20,0 ng/ml |
| Linearer Bereich | 0,19 ng/ml – 20 ng/ml |

Die Daten zu:

9.3 Reproduzierbarkeit (Präzision)

9.4 Wiederfindung

9.5 Linearität

9.6 Methodenvergleich

entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Version der Gebrauchsanweisung.

10 GRENZEN DES VERFAHRENS

Zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, wenn das Testverfahren mit vollständigem Verständnis der Gebrauchsanweisung und unter Einhaltung der Richtlinien zur Qualitätssicherung im Labor durchgeführt wird.

Jede unsachgemäße Handhabung der Proben oder eine Modifikation dieses Tests kann die Ergebnisse beeinflussen.

10.1 Störsubstanzen

Hämoglobin (bis zu 4 mg/ml), Bilirubin (bis zu 0,5 mg/ml) und Triglyceride (bis zu 7,5 mg/ml) haben keinen Einfluss auf das Testergebnis.

10.2 Beeinflussung durch Medikamente

Zurzeit sind uns keine Substanzen (Medikamente) bekannt, die einen Einfluss auf die Bestimmung von AMH in einer Probe haben.

10.3 High-Dose-Hook-Effekt

Ein Hook-Effekt tritt in diesem Test bis zu einer Konzentration von 400 ng/ml AMH nicht auf.

11 RECHTLICHE GRUNDLAGEN

11.1 Zuverlässigkeit der Ergebnisse

Der Test muss exakt gemäß der Testanleitung des Herstellers abgearbeitet werden. Darüber hinaus muss der Anwender die Richtlinien zur Qualitätssicherung im Labor und anwendbare nationale Normen und/oder Gesetze strikt einhalten. Dies betrifft besonders den Gebrauch der Kontrollreagenzien. Es ist sehr wichtig, bei der Testdurchführung stets eine ausreichende Anzahl Kontrollen zur Überprüfung der Genauigkeit und Präzision mitzuführen.

Die Testergebnisse sind nur gültig, wenn alle Kontrollen in den vorgegebenen Bereichen liegen, und wenn alle anderen Testparameter die vorgegebenen Spezifikationen für diesen Assay erfüllen.

Wenn bezüglich eines Ergebnisses Zweifel oder Bedenken bestehen, setzen Sie sich bitte mit dem Hersteller in Verbindung.

11.2 Therapeutische Konsequenzen

Therapeutische Konsequenzen sollten keinesfalls nur aufgrund von Laborergebnissen erfolgen, selbst dann nicht, wenn alle Testergebnisse mit den in 11.1 genannten Voraussetzungen übereinstimmen. Jedes Laborergebnis ist nur ein Teil des klinischen Gesamtbildes eines Patienten.

Nur in Fällen, in denen die Laborergebnisse in akzeptabler Übereinstimmung mit dem allgemeinen klinischen Bild des Patienten stehen, sollten therapeutische Konsequenzen eingeleitet werden.

Das Testergebnis allein sollte niemals als alleinige Grundlage für die Einleitung therapeutischer Konsequenzen dienen.

11.3 Haftung

Jegliche Veränderungen des Testkits und/oder Austausch oder Vermischung von Komponenten unterschiedlicher Chargen von einem Testkit zu einem anderen, können die gewünschten Ergebnisse und die Gültigkeit des gesamten Tests negativ beeinflussen. Solche Veränderungen und/oder Austausch haben den Ausschluss jeglicher Ersatzansprüche zur Folge.

Reklamationen, die aufgrund von Falschinterpretation von Laborergebnissen durch den Kunden gemäß Punkt 11.2 erfolgen, sind ebenfalls abzuweisen. Im Falle jeglicher Reklamation ist die Haftung des Herstellers maximal auf den Wert des Testkits beschränkt. Jegliche Schäden, die während des Transports am Kit entstanden sind, unterliegen nicht der Haftung des Herstellers.














11.4 Meldung von schwerwiegenden Vorkommnissen

Jedes schwerwiegende Vorkommnis im Zusammenhang mit dem Produkt ist dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist, zu melden.

12 LITERATUR

1. Jopling H, Yates A, Burgoyne N, Hayden K, Chaloner C, Tetlow L. Paediatric Anti-Müllerian Hormone measurement: Male and female reference intervals established using the automated Beckman Coulter Access AMH assay. *Endocrinol Diabetes Metab.* 2018;1(4):e00021.
2. Hampl R, Šnajderová, M, Mardešić T. Antimüllerian Hormone (AMH) Not Only a Marker for Prediction of Ovarian Reserve. *Physiol. Res.* 60: 217-223, 2011.
3. Matuszczak E, Hermanowicz A, Komarowska M, Debek W. Serum AMH in Physiology and Pathology of Male Gonads. *Int J Endocrinol.* 2013:128907.
4. Victoria M, Labrosse J, Krief F, Cédric-Durnerin I, Comtet M, Grynberg M. Anti Müllerian Hormone: More than a biomarker of female reproductive function. *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* 2019 Jan;48(1):19-24.
5. Broer S, Broekmans F, Laven J, Fauser B. Anti-Müllerian hormone: ovarian reserve testing and its potential clinical implications. *Hum Reprod Update.* 2014 Sep-Oct;20(5):688-701.
6. Broer S, Eijkemans M, Scheffer G, van Rooij I, de Vet A, Themmen A, Laven J, de Jong F, te Velde E, Fauser B, Broekmans F. Anti-Müllerian Hormone Predicts Menopause: A Long-Term Follow-Up Study in Normoovulatory Women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Aug;96(8):2532-9.
7. Visser J, de Jong F, Laven, J, Themmen A. Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction.* 2006 Jan;131(1):1-9.
8. Broer S, van Disseldorp J, Broeze K, Dolleman M, Opmeer B, Bossuyt P, Eijkemans M, Mol B, Broekmans F; IMPORT study group. Added value of ovarian reserve testing on patient characteristics in the prediction of ovarian response and ongoing pregnancy: an individual patient data approach. *Hum Reprod Update.* 2013 Jan-Feb;19(1):26-36.
9. Ebner T, Sommergruber M, Moser M, Shebl O, Schreier-Lechner E, Tews G. Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles. *Hum Reprod.* 2006 Aug;21(8):2022-6.
10. Sun H, Mao H, Cai J, Zhao Y. Research progress on anti-müllerian hormone clinical applications and immunoassay development. *Frontiers in Laboratory Medicine.* 2018 2(1):14-18.
11. Anckaert E, Öktem M, Thies A, Cohen-Bacrie M, Daan NM, Schiettecatte J, Müller C, Topcu D, Gröning A, Ternaux F, Engel C, Engelmann S, Milczynski C. Multicenter analytical performance evaluation of a fully automated anti-Müllerian hormone assay and reference interval determination. *Clinical biochemistry* 2016, 49(3), 260–267.
12. Anderson R A, Anckaert E, Bosch E, Dewailly D, Dunlop CE, Fehr D, Nardo L, Smitz J, Tremellen K, Denk B, Geistanger A, Hund M. Prospective study into the value of the automated Elecsys antimüllerian hormone assay for the assessment of the ovarian growing follicle pool. *Fertility and sterility* 2015, 103(4), 1074–1080.e4.
13. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. *Fertility and sterility* 2012, 98(6), 1407–1415.

Symbole:

| | | | | | |
|---|-----------------------------|---|---------------|---|------------------------------------|
|  | Lagertemperatur |  | Hersteller |  | Enthält Testmaterial für <n> Teste |
|  | Verwendbar bis |  | Chargennummer |  | In vitro Diagnostikum |
|  | Gebrauchsanweisung beachten |  | Inhalt |  | CE-Kennzeichnung |
|  | Achtung |  | Katalognummer |  | Vertriebspartner |
|  | Herstellungsdatum | | | | |