

AMH

(sangre total/capilar, suero o plasma)

AMH 0526/01

REF DMAMH01

Uso deseado

La prueba rápida de AMH (sangre total/capilar, suero o plasma) es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección semicuantitativa de la hormona antimülleriana en muestras de sangre total/capilar, suero o plasma.

Resumen

La hormona antimülleriana (AMH, por sus siglas en inglés) es una glicoproteína producida principalmente por las células de la granulosa de los folículos ováricos en desarrollo y desempeña un papel importante en la regulación de la función reproductiva femenina [1]. La AMH es considerada uno de los principales marcadores de reserva ovárica, ya que permite estimar la cantidad de folículos disponibles y, por lo tanto, el potencial reproductivo femenino [1,2]. En mujeres en edad reproductiva, los valores séricos de AMH generalmente se encuentran entre 1 y 7 ng/mL, aunque estos pueden variar dependiendo de la edad y la condición clínica de la paciente [2].

Las concentraciones séricas de AMH disminuyen progresivamente con el envejecimiento femenino. Valores inferiores a 1 ng/mL suelen asociarse con disminución de la reserva ovárica, infertilidad o proximidad a la menopausia, mientras que concentraciones superiores a 7 ng/mL pueden relacionarse con síndrome de ovario poliquístico (SOP) y una mayor cantidad de folículos antrales [3,4]. Además, la AMH puede utilizarse como apoyo en la evaluación de la respuesta ovárica en tratamientos de reproducción asistida y en el estudio de alteraciones endocrinas femeninas [3].

La detección de AMH es importante porque proporciona información sobre el estado funcional de los ovarios y ayuda en la toma de decisiones clínicas relacionadas con fertilidad, diagnóstico de SOP y manejo reproductivo [2,4]. Entre los métodos utilizados para su determinación se encuentran inmunoensayos automatizados, ELISA y técnicas de quimioluminiscencia; sin embargo, algunos requieren equipo especializado, personal capacitado y tiempos de procesamiento prolongados [3]. Las pruebas rápidas han demostrado ser herramientas eficaces para el tamizaje debido a su rapidez, facilidad de uso y capacidad de aplicación en el punto de atención, permitiendo su implementación tanto en entornos clínicos como de campo [5].

Principio

La prueba rápida de AMH (sangre total/capilar, suero o plasma) para la detección semicuantitativa de la hormona antimülleriana en muestras de sangre total/capilar, suero o plasma es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba contiene una membrana dividida en dos regiones: una de prueba 'T' que tiene impresos anticuerpos de captura anti-AMH y una región control 'C' impresa con anti-ratón. La prueba también posee un conjugado conformado por nanopartículas de oro coloidal recubiertas con anticuerpos de detección anti-AMH. Una vez que la muestra es depositada en el pozo 'S' del cartucho junto con la solución de corrimiento, esta reaccionará con el conjugado y migrará a través de la membrana por acción capilar.

Si la muestra contiene concentraciones de AMH **entre 1 y 7 ng/mL** se formará una línea de color en la región 'T' con la misma intensidad que la presentada en la tarjeta de color. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de AMH **mayores a 7 ng/mL** la intensidad de la línea de color en la región 'T' será más intensa que la mostrada en la tarjeta de color mientras que **si es menor a 1 ng/mL** la línea de color podría ser tenue o incluso no formarse. La validez de la prueba se confirma por la aparición de una línea de color en la región 'C'. Esta línea corresponde al control interno del procedimiento e indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y que la prueba se ejecutó correctamente.

Reactivos

La prueba contiene nanopartículas de oro coloidal, anticuerpos de detección anti-AMH y anticuerpos de captura (anti-AMH y anti-ratón).

Precauciones

Lea toda la información de este instructivo antes de utilizar la prueba:

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipular todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos.
- No utilizar la prueba después de la fecha de caducidad.
- No comer, beber ni fumar en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilizar la prueba si su empaque está dañado.
- Utilizar bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones aplicables.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.
- No mezclar componentes de diferentes lotes.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en su empaque sellado a temperatura ambiente (15-30 °C). Nota: No congele la prueba.
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en su empaque.

Materiales

Suministrados:

- Prueba rápida en cartucho
- Gotero
- Lanceta (Punción capilar)
- Almohadilla con alcohol
- Solución de corrimiento (Buffer)
- Tarjeta de color
- Instructivo de uso

Requeridos, pero no suministrados:

- Temporizador

Opcionales:

- Centrífuga
- Sistema de toma de muestra por venopunción

Recolección de muestra

• Sangre

Por punción capilar:

- I. Lave la mano del paciente con agua tibia y jabón, después seque el área.
- II. Masajea la mano sin tocar el sitio de la punción frotando desde la yema del dedo anular o medio.
- III. Perfore la piel con una lanceta y limpie la primera señal de sangre.
- IV. Frote suavemente la mano desde la muñeca hasta la palma para formar una gota de sangre sobre el sitio de punción.
- V. A continuación, presione el bulbo del gotero, coloque el extremo inferior sobre la gota de muestra y libere el bulbo para recolectar la sangre. Nota: Evite generar burbujas de aire.

Por venopunción:

- a) Tome la muestra según los criterios estándar. Para ello puede emplear un tubo con anticoagulante (EDTA, heparina, citrato u oxalato) y utilizar la muestra directamente en la prueba.
- **Suero o Plasma**
- a) Separe el suero o el plasma de la sangre tan pronto sea posible. Esto con la finalidad de evitar la hemólisis de la muestra.

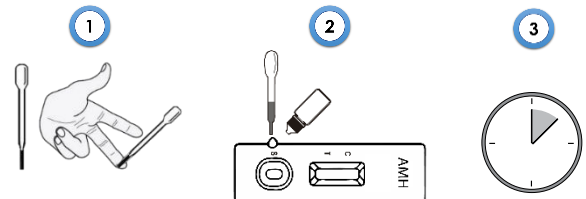
Almacenamiento y estabilidad de la muestra

- Se recomienda realizar la prueba inmediatamente después de que las muestras hayan sido recolectadas.
- No dejar las muestras a temperatura ambiente durante más de 3 horas.
- Las muestras de sangre, suero o plasma pueden almacenarse máximo por 2 días a una temperatura de 2-8 °C.
- No congelar muestras de sangre.
- Las muestras de suero o plasma deben almacenarse por debajo de -20 °C para su conservación a largo plazo.
- Recuerde evitar ciclos de congelación/descongelación repentinos o continuos.
- Las muestras obtenidas por punción capilar deben procesarse inmediatamente.
- Utilizar muestras claras no hemolizadas. Si existen partículas, centrifugue, filtre y obtenga la muestra.
- Si las muestras deben enviarse, se recomienda empaquetarlas de acuerdo con las regulaciones locales que cubren el transporte de agentes etiológicos.

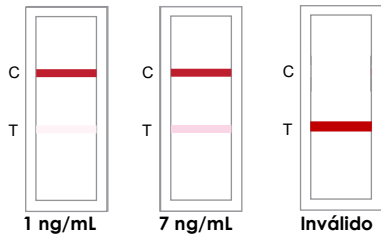
Instrucciones de uso

Permita que la prueba, la muestra y el buffer alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar el ensayo. Retire el cartucho de su empaque y utilícelo de inmediato. Colóquelo sobre una superficie limpia y nivelada y siga los pasos que se describen a continuación:

1. Obtenga la muestra como se indicó en la sección 'Recolección de muestra'.
2. Agregue las cantidades señaladas según el tipo de muestra:
Para muestras de suero o plasma:
 - Sostenga el gotero en posición vertical y transfiera 2 gotas (aproximadamente 50 µL) de muestra en el pozo 'S' de la prueba.
 - Agregue 1 gota (aproximadamente 40 µL) de buffer en el pozo 'S' de la prueba.**Para muestras de sangre total/capilar:**
 - Sostenga el gotero en posición vertical y transfiera 3 gotas (aproximadamente 75 µL) de sangre total al pozo 'S' de la prueba.
 - Agregue 1 gota de buffer (aproximadamente 40 µL) en el pozo 'S' de la prueba.
3. Inicie un temporizador e interprete los resultados a los 10 minutos empleando la tarjeta de color. No interprete el resultado después de 15 minutos. Nota: Debido a la susceptibilidad del buffer a ser contaminado por condiciones ambientales, se recomienda no usarlo 3 meses después de haber sido abierto.



Interpretación de resultados



(Consulte la ilustración anterior, compare la intensidad de la línea de color en la región 'T' con la tarjeta de color provista con esta prueba).

Nivel AMH		Rango de referencia (ng/mL)
Normal		1-7
Anormal	Indicativo de menor reserva ovárica	< 1
	Indicativo de SOP	> 7

ANORMAL:

- **Indicativo de menor reserva ovárica:** Una línea de color aparece en la región 'C'. No aparece ninguna línea de color en la región 'T' o la intensidad de la línea es menor a la indicada en la tarjeta de color para 1 ng/mL.
- **Indicativo de SOP:** Dos líneas de color aparecen, una en la región 'C' y otra en la región 'T'. Tomando como referencia la tarjeta de color, la intensidad de la línea en la región 'T' es más intensa que la indicada para 7 ng/mL.

NOTA: Siempre comparar la intensidad de la línea en la región 'T' con la "Tarjeta de color AMH" e interpretar de acuerdo al resultado.

NORMAL: Una línea de color aparece en la región 'C' y otra línea de color en la región 'T'. Tomando como referencia la tarjeta de color, la intensidad de la línea en la región 'T' es más intensa que la indicada para 1 ng/mL, pero más tenue que la de 7 ng/mL.

INVÁLIDO: La línea de la región 'C' no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas, suelen ser las razones más probables de la falla de dicha línea. Revise el procedimiento y repita la prueba, si el problema persiste deje de usar la prueba inmediatamente y comuníquese con su distribuidor más cercano.

Control de calidad

La prueba incluye un control interno del procedimiento. Una línea de color aparece en la región 'C' confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento se realizó exitosamente. No se suministran controles positivos ni negativos con esta prueba, sin embargo, se recomienda su uso como parte de las buenas prácticas de laboratorio (BPL).

Limitaciones

1. Funcionalidad de reactivos:
 - Al igual que todas las pruebas rápidas, la funcionalidad del buffer incluido con esta prueba puede verse afectada por la contaminación ambiental. Considere el tiempo establecido (3 meses después de ser abierto) para obtener resultados óptimos.
2. Uso Profesional e Interpretación:
 - Esta prueba es exclusivamente para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.
 - Los resultados deben ser interpretados por personal calificado y no deben utilizarse como único criterio para diagnóstico de la reserva ovárica.
 - El resultado obtenido debe considerarse en conjunto con toda la información clínica, sintomatología y antecedentes del paciente.
 - El resultado de esta prueba corresponde únicamente al analito detectado y no indica ni descarta la presencia de otros analitos.
3. Alcance del Resultado (Semicuantitativo):
 - Esta es una prueba semicuantitativa; no proporciona un valor cuantitativo exacto, sino un resultado dentro de los rangos definidos: <1, 1-7 y >7 ng/mL.
 - La prueba detecta la presencia del analito en muestras de sangre total/capilar, suero o plasma. El rendimiento depende directamente de la concentración de AMH presente en la muestra.
4. Factores Técnicos:
 - Muestras con niveles de hematocrito fuera del rango [25% - 65%] pueden alterar la precisión de los resultados.
 - Validación: El desempeño de la prueba solo está garantizado bajo las condiciones e instrucciones mencionadas en este instructivo.
5. Observaciones Específicas (Particularidades):
 - Los médicos deben diagnosticar SOP (ovario poliquístico) y baja reserva ovárica mediante la combinación de un historial detallado y criterios de diagnóstico del consenso ESHRE/ASRM de Rotterdam para SOP.

Valores esperados

La prueba rápida de AMH fue comparada con una prueba comercial CLIA, se obtuvo una precisión global de 98.29%.

Características de desempeño

Sensibilidad, Especificidad y Precisión

Se utilizó la prueba para procesar un total de 205 muestras, de las cuales se analizó comparando resultados con un método CLIA. Los resultados se tabulan a continuación:

Método	CLIA			Resultados totales	
	Resultados	Bajo < 1 ng/mL	Normal 1-7 ng/mL		Alto > 7 ng/mL
Prueba rápida de AMH	Bajo	32	3	0	35
	Normal	2	149	1	152
	SOP	0	0	18	18
Resultados totales		34	152	19	205

Sensibilidad relativa: 96.92% (95% IC: 94.26%-98.37%)

Especificidad relativa: 98.68% (95% IC: 96.61%-99.50%)

Precisión relativa: 98.29% (95% IC: 96.07%-99.27%)

IC: Intervalo de Confianza

Precisión

Intra-Ensayo

La repetibilidad de la prueba fue determinada usando 3 réplicas de 4 muestras de AMH: tres positivas (1, 7 y 10 ng/mL) y una negativa (<1 ng/mL). Las muestras fueron correctamente identificadas >99% del tiempo.

Inter-Ensayo

La reproducibilidad de la prueba fue determinada mediante 3 ensayos independientes en las mismas muestras con tres diferentes lotes. Las muestras fueron correctamente identificadas >99% del tiempo.

Sustancias Interferentes

La prueba ha sido evaluada con muestras a concentraciones de 300 mg/dL de hemoglobina, 170 µmol/L de ácido ascórbico, 20 mg/dL de acetaminofén, 65 mg/dL de ácido acetilsalicílico, 12 g/dL de albúmina de suero humano y 1.4 mmol/L de ácido úrico. No se detectó interferencia significativa.

Reactividad cruzada

La prueba fue evaluada con muestras que contenían inhibina-A, activina-A, LH, FSH y TGFβ-1. Los resultados no mostraron reactividad cruzada.

Referencias

- [1]. La Marca, Antonio, & Volpe, Andrea. (2018). Anti-Müllerian hormone (AMH) in female reproduction: Is measurement of circulating AMH a useful tool? *Clinical Endocrinology*, 89(5), 505-512. <https://doi.org/10.1111/cen.13820>
- [2]. American College of Obstetricians and Gynecologists. (2019). The use of antimüllerian hormone in women not seeking fertility care. *Committee Opinion No. 773. Obstetrics & Gynecology*, 133(4), e274-e278. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003131>
- [3]. Dewailly, Didier, et al. (2020). The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women. *Human Reproduction Update*, 26(6), 814-826. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmaa033>
- [4]. Teede, Helena J., et al. (2018). Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction*, 33(9), 1602-1618. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey256>
- [5]. World Health Organization. (2021). *Recommendations on self-testing and point-of-care diagnostics*. WHO diagnostics guidance

Índice de símbolos

	Consultar instructivo de uso		Caducidad
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>		Número de catálogo
	Almacenar entre 15 - 30 °C		Número de lote
	No utilizar si el paquete está dañado		No reutilizar
	Uso para investigación		