AMH Gen II ELISA

REF A79765

UPOZORNĚNÍ

Není určeno k prodeji v USA.

POUŽITÍ

Enzymoimunoanalytická souprava Anti-Mullerian Hormone (AMH) Gen II (ELISA) obsahuje materiály pro kvantitativní měření hladin AMH v séru a lithium-heparinové plazmě. Toto stanovení je určeno pro *in vitro* diagnostiku.

SOUHRNNÉ INFORMACE A VYSVĚTLENÍ TESTU

AMH je glykoproteinový dimer složený ze dvou monomerů (o m.h. 72 kDa), spojených disulfidovými můstky.[1,2,3,4,5,6,7,8] Patří do rodiny transformujícího růstového faktoru β. AMH má v organizmu různé fyziologické funkce. U mužů je AMH produkováno Sertoliho buňkami. Během embryonálního vývoje zajišťuje AMH zánik Müllerovy trubice. AMH je pak dále produkováno varlaty až do puberty a poté klesá až na post-pubertální zbytkové hodnoty. U žen je AMH v malém množství produkováno granulózovými buňkami ovárií od narození do menopauzy, poté jeho hladina klesá k neměřitelným hodnotám.

PRINCIP STANOVENÍ

Systém AMH Gen II ELISA používá enzymaticky zesílenou metodu typu „sandwich“. Kalibrátory, kontroly a vzorky se inkubují v jamkách mikrotitrační destičky, potažených protilátkou proti AMH. Po inkubaci a promytí se do jamek přidá biotinem značená detekční protilátka proti AMH. Po druhé inkubaci a promytí se do jamek přidá streptavidinem značená křenová peroxidáza (HRP). Po třetí inkubaci a promytí se do jamek přidá substrát tetrametylbenzidin (TMB). Nakonec je dodán kyselý STOP roztok. Po přidání STOP roztoku se množství enzymaticky zpracovaného substrátu určí změřením absorbance při dvou vlnových délkách 450 nm a mezi 600 a 630 nm. Absorbance je přímo úměrná koncentraci AMH ve vzorcích. K sestrojení kalibrační křivky se vynese naměřená hodnota absorbance na osu y proti koncentraci AMH v kalibrátorech na ose x. Koncentrace AMH ve vzorcích se odečte z této kalibrační křivky.

REAGENCIE DODÁVANÉ V SOUPRAVĚ

Ab PLATE **Anti-AMH Gen II Antibody Coated Microtitration strips (Jamky v proužcích potažené protilátkou proti AMH):**
Kat. č. A56025

- Jeden rámeček obsahující 96 jamek uvnitř potažených myší protilátkou proti AMH.
- Skladujte při 2–8°C do data exspirace v uzavíratelném sáčku se sušicí vložkou, abyste zabránili přístupu vlhkosti.

SAMPLE DIL **AMH Gen II Sample Diluent (Roztok na ředění vzorků):**
Kat. č. A56026

- Jedna lahvička, 13 mL, obsahující tlumivý roztok s hovězím sérovým albuminem (BSA), < 0,5 % ProClin* 300 a azidem sodným.
- Skladujte uzavřené při 2–8°C do data exspirace.

BIO CONJ RTU **AMH Gen II Antibody-Biotin Conjugate (Biotinylovaná protilátka proti AMH):** **Kat. č. A56023**

- Připraven k použití.
- Jedna lahvička, 13 mL, obsahující biotinylovanou protilátku proti AMH v tlumivém roztoku s proteiny (hovězí, myší), < 0,3 % ProClin 300 a azidem sodným.
- Skladujte při 2–8°C do data exspirace.

STREP CONJ RTU **Streptavidin-Enzyme Conjugate (Konjugát streptavidinu s enzymem):** **Kat. č. A56024**

- Připraven k použití.
- Jedna lahvička, 13 mL, obsahující konjugát streptavidin-HRP v tlumivém roztoku s proteiny (myší, rybí) a < 10 % methanolu.
- Skladujte při 2–8°C do data exspirace.

ASSAY BUFFER **AMH Gen II Assay Buffer (Tlumivý roztok):**
Kat. č. A56021

- Dvě lahvičky, 13 mL, obsahující tlumivý roztok s BSA, proteiny (hovězí, myší), < 0,3 % ProClin 300 a azidem sodným.
- Skladujte při 2–8°C do data exspirace.

TMB SOLN **Roztok chromogenu TMB:**
Kat. č. DSL-10-9755

- Jedna lahvička, 11 mL, obsahující roztok TMB v citrátovém tlumivém roztoku s peroxidem vodíku.
- Skladujte při 2–8°C do data exspirace.

WASHCONC I **Wash Concentrate I (Promývací roztok I - koncentrát):**
Kat. č. DSL-10-4030

- Jedna lahvička, 100 mL, obsahující pufrovaný fyziologický roztok s neionogenním detergentem.
- Skladujte při at 2–8°C nebo při pokojové teplotě (~25°C) až do data exspirace.
- Před použitím zřeďte 10x deionizovanou vodou.

STOP SOLN A **Stopping Solution A (STOP roztok A):**
Kat. č. DSL-10-9780

- Jedna lahvička, 11 mL, obsahující 0,2 M kyselinu sírovou.
- Skladujte při 2–8°C do data exspirace.

DALŠÍ POTŘEBNÉ MATERIÁLY

1. **AMH Gen II Calibrators and Controls, kat. č. A79766**
2. Trubička vhodné velikosti (pro směs vzorků)
3. Spektrofotometr pro měření mikrotitračních destiček při 450/405 nm, případně s možností duálního měření (referenční filtr) při 600 až 630 nm
4. Deionizovaná voda
5. Přesná pipeta pro dávkování 10–1000 µL
6. Orbitální třepačka mikrotitračních desek s rychlostí 600–800 kmitů/min
7. Automatická promývačka destiček
8. Vibrační míchadlo
9. Savý materiál pro osušení proužků jamek
10. Grafický papír pro analýzu dat

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- **Pro diagnostiku *in vitro*.**
- Dodržujte pravidla správné laboratorní praxe.[9]
- Vzorky a materiály lidského původu mohou být rutinně zpracovávány při dodržení předepsaných postupů s minimálním rizikem. Přesto je potřeba pracovat s těmito materiály jako s potenciálně infekčními a dodržovat obecná bezpečnostní opatření a zásady správné laboratorní praxe bez ohledu na původ těchto látek, jejich zpracování nebo předchozí testování.[10] Pro dekontaminaci používejte vhodná dezinfekční činidla. Tyto materiály a jejich obaly skladujte a likvidujte v souladu s platnými předpisy a směrnicemi.
- Azid sodný může v potrubí reagovat s olovem a mědí za vzniku příslušných vysoce výbušných azidů. Proto splachujte likvidované reagencie velkým množstvím vody, aby nedocházelo v potrubí k usazování azidu.[11]
- Xi: Dráždivá látka: ProClin 300 < 0,5%.



R 43: Může vyvolat sensibilizaci při styku s kůží.
S 28-37: Při styku s kůží okamžitě omyjte velkým množstvím vody. Používejte vhodné ochranné rukavice.

- Xn: Zdraví škodlivý: < 10% Methanol.



R 20/21/22: Zdraví škodlivý při vdechování, styku s kůží a při požití.
R 68/20/21/22: Zdraví škodlivý : Možné nebezpečí nevratných účinků přivdechování, při styku s kůží a při požití.
S 36/37: Používejte vhodný ochranný oděv a ochranné rukavice.
S 45: V případě nehody, nebo necítíte-li se dobře, okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc (je-li možno, ukažte toto označení).

- Bezpečnostní list (MSDS) je k dispozici na požádání.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

- Pro stanovení je možno použít sérum nebo lithium-heparinovou plazmu.
- Dodržujte následující doporučení pro manipulaci, zpracování a skladování krevních vzorků:[12]
  a.) Při odběru všech vzorků dodržujte obvyklá bezpečnostní opatření týkající se žilního odběru.
  b.) Vzorky krve nechte před centrifugací zcela vysrážet.
  c.) Zkumavky udržujte po celou dobu uzavřené.
  d.) Do dvou hodin od centrifugace přeneste alespoň 500 µL vzorku neobsahujícího buňky do zkumavky, ve které bude vzorek skladován. Okamžitě pečlivě uzavřete.
  e.) Vzorky séra a lithium-heparinovou plazmy mohou být uchovávány při 2–8°C po dobu 48 hodin.
  f.) Pokud stanovení nebude provedeno během 48 hodin, nebo mají-li se vzorky přepravovat, zamražte je při -20°C.
- Při přípravě vzorků dbejte následujících pokynů:
  a.) Ujistěte se, že budou před analýzou odstraněny zbytky fibrinu a buněčného materiálu.
  b.) Při centrifugaci dbejte pokynů výrobce odběrových zkumavek.
- Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní kritéria přijatelnosti pro používané odběrové zkumavky a přípravky pro separaci séra. Tyto výrobky mohou vykazovat variabilitu mezi jednotlivými producenty, jak v čase, tak i mezi jednotlivými šaržemi.
- Vyvarujte se opakovaného zamrazování vzorků.
- Pro analýzu nepoužívejte vzorky lipemické nebo hemolyzované.

POZNÁMKY K POSTUPU

- Pro úspěšné použití soupravy AMH Gen II ELISA je nezbytné důkladně se seznámit s tímto návodem.
- Uživatel je zodpovědný za posouzení vhodnosti soupravy pro zamýšlené použití.
- Spolehlivé výsledky lze získat pouze při uplatnění správných laboratorních postupů a při přesném dodržování návodu.
- Každé stanovení musí zahrnovat kalibrační křivku.
- Reagencie před použitím vytemperujte na laboratorní teplotu (~25°C).
- Pečlivě promíchejte reagencie před použitím jemným obracením.
- Nemíchejte různé šarže žádné ze složek soupravy v rámci jednoho stanovení.
- Nepoužívejte žádnou složku po uplynutí doby exspirace uvedené na jejím štítku.
- Nedostatečné promytí jamek může mít za následek špatnou reprodukovatelnost a nesprávné výsledky.
- Aby se zabránilo driftu způsobnému různě dlouhou inkubací substrátu, je třeba pipetovat STOP roztok do jamek ve stejném pořadí a se stejnou rychlostí jako byl pipetován roztok chromogenu TMB.
- Zabraňte mikrobiální kontaminaci reagencií, zvláště pak konjugátu a tlumivého roztoku.
- Zabraňte kontaminaci roztoku TMB roztoky konjugátů.
- Pro každou reagencii, kalibrátor, kontrolu či vzorek použijte novou výměnnou špičku pipety.
- Pro dávkování kyseliny sírové a roztoku chromogenu TMB použijte pipety bez kovových částí.
- Enzym použitý v soupravě se inaktivuje kyslíkem a je velmi citlivý na mikrobiální kontaminaci, azid sodný, kyselinu chlornou a aromatické chlorované uhlovodíky, které se často vyskytují v laboratorních rozvodech vody.
- Používejte deionizovanou vodu.
- Nevystavujte reagencie při skladování a při inkubaci nadměrnému teplu a přímému slunečnímu světlu.

POSTUP STANOVENÍ

Příprava reagencií

1. ***Promývací roztok:*** Naředte 1 díl promývacího koncentrátu I s 9 díly deionizované vody. Při skladování v pevně utěsněné láhvi je výsledný naředěný promývací roztok stabilní po dobu jednoho měsíce při pokojové teplotě (~25 °C).
2. ***Mikrotitrační jamky:*** Vezměte počet jamek, které budete potřebovat pro analýzu. Zbylé jamky znovu zasuňte do sáčku s vysoušedlem a pečlivě uzavřete. Sáček musí být pečlivě uzavřen, zabraňte přístupu vlhkosti.

Postup

Všechny vzorky a reagencie nechejte před použitím vytemperovat na laboratorní teplotu (~25°C) a pečlivě je jemným obracením před použitím promíchejte. Rekonstituované reagencie pečlivě promíchejte bez napěnění. Kalibrátory, kontrolní vzorky a neznámé vzorky by měly být analyzovány v duplikátech.

POZNÁMKA: Před stanovením by všechny údaje vzorků vyšší než nejvyšší kalibrátor měly být důkladně promíchány a zředěny v roztoku AMH Gen II Sample Diluent. Pro pediatrické vzorky mužů: Před testováním nařeďte 1 díl vzorku 9 díly přípravku Sample Diluent.

1. Před přidáním vzorku na mikrodesku AMH Gen II ELISA musíte připravit všechny kalibrátory, kontroly a testovací vzorky v roztoku **AMH Gen II Assay Buffer** (REF A56021).

   V trubičce vzorku připravte 1 díl každého kalibrátoru, kontrolního nebo testovaného vzorku (včetně ředěných pediatrických vzorků získaných od mužů) a 5 dílů AMH Gen II Assay Buffer (například: 60 µL kalibrátoru, kontrolního vzorku nebo vzorku + 300 µL AMH Gen II Assay Buffer). Pečlivě promíchejte.

   POZNÁMKA:Jedná se o přípravek kalibrátorů AMH, kontrolních a testovaných vzorků s AMH Gen II Assay Buffer. Není nutný žádný faktor ředění.
2. Označte jamky pro analýzu.
3. Do jedné hodiny přeneste pomocí přesné pipety 120 µL předem vytvořené směsi kalibračních roztoků, kontrolních látek a vzorků do vhodných zkumavek.
4. Inkubujte jamky 1 hodinu za třepání (600–800 kmitů/min) při laboratorní teplotě (~25°C).
5. Připravte promývací roztok postupem popsaným v kapitole „Příprava reagencií“ – viz výše.
6. Jamky odsajte a promyjte 5x promývacím roztokem po dobu 30 sekund za použití automatické promývačky destiček, nebo ručně přesným dávkovačem. Pak jamky osušte převrácením na savý papír.

   POZNÁMKA: Doporučuje se používat automatickou promývačku. Nedostatečné promytí jamek může mít za následek špatnou reprodukovatelnost stanovení. Pokud není promývačka mikrotitračních destiček k dispozici, při ručním promytí destičky postupujte takto:
   (a) Pečlivě odsajte kapalinu ze všech jamek
   (b) Přidejte do všech jamek přesným dávkovačem 400 µL promývacího roztoku
   (c) Opět odsajte kapalinu
   (d) Opakujte kroky (b) a (c) čtyřikrát
7. Do všech jamek přidejte přesným dávkovačem 100 µL roztoku konjugátu biotinu a protilátky.
8. Inkubujte jamky 1 hodinu za třepání (600–800 kmitů/min) při laboratorní teplotě (~25°C).
9. Jamky odsajte a promyjte 5x promývacím roztokem po dobu 30 sekund za použití automatické promývačky destiček, nebo ručně přesným dávkovačem. Pak jamky osušte převrácením na savý papír.
10. Do všech jamek přidejte přesným dávkovačem 100 µL konjugátu streptavidinu s enzymem.
11. Inkubujte jamky 30 minut za třepání (600–800 kmitů/min) při laboratorní teplotě (~25°C).
12. Jamky odsajte a promyjte 5x promývacím roztokem za použití automatické promývačky destiček, nebo ručně přesným dávkovačem.
13. Do všech jamek přidejte přesným dávkovačem 100 µL roztoku chromogenu TMB.

    Chraňte před přímým slunečním světlem.
14. Inkubujte jamky 8–12 minut za třepání (600–800 kmitů/min) při laboratorní teplotě (~25°C).

    POZNÁMKA: Mějte na zřeteli, že se zabarvení může vyvíjet rychleji nebo pomaleji než je doporučená inkubační doba, v závislosti na aktuální teplotě přostredí. Vizuálně monitorujte vývoj barvy, abyste optimalizovali inkubační dobu.

15. Do všech jamek přidejte přesným dávkovačem 100 µL STOP roztoku.
16. Do 30 minut po napipetování měřte absorbanci roztoku v jamkách při 450 nm.

POZNÁMKA: 1) Při měření absorbance je nutné použít hodnotu nulového kalibrátoru jako „Blank“.

2) Je-li možno měřit při dvou vlnových délkách, měřte při 450 nm a pozadí odečítejte při hodnotě mezi 600 a 630 nm.

VÝSLEDKY

1. Pro každý kalibrátor, kontrolní vzorek a neznámý vzorek vypočtěte průměr z duplikátů příslušných absorbancí.
2. V log-log zobrazení vyneste na osu y hodnotu průměru absorbancí a na osu x koncentrace kalibrátorů AMH v ng/mL. Použijte proložení pomocí kubické regrese. Jiné metody zpracování mohou dávat mírně rozdílné výsledky.
3. Z kalibrační křivky odečtěte koncentraci AMH pro každý kontrolní a neznámý vzorek na základě průměrů abosrbance příslušných duplikátů.
4. Každý vzorek, jehož hodnota převyšuje hodnotu nejvyššího kalibrátoru, je třeba v příslušném poměru zředit roztokem na ředění vzorků a analyzovat znovu. Před testováním nařeďte 1 díl vzorku s 9 díly roztoku na ředění vzorků.
5. Výsledky všech vzorků s odečtenou hodnotou nižší než hodnota nejnižšího kalibrátoru by měly být ve výsledcích uvedeny jako „< koncentrace kalibrátoru 1“.
6. Vynásobte nalezenou hodnotu faktorem ředění, je-li třeba.

POZNÁMKA: Přesahují-li odečtené hodnoty absorbance limit přístroje, opakujte měření při 405 nm (je-li možno, použijte též referenční filtr v rozmezí hodnot 600 a 630 nm). V tomto případě sestrojte druhou kalibrační křivku, založenou na datech naměřených při 405 nm, stejným způsobem, jak je popsáno výše. Koncentrace vzorků, jejichž hodnoty absorbance převyšovaly rozsah přístroje při 450 nm se nyní odečtou z nové kalibrační křivky (405 nm). Hodnoty absorbance vzorků, které ležely v rozsahu přístroje (pro 450 nm) již neodečítejte znovu v nové křivce (pro 405 nm).

OMEZENÍ

- Reagencie dodané v této soupravě jsou optimalizovány pro měření hladin AMH ve vzorcích séra a lithium-heparinované plazmy.
- U stanovení využívajících protilátky existuje možnost interference heterofilních protilátek přítomných v pacientském vzorku. Pacienti, kteří byli pravidelně ve styku se zvířaty nebo podstoupili imunoterapii nebo diagnostické procedury využívající imunoglobuliny nebo fragmenty imunoglobulinů, mohou produkovat protilátky jako například HAMA (Human Anti-Mouse Antibodies - lidské protilátky proti myším proteinům), které interferují při imunologických stanoveních. Ve vzorcích mohou být také přítomny další heterofilní protilátky, jako např. lidské protilátky proti kozím proteinům.[13,14]
- Pokud se v reagenciích objeví známky mikrobiální kontaminace nebo nadměrný zákal, obsah lahvičky zlikvidujte.

KONTROLA KVALITY

- Pro zajištění správnosti stanovení by si měla každá laboratoř stanovit své vlastní střední hodnoty a meze přijatelnosti.
- Nalezené koncentrace kontrolních vzorků soupravy AMH Gen II ELISA nebo jiných komerčně dostupných kontrolních vzorků by měly ležet ve stanovených koncentračních rozmezích.
- Intervaly spolehlivosti pro kontroly AMH Gen II ELISA jsou uvedeny v soupravě AMH Gen II Calibrator and Control.
- Každé stanovení by mělo zahrnovat celou kalibrační křivku a 2 kontrolní vzorky - o nízké koncentraci a o vysoké koncentraci.
- Roztok chromogenu TMB by měl být bezbarvý až velmi lehce žlutý. Modré zbarvení roztoku TMB signalizuje kontaminaci nebo nestabilitu reagencie.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

1. Každá laboratoř by si měla stanovit svá vlastní referenční rozmezí hodnot, představujících danou populaci.

VZORKY	MEDIÁN VĚK (roky)	MEDIÁN (ng/mL)	2,5.–97,5. PERCENTIL (ng/mL)
Muži – náhodný výběr (N=136)	38	5,7	1,3-14,8
Ženy – náhodný výběr (N=95)	30	2,4	ND-12,6
Muži – centrum reprodukce (N=100)	37	5,3	0,8-14,6
Ženy – 3. den cyklu (N=106)	-	1,5	ND-10,6
Ženy po menopauze (N=45)†	71	ND	ND
Chlapci (N=36)†	4,8	56,3	3,8-159,8
Dívky (N=36)†	5,0	1,3	ND-8,9

†*Neparametrické rozmezí na hladině spolehlivosti 90%.*
ND = Non-Detectable (Neměřitelné)

PŘÍKLAD KALIBRAČNÍ KŘIVKY

JAMKA	OBSAH JAMKA	PRŮMĚR ABSORBANCE	KONCENTRACE (ng/mL)
	KALIBRÁTOR		
A1, A2	A	(Blank)	0
B1, B2	B	0,019	0,16
C1, C2	C	0,053	0,4
D1, D2	D	0,17	1,2
E1, E2	E	0,57	4,0
F1, F2	F	1,47	10,0
G1, G2	G	3,11	22,5

POZOR: Výše uvedená data nesmí být použita jako náhrada dat, získaných v laboratoři uživatele.

PARAMETRY STANOVENÍ

Všechny analytické parametry jsou uvedeny v ng/mL. Převod jednotek SI (Mezinárodní soustava jednotek):

1 ng/mL = 7,14 pM

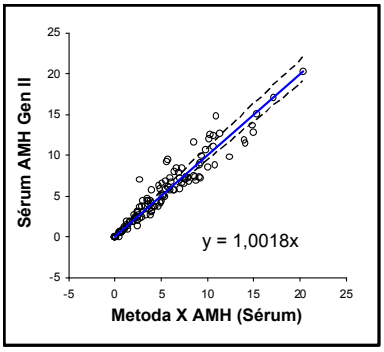
Porovnání metod

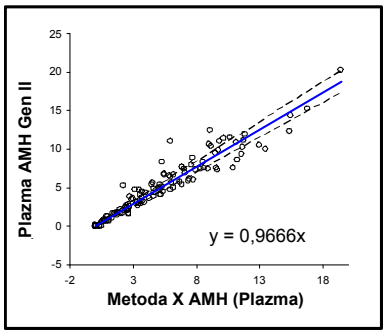
Souprava AMH Gen II ELISA byla porovnána s jinou komerčně dostupnou metodou na stanovení AMH (Metoda X). Bylo analyzováno 119 vzorků séra a lithium-heparinové plazmy získaných od mužů a žen ve věku 20–50 let. Získané výsledky byly porovnány lineární regresí:

Regrese:

A. Sérum AMH = 1,0 (Metoda X)
(r=0,98; 97,5% CI=0,95-0,98, P<0,0001)

B. Plazma AMH = 0,967 (Metoda X)
(r=0,98; 97,5% CI=0,95-0,98, P<0,0001)





Test ředění (Linearita)

Čtyři vzorky o různé koncentraci AMH byly ředěny roztokem na ředění vzorků AMH Gen II a analyzovány s těmito výsledky.[16]

VZOREK	ŘEDÍCÍ FAKTOR (1:X)	OČEKÁVANÁ HODNOTA (ng/mL)	NALEZENÁ HODNOTA (ng/mL)	% RECOVERY
1	Neředěný	4,94	N/A	N/A
	2	2,47	2,66	108
	4	1,24	1,37	110
	8	0,62	0,63	102
	16	0,31	0,26	84
2	Neředěný	6,47	N/A	N/A
	2	3,24	3,46	107
	4	1,62	1,77	109
	8	0,81	0,88	109
	16	0,41	0,37	90
3	Neředěný	10,34	N/A	N/A
	2	5,17	5,23	101
	4	2,58	2,59	100
	8	1,29	1,34	104
	16	0,65	0,59	91
4	Neředěný	12,86	N/A	N/A
	2	6,43	6,36	99
	4	3,22	3,11	97
	8	1,61	1,58	98
	16	0,80	0,68	85

Recovery test

Ke čtyřem pacientským vzorkům s nízkou koncentrací AMH bylo přidáno po třech vzorcích s různou koncentrací AMH. Výsledky analýzy jsou shrnuty v následující tabulce:

VZOREK	ENDOGENNÍ KONC. (ng/mL)	OČEKÁVANÁ KONC. (ng/mL)	NALEZENÁ KONC. (ng/mL)	% RECOVERY
1	0,67	1,97	1,96	99
		3,16	3,20	101
		4,24	4,45	105
2	1,16	2,44	2,53	104
		3,60	3,81	106
		4,66	5,01	107
3	2,21	3,44	3,86	112
		4,55	4,48	98
		5,57	5,69	102
4	1,47	2,73	2,77	101
		3,88	3,87	100
		4,93	5,07	103

Přesnost:

Reprodukovatelnost stanovení soupravy AMH Gen II byla stanovena s použitím dvou směsných vzorků séra (Q1, Q2) a dvou kontrolních vzorků, obsažených v soupravě (C1, C2). Při měření bylo provedeno 40 stanovení ve kterých byl každý vzorek stanoven čtyřikrát a byly použity dvě různé šarže soupravy.[15]

VZOREK	PRŮMĚRNÁ KONC.	INTRA-ASSAY	INTER-ASSAY	CELKOVÁ REPRODUKOVATELNOST
	(ng/mL)	V.K. (%)	V.K. (%)	V.K. (%)
Q1	4,42	5,4	5,6	7,7
Q2	14,03	3,6	4,5	5,8
C1	3,82	3,7	4,4	5,7
C2	16,45	3,4	4,0	5,3

Specificita

Stanovení je založeno na protilátkách, které se váží k určité oblasti na zralé molekule AMH, která je odolnější vůči proteolýze, než oblast přítomná pouze v pro-hormonu. Tento vysoce specifický pár monoklonálních protilátek váže pouze AMH a nevykazuje žádné zkřížené reakce s inhibinem A, aktivinem A, FSH a LH ani při dvojnásobku jejich fyziologických koncentrací.

Interference

Potenciálně interferující látky (hemoglobin, triglyceridy a bilirubin), byly do vzorku přidány ve dvojnásobku fyziologické koncentrace. Nalezené koncentrace AMH se pohybovaly v rozsahu ±10% vzhledem ke kontrolnímu vzorku bez přídavku potenciálně interferujících látek.[17]

INTERFERUJÍCÍ LÁTKA	KONC. ANALYTU	AMH V KONTR. VZORKU (ng/mL)	AMH VE VZORKU S PŘÍDAVKEM (ng/mL)	% ROZDÍL OPROTI KONTR. VZORKU
HEMOGLOBIN	2 mg/mL	2,85	2,96	3,9
TRIGLYCERIDY	20 mg/mL	2,48	2,31	-6,9
BILIRUBIN	0,6 mg/mL	2,5	2,51	0,4

Detekční limit:

Nejnižší koncentrace AMH ve vzorku, kterou lze stanovit s 95% pravděpodobností, je 0,08 ng/mL. Hodnota byla stanovena z analýz, prováděných po 10 dní, denně dvě analýzy s použitím celé sedmibodové kalibrační křivky, kontrolních vzorků a sedmi sérových vzorků s koncentrací AMH od nuly do 1,5 ng/mL v duplikátech.[18]

Funkční citlivost:

Minimální množství koncentrace analytu, kterou lze stanovit s přesností 20%, je 0,16 ng/mL. Hodnota byla určena z dvaceti analýz, prováděných po dobu 10 dnů. V každé analýze bylo v duplikátech stanoveno: sedmibodová kalibrační křivka, kontrolní vzorky a osm lidských sérových vzorků, vše v duplikátech. Koncentrace alespoň dvou sérových vzorků byly nižší, než medián normálních hodnot a nejméně tří vzorků byly vyšší, než medián normálních hodnot.[18]

LITERATURA

1 Picard JY, Josso N. 1984. Purification of testicular anti-Müllerian hormone allowing direct visualization of the pure glycoprotein and determination of yield and purification factor. Mol Cell Endocrinol 34: 23-29.

2 Teixeira J, Maheswaran S, Donahoe PK. 2001. Müllerian inhibiting substance: an instructive developmental hormone with diagnostic and possible therapeutic applications. Endocrine Reviews 22: 657-674.

3 Picard JY, Benarous R, Guerrier D, Josso N, Kahn A. 1986. Cloning and expression of cDNA for anti-Müllerian hormone. Proc Natl Acad Sci 83: 5464-5468.

4 di Clemente N, Wilson C, Faure E, Boussin L, Carmillo P, Tizard R, Picard JY, Vigier B, Josso N, Cate R. 1994. Cloning, expression, and alternative splicing of the receptor for anti-Müllerian hormone. Mol Endocrinol 8: 1006-1020.

5 Baarends WM, Uilenbroek JT, Kramer P, Hoogerbrugge JW, van Leeuwen EC, Themmen AP, Grootegoed JA. 1995. Anti-Müllerian hormone and anti-müllerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle growth. Endocrinology 136:4951-4962.

6 Durlinger AL, Kramer P, Karels B, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, Themmen AP. 1999. Control of primordial follicle recruitment by anti-Müllerian hormone in the mouse ovary. Endocrinology140:5789-5796.

7 Picon R. 1969. [Action of the fetal testis on the development in vitro of the Müllerian ducts in the rat][Article in French]. Arch Anat Microsc Morphol Exp 58: 1-19.
8 Gruijters MJ, Visser JA, Durlinger AL, Themmen AP. 2003. Anti-Müllerian hormone and its role in ovarian function. Mol Cell Endocrinol 211: 85-90.
9 Clinical Laboratory Safety; Approved Guideline Second Edition, GP-17A2. 2004. Clinical and Laboratory Standards Institute.
10 HHS Publication, 5th ed., December 2009. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Available http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5/index.htm
11 DHHS (NIOSH) Publication No. 78–127, August 1976. Current Intelligence Bulletin 13 - Explosive Azide Hazard. Available http://www.cdc.gov/niosh.
12 Approved Guideline – Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18-A3. 2004. Clinical and Laboratory Standards Institute.
13 Kricka L. 2000. Interferences in immunoassays – still a threat. Clin Chem 46: 1037–1038.
14 Bjerner J, Nustad K, Norum LF, Olsen KH, Børmer OP. 2002. Immunometric assay interference: incidence and prevention. Clin Chem 48: 613–621.
15 Approved Guideline – Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices, EP5-A. 1999, National Committee for Clinical Laboratory Standards.
16 Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. EP6-A. 2003. Clinical and Laboratory Standards Institute.
17 Interference Testing in Clinical Chemistry: Approved Guideline - Second Edition. EP7-A2. 2005. Clinical and Laboratory Standards Institute.
18 Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. EP17-A. Clinical and Laboratory Standards Institute.

*ProClin je registrovaná ochranná známka společnosti Rohm and Haas Company nebo jejich poboček a dceřinných společnosti.

Výrobce:
Beckman Coulter, Inc.
250 S. Kraemer Blvd.
Brea, CA 92821 U.S.A.

EC REP

Beckman Coulter Ireland Inc.
Mervue Business Park,
Mervue, Galway,
Ireland 353 91 774068

Vyrobeno v USA
Revidováno v červnu 2013

Translated IFUs are available at www.beckman.com or from your Beckman Coulter sales representative.

Les traductions des modes d'emploi sont disponibles à l'adresse www.beckmancoulter.com ou auprès de votre représentant commercial de Beckman Coulter.

Las Instrucciones de uso traducidas pueden obtenerse en www.beckmancoulter.com o a través de su representante de ventas de Beckman Coulter.

Le IFU tradotte sono disponibili all'indirizzo www.beckmancoulter.com o presso il rappresentante delle vendite Beckman Coulter.

Übersetzungen der Gebrauchsanweisungen (IFUs) erhalten Sie über www.beckmancoulter.com oder von Ihrem Beckman Coulter-Vertriebsmitarbeiter.

As IFUs traduzidas estão disponíveis em www.beckmancoulter.com, ou num representante de vendas da Beckman Coulter.

Översatta bruksanvisningar finns att få på www.beckmancoulter.com och hos din Beckman Coulter säljrepresentant.

Du kan få IFU'er på www.beckmancoulter.com eller hos din Beckman Coulter-salgsrepræsentant.

Οι μεταφρασμένες Οδηγίες χρήσης (IFU) διατίθενται στον ιστότοπο www.beckmancoulter.com ή από τον αντιπρόσωπο πωλήσεων Beckman Coulter σας.

Přeložené návody k použití jsou k dispozici na webových stránkách www.beckmancoulter.com nebo u místního zástupce společnosti Beckman Coulter.

A magyar nyelvű használati útmutatók a www.beckmancoulter.com címen, valamint a Beckman Coulter értékesítőknél érhetők el.

Tercüme edilen IFU'lar www.beckmancoulter.com adresinden veya Beckman Coulter satış temsilcinizden alınabilir.

Переведенные инструкции по применению можно найти на веб-сайте www.beckmancoulter.com или получить от местного представителя компании Beckman Coulter.

Oversatte bruksanvisninger finnes på www.beckmancoulter.com eller fra din Beckman Coulter-salgsrepresentant.

Preložený návod na použitie je k dispozícii na webovej stránke www.beckmancoulter.com alebo ho môžete získať od svojho zástupcu spoločnosti Beckman Coulter.