

## 抗缪勒氏管激素测定试剂盒（酶联免疫吸附法）说明书

### 【产品名称】

通用名称：抗缪勒氏管激素测定试剂盒（酶联免疫吸附法）

英文名称：Anti-Mullerian hormone Determination Kit (ELISA)

### 【包装规格】

48 人份/盒；96 人份/盒；

### 【预期用途】

用于体外定量测定女性血清中抗缪勒氏管激素（AMH）的浓度。

抗缪勒氏管激素（anti-Mullerian hormone, AMH）是转化生长因子 $\beta$ （TGF- $\beta$ ）超家族的成员之一，由两个相同的 70 kb 亚基通过二硫键连接组成的二聚糖蛋白，相对分子质量为 140 000<sup>[1]</sup>。血清中 AMH 浓度相对稳定，不受月经周期和激素药物水平的影响，因此具有极好的灵敏度和特异性，可更早反映卵巢储备功能的改变，因而是评估卵巢储备功能的有效检测指标<sup>[2]</sup>，AMH 是由卵巢中生长卵泡的颗粒层细胞所分泌的一种荷尔蒙，能够调控整个生命周期的卵泡活性<sup>[2]</sup>。对女性来说，当胎龄达到 36 周的时候，卵巢颗粒细胞就开始分泌 AMH，持续到出生后，并维持在一个极低的水平，在性成熟前逐渐增高<sup>[3]</sup>，通常在青春期后血清中 AMH 浓度会达到高峰，在整个生育年龄都会维持高水平状态，之后随着年龄及各种因素 AMH 浓度会逐渐降低，直到绝经后无法测出。AMH 浓度越高，说明卵子的库存量越大，生育能力越强。当 AMH 浓度降低时，提示卵巢老化，女性生育力衰退。

### 【检验原理】

本试剂盒采用三步双抗体夹心法测定样本中 AMH 的浓度，微孔板包被 AMH 单克隆抗体，与被分析物中的 AMH 抗原结合，生物素标记的抗 AMH 抗体与抗原的其他位点结合，链霉亲和素标记的辣根过氧化物酶（SA-HRP）并进行孵育，最终形成“三明治”的抗体-抗原-抗体-生物素-SA-HRP 结构。HRP 催化底物四甲基联苯胺（TMB）转化成蓝色的物质，终止后呈黄色，在波长 450nm 处有吸收峰，颜色的深浅与样品中 AMH 抗原的浓度相关。通过酶标仪检测校准品和样本吸光度（OD 值），根据 OD 值和校准曲线计算出 AMH 的浓度值。

### 【主要组成成分】

组成	规格		主要组成成分
	48 人份/盒	96 人份/盒	
AMH 反应板	1 块（48 孔）	1 块（96 孔）	包被抗 AMH 鼠源性单克隆抗体的抗缪勒氏管激素（AMH）反应板
AMH 样本缓冲液	6ml/瓶 × 1	12ml/瓶 × 1	10mM 磷酸盐缓冲液（pH7.4）
AMH 反应缓冲液	6ml/瓶 × 1	12ml/瓶 × 1	10mM 磷酸盐缓冲液（pH7.4）

抗 AMH 抗体-生物素结合物	6ml/瓶 × 1	12ml/瓶 × 1	生物素标记的抗 AMH 鼠源性单克隆抗体
AMH 链霉亲和素-酶结合物 100x	60 $\mu$ l/瓶 × 1	120 $\mu$ l/瓶 × 1	链霉亲和素标记的辣根过氧化物酶
底物 A	3ml/瓶 × 1	6ml/瓶 × 1	0.1M 柠檬酸盐缓冲液
底物 B	3ml/瓶 × 1	6ml/瓶 × 1	20mg/ml 四甲基联苯胺
浓缩洗液 20 $\times$	15ml/瓶 × 1	25ml/瓶 × 1	20mM 磷酸盐缓冲液（pH7.4）
终止液	5ml/瓶 × 1	10ml/瓶 × 1	1M 硫酸
校准品 A~F（冻干粉）	1 套（6 瓶）	1 套（6 瓶）	AMH 抗原、20mM 磷酸盐缓冲液（pH7.4）、（理论浓度分别为：0, 0.625, 2.5, 5, 10, 20ng/ml）
质控品 C1、C2（冻干粉）	1 套（2 瓶）	1 套（2 瓶）	AMH 抗原、20mM 磷酸盐缓冲液（pH7.4）、（理论浓度 C1=2ng/ml, C2=13.5ng/ml）
盖膜	1 张	2 张	白色不干胶纸

注：校准品具有批特异性，每批靶值详见试剂盒中瓶签；质控品质控范围靶值批特异详见试剂盒中‘靶值单’。

不同批号试剂盒中各组份不可以互换使用。

试剂盒的校准品溯源至企业工作校准品，企业工作校准品与已上市同品种试剂盒比对赋值。

### 【储存条件及有效期】

2 $^{\circ}$ C~8 $^{\circ}$ C 保存，有效期 12 个月。

校准品及质控品开瓶复溶后，在 2 $^{\circ}$ C~8 $^{\circ}$ C 保存，可以稳定 3 天

生产日期及失效日期见标签。

### 【适用仪器】

本试剂盒需要用酶标仪进行检测，适用于具备 450nm 波长的酶标仪。

### 【样本要求】

血清：采用常规静脉采血方式分离血清。建议血清分离后置 10 $^{\circ}$ C~30 $^{\circ}$ C 应在 8 小时内进行检测。如果不能及时检测，样本可置于 2 $^{\circ}$ C~8 $^{\circ}$ C 冷藏保存 48 小时；超过 48 小时应置于 -20 $^{\circ}$ C 冷冻保存 3 个月，样本只能冻融一次，不可反复冻融。

注意：应避免使用高血脂、黄疸的样本进行检测。

### 【检验方法】

#### 1、试验步骤

1. 将试剂盒取出放在（10 $^{\circ}$ C~30 $^{\circ}$ C）平衡，时间不少于 15 分钟；

2. 浓缩洗液 20×用纯化水 20 倍稀释备用；
3. 将校准品、质控品冻干粉每瓶加入 0.4ml 的纯化水，轻轻震荡混匀 5 分钟；
4. 在包被板上每孔中加入 100μl 的 AMH 校准品，25μl 质控品或待测样本，质控或待测样本孔中再加入 75 μl 样本缓冲液，盖膜后室温 800~900rpm/min 振荡反应 60 分钟；
5. 弃去包被板中的液体混合物，在吸水纸上拍干，每孔加 400μl 洗液洗板 4 次，洗完后再在吸水纸上拍干；
6. 每孔加抗 AMH 抗体生物素结合物 100μl，盖膜后室温 800~900rpm/min 振荡 30 分钟；
7. 弃去包被板中的液体混合物，在吸水纸上拍干，每孔加 400μl 洗液洗板 4 次，洗完后再在吸水纸上拍干；
8. 每孔加链霉亲和素-酶结合物 100μl，盖膜后室温 800~900rpm/min 振荡 30 分钟（AMH 链霉亲和素-酶结合物（100x）提前 15 分钟用 AMH 反应缓冲液 100 倍稀释，避光待用）；
9. 弃去包被板中的液体混合物，在吸水纸上拍干，每孔加 400μl 洗液洗板 4 次，洗完后再在吸水纸上拍干；
10. 每孔加底物混合液 100μl（底物 A 和底物 B 使用前 10~30 分钟等体积混合在一起，避光待用），盖膜后室温 800~900rpm/min 振荡 6 分钟；
11. 每孔加终止液 100μl 混匀，终止反应；在 15 分钟内读取 OD 值，酶标仪检测波长为 450nm。

## 2、校准

1. 校准品的准备和使用见试验步骤 3、4。
2. 校准曲线的绘制方法

以本试剂盒校准品各点的浓度为横轴（X 轴）、校准品各点的荧光值为纵轴（Y 轴）绘制校准曲线。

## 3、质量控制

1. 每次定量检测实验，都必须包括本试剂盒提供低浓度和高浓度的质控品和完整的校准品，并制作校准曲线。
2. AMH 高、低浓度的质控品测定结果均应在允许范围内；AMH 校准品检测，按浓度-反应曲线四参数拟合分析，相关系数（r）不低于 0.9900。若不满足，需查找原因，如实验操作的规范性、仪器、试剂盒、质控品的状态或 参数设置等。

## 4、试验结果计算

1. 通过酶标仪自带统计软件，按照 Logistic 四参数计算方法设置，仪器会根据校准曲线自动计算每个样本中的分析物浓度。
2. 也可以通过 ELISA 相关数学拟合软件中的 Logistic 四参数方法进行拟合，将质控或待测样本 OD 值代入校准曲线，计算质控或待测样品浓度值。

## 【参考区间】

以本试剂盒对 537 例适当临床样本进行研究分析，由于被分析物浓度在研究水平上呈现较为规则的正态分布，取双侧 95%测定值作为本次参考区间的低限及高限定值。研究结果见下表：

参考年龄分组	参考区间 (ng/mL)
女性：20-40 周岁	0.24~11.78
女性：41-50 周岁	<1.22
女性：>51 周岁	<0.36

建议每个实验室应考虑参考区间的适用性，自行确定本实验室的参考区间。

## 【检验结果的解释】

1. 质控品的检测结果必须在质控范围之内，否则实验结果不符合可接受范围，视为无效，需重复进行试验。
2. 若检测计算浓度低于 0.05ng/mL，不能说明样本中 AMH 含量一定低于本试剂的有效检测下限，不排除样本中存在高水平的干扰物质，如黄疸、高血脂样本等。该情况应结合样本状况及患者的病史、症状等做出正确判断。
3. 本试剂对女性血清样本的检测结果仅供临床作为参考，不能成为病例或排除病例的依据。

## 【检验方法的局限性】

1. 本试剂盒的检测结果仅供临床参考，检测女性血清中 AMH 的浓度，不能单独作为确认或排除病例的依据，此检测结果需与临床检查、病史和其它检测手段结合使用。
2. 检测样本的浓度超出线性上限时，其定量检测结果偏差大，需要对样本一定比例稀释后重新检测，检测结果应在线性范围内。
3. 干扰因素：检测结果不受黄疸（胆红素≤20mg/ml）、高血脂（胆固醇≤20mg/ml 或甘油三酯≤40mg/ml）的显著影响，当样本中胆红素、胆固醇浓度高于 20mg/ml、甘油三酯高于 40mg/ml 会导致结果假阴性。

## 【产品性能指标】

### 1. 外观

- 1) 试剂盒各组分齐全、完整，内外包装均应完整，标识清晰。
- 2) 液体试剂无渗漏，冻干组分呈疏松体，复溶后液体均匀（无肉眼可见颗粒、无沉淀）

### 2. 质控品赋值有效性

分别取高、低两个浓度质控品，检测其浓度值，每个测试值均应在所示的质控范围内。

### 3. 准确度

回收率为 85%~115%。

#### 4. 空白限

不高于 0.04ng/ml

#### 5. 线性

试剂盒的线性范围为[0.05, 18]ng/ml, 相关系数 r 不小于 0.9900。

#### 6. 重复性

用高、低 2 个浓度水平的样本各重复检测 10 次, 其变异系数 (CV) 不大于 13%。

#### 7. 瓶内均一性

用同一批次的 1 套校准品和质控品作为样本重复检测 10 次, 除校准品 A 外各点测值变异系数 (CV) 不大于 13%, 校准品 A 吸光度值变异系数 (CV) 不大于 13%。

#### 8. 批内瓶间差

用同一批次的 10 套校准品和质控品作为样本检测, 除校准品 A 外各点测值变异系数 (CV) 不大于 13%, 校准品 A 吸光度值变异系数 (CV) 不大于 13%。

#### 9. 批间差

用 3 个批号试剂盒检测同一份样本, 变异系数 (CV) 不大于 15%。

#### 10. 特异性

浓度为促卵泡激素 (FSH) 200ng/mL、促黄体生成素 (LH) 200ng/mL 的作为样本进行特异性反应, 交叉反应率应小于 5%。

#### 【注意事项】

1. 仅用于体外诊断。一次性使用产品, 供专业人员使用。
2. 按照检测程序加样, 不可颠倒顺序, 否则会导致试验失败。
3. 避免直接接触终止液(1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 以免皮肤腐蚀和烧伤。
4. 操作人员应标注清楚样本号, 以免混淆。
5. 样本制备或保存应严格按照【样本要求】项执行, 操作不当, 会导致分析结果有误。
6. 自备实验材料: 酶标仪、纯化水、移液器、吸头、吸水纸、一次性手套等。
7. 试剂盒内各试剂组分均不具有生物学危害性, 但仍应被视为有潜在的生物危害而加以防护。
8. 不同批号的试剂不可混用; 超出有效期的试剂不可使用。

#### 【标识的解释】



体外诊断医疗器械



避免日晒



避免雨淋



参考使用说明

#### 【参考文献】

- [1]. 黄丽娟, 徐晓凤等. 抗缪勒氏管激素与性激素水平在卵巢储备功能评估中的应用 [J] 实用临床医药杂志 2018, Vol. 22, No. 24, 55-57
- [2]. 顾媚, 侯晓曼. 抗缪勒氏管激素和血清抑制素 B 联合评估卵巢储备功能 [J] 中国妇幼保健 2017, Vol. 32, No. 18, 4489-4491
- [3]. 李雪梅, 牡丹丽. 抗缪勒氏管激素在评估卵巢储备功能中的应用 [J] 蚌埠医学院学报 2018, Vol.43, No.11, 1418-1420

#### 【基本信息】

注册人/生产企业名称: 北京协和洛克生物技术有限责任公司

住所: 北京市北京经济技术开发区科创十四街 11 号院 2 号楼 217 室

联系方式: 010-51295656-8006

售后服务单位名称: 北京协和洛克生物技术有限责任公司

联系方式: 010-51295656-8076

生产地址: 北京市北京经济技术开发区科创十四街 11 号院 2 号楼 3~4 层、5 层北侧及 536 室、4 号楼 404 室

邮政编码: 100176

销售热线: 010-51295656-8076

E-mail: unionluck@163.com, unionluck@unionluck.com

网 址: www.unionluck.com

生产许可证编号: 京食药监械生产许 20040085 号

#### 【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

器械注册 20202400033

#### 【说明书核准及修改日期】

2020 年 02 月 03 日