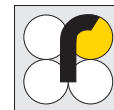




Ферментный анализ

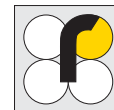


Сравнение тестов для определения Мочевины/Аммиака Roche и Enzytec™ Liquid

Art. No. E8395

Обзор

	Roche	Enzytec™ Liquid																																										
Артикул	10 542 946 035	E8395 (Мочевина/Аммиак) и E8390 (Аммиак)																																										
Количество тестов	25 тестов на каждый аналит	50 тестов на каждый аналит																																										
Принцип метода	<ul style="list-style-type: none"> Анализ 1 = Общее количество мочевины и аммиака с использованием уреазы и глутаматдегидрогеназы (GLDH). НАДН измеряют при 340 нм: $\text{Мочевина} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{уреаза}} 2\text{NH}_3 + \text{CO}_2$ $\text{NH}_4 + 2\text{-оксоглутарат} + \text{НАДН} \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{L-Глутамат} + \text{НАД}^+ + \text{H}_2\text{O}$ Анализ 2 = Для определения аммиака используется только глутаматдегидрогеназы (GLDH): $\text{NH}_4 + 2\text{-оксоглутарат} + \text{НАДН} \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{L-Глутамат} + \text{НАД}^+ + \text{H}_2\text{O}$ Концентрацию мочевины получают вычислением разницы: Мочевина = Анализ 1 (Мочевина/Аммиак) минус ΔА Анализ 2 (Аммиак) 																																											
Вычисление результатов	Метод представляет собой конечную реакцию, результаты которой рассчитываются по формуле Ламберта-Бера (таблица Excel доступна по запросу).																																											
Регистрация	Этот метод зарегистрирован в § 64 (Германия) и МЕВАК.																																											
Реагенты	<ul style="list-style-type: none"> Флакон 1 = Буфер, Оксоглутарат (раствор) Флакон 2 = НАДН (таблетки) Флакон 3 = Уреаза (раствор) Флакон 4 = GLDH (раствор) 	<ul style="list-style-type: none"> R1 = Буфер, НАДН R2 = Глутарат, GLDH для обоих наборов + уреазы только для E8395 																																										
Стабильность после вскрытия	Смесь 1 + 2 готовится ежедневно	Все реагенты жидкие, готовые к использованию и стабильные после вскрытия.																																										
Контрольные образцы	В эти наборы не входит контроль качества, поэтому R-Biopharm рекомендует использовать: <ul style="list-style-type: none"> Для мочевины: Thermo Fisher Urea Standard 984388 или Merck U5128 (от Sigma). Для аммиака: Sigma TraceCERT® NH₄⁺ (# 59755) 																																											
Процедура анализа	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Шаги</th> <th>Мочевина/Аммиак (анализ 1)</th> <th>Аммиак (анализ 2)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Флакон 1 + 2</td> <td>1.000 мл</td> <td>1.000 мл</td> </tr> <tr> <td>Образец (или H₂O)</td> <td>0.100 мл</td> <td>0.100 мл</td> </tr> <tr> <td>Флакон 3 (уреаза)</td> <td>0.020 мл</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>Вода</td> <td>1.900 мл</td> <td>1.920 мл</td> </tr> <tr> <td colspan="3">Инкуб. 5 мин, измерить A₁</td> </tr> <tr> <td>Флакон 4</td> <td>0.020 мл</td> <td>0.020 мл</td> </tr> <tr> <td colspan="3">Инкуб. 20 мин, измерить A₂</td> </tr> </tbody> </table>	Шаги	Мочевина/Аммиак (анализ 1)	Аммиак (анализ 2)	Флакон 1 + 2	1.000 мл	1.000 мл	Образец (или H ₂ O)	0.100 мл	0.100 мл	Флакон 3 (уреаза)	0.020 мл	—	Вода	1.900 мл	1.920 мл	Инкуб. 5 мин, измерить A ₁			Флакон 4	0.020 мл	0.020 мл	Инкуб. 20 мин, измерить A ₂			<table border="1"> <thead> <tr> <th>Шаги</th> <th>E8395 (анализ 1)</th> <th>E8390 (анализ 2)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>R1</td> <td>2.000 мл</td> <td>2.000 мл</td> </tr> <tr> <td>Образец (или H₂O)</td> <td>0.100 мл</td> <td>0.100 мл</td> </tr> <tr> <td colspan="3">Инкуб. 3 мин, измерить A₁</td> </tr> <tr> <td>R2</td> <td>0.500 mL</td> <td>0.500 mL</td> </tr> <tr> <td colspan="3">Инкуб. 20 мин, измерить A₂</td> </tr> </tbody> </table>	Шаги	E8395 (анализ 1)	E8390 (анализ 2)	R1	2.000 мл	2.000 мл	Образец (или H ₂ O)	0.100 мл	0.100 мл	Инкуб. 3 мин, измерить A ₁			R2	0.500 mL	0.500 mL	Инкуб. 20 мин, измерить A ₂		
Шаги	Мочевина/Аммиак (анализ 1)	Аммиак (анализ 2)																																										
Флакон 1 + 2	1.000 мл	1.000 мл																																										
Образец (или H ₂ O)	0.100 мл	0.100 мл																																										
Флакон 3 (уреаза)	0.020 мл	—																																										
Вода	1.900 мл	1.920 мл																																										
Инкуб. 5 мин, измерить A ₁																																												
Флакон 4	0.020 мл	0.020 мл																																										
Инкуб. 20 мин, измерить A ₂																																												
Шаги	E8395 (анализ 1)	E8390 (анализ 2)																																										
R1	2.000 мл	2.000 мл																																										
Образец (или H ₂ O)	0.100 мл	0.100 мл																																										
Инкуб. 3 мин, измерить A ₁																																												
R2	0.500 mL	0.500 mL																																										
Инкуб. 20 мин, измерить A ₂																																												
Линейность	→ 140 мг/л (образец = 0.100 мл)	→ 190 мг/л (образец = 0.100 мл)																																										
Вычисления по Ламберту-Беру:	<ul style="list-style-type: none"> LoD (v = 2 мл, ΔA = 0.020) LoQ (v = 0.5 мл, ΔA = 0.050) 	<ul style="list-style-type: none"> 0.2 мг/л 1.4 мг/л 																																										
Реальные LoD и LoQ были измерены только для жидкой мочевины/аммиака Enzytec™ (E8395) с использованием метода DIN 32645:2008-11 и образца объемом 100 мкл (соответственно 4 и 8 мг/л). При увеличении объема пробы до 0,500 мл эти пределы будут разделены на коэффициент 5.																																												



Сравнение тестов для определения Мочевины/Аммиака Roche и Enzytec™ Liquid

Art. No. E8395

Оценка Enzytec™ Liquid Мочевина/Аммиак (Art. No. E8395) в сравнении с Roche

а) Программа оценки для лабораторий

Мы предлагаем следующую программу оценки:

- Приобретите один набор Enzytec™ Liquid Urea/Ammonia (E8395, 50 тестов) и один набор Enzytec™ Liquid Amonia (E8390, 50 тестов) и запустите параллельно с набором Roche, который содержит оба теста (25 тестов каждый).
- Мы рекомендуем использовать контрольные образцы от QSE 6011 до 6014 (<https://www.qse-gmbh.de/>), Sigma U5128 или Thermo 984388 (подробности см. в FAQ по Enzytec™ Liquid).
- Если возможно, выполните пробоподготовку контрольного образца и рассчитайте степень извлечения.
- Запустите стандартные образцы параллельно в двух наборами, для всех 50 тестов (сравнение методов).
- Выполняйте пробоподготовку такую же, как и для набора Roche, и используйте один и тот же флакон с раствором образца для обоих тестов (по 100 мкл каждый).
- Выполняйте два анализа одновременно, чтобы избежать прогрешностей, связанных со стабильностью образца (особенно для нестабильных ацетальдегида, уксусной кислоты, аммиака, аскорбиновой кислоты, этанола и сульфита).

Можно проверить больше валидационных показателей (например, линейность, прецизионность или воспроизводимость), но для этого потребуется больше наборов.

б) Результаты внутренней оценки R-Biopharm

- Экстрагируйте контрольные образцы

Разбавьте образец до значений диапазона измерения и проверьте степень извлечения ($100 \pm 5\%$).

Примечание: это часть спецификаций для всех тест-наборов Enzytec™ Liquid и проверяется для каждой произведенной партии.

- Сравнение методов

Matrix	Target mg/L	Enzytec Liquid		Roche		Megazyme	
		Urea mg/L	rec. %	Urea mg/L	rec. %	Urea mg/L	rec. %
Blank							
beef	-	25.2	-	10.4	-	11.7	-
chicken	-	17.5	-	13.0	-	0.22	-
parmesan	-	98.8	-	102	-	-1.06	-
camembert	-	204	-	195	-	-3.25	-
raw milk	-	9.53	-	3.54	-	9.83	-
fresh milk 1.5%	-	12.5	-	6.44	-	11.6	-
fresh milk 3.5%	-	13.0	-	7.13	-	12.0	-
Spiked							
beef	80	76.662	96	6.619	8	80.896	101
chicken	80	76.147	95	41.110	51	77.883	97
parmesan	80	82.972	104	79.009	99	76.420	96
camembert	80	81.148	101	93.023	116	80.565	101
raw milk	80	78.249	98	86.735	108	80.833	101
fresh milk 1.5%	80	77.954	97	82.187	103	81.107	101
fresh milk 3.5%	80	75.786	95	83.035	104	79.637	100
QSE reference samples	certificate						
QSE F1	121	128	106	122	101	137	113
QSE F2	507	501	99	439	87	539	106
QSE F3	213	211	99	179	84	221	104
QSE F4	306	310	101	268	88	329	108

Сравнение методов с использованием проанализированных образцов мяса, сыра и молока в том виде, в котором он был получен или добавлен. Также были проанализированы эталонные образцы молока от QSE GmbH. Новый жидкий раствор мочевины/аммиака Enzytec™ сравнивали с набором Roche мочевины/аммиак и набором Megazyme мочевины/аммиак. Результаты, показанные красным цветом, показывают значения с отклонением от других значений.