

линейных координатах строят калибровочный график зависимости величины поглощения от концентрации гепарина. Зависимость линейна в диапазоне концентраций гепарина 0 – 1,0 анти-Ха ед/мл.

Для исследуемого образца готовят 2 разведения с концентрацией гепарина менее 1 анти-Ха ед/мл. Анализ проводят согласно инструкции к набору при температуре 37°C. Для каждого разведения величину абсорбции определяют трижды.

Определение проводят в ручном режиме с использованием пластиковых пробирок, микропланшет или в автоматическом режиме с использованием коагулометра.

Для проведения испытаний в ручном режиме в лунки микропланшета вносят по 20 мкл стандартной плазмы человека и 20 мкл раствора антитромбина III. Далее в эти лунки вносят соответственно по 20 , 60 , 100 и 140 мкл испытуемого или стандартного препарата и доводят объем раствора в каждой лунке до 200 мкл буфером (активность гепарина в конечной реакционной смеси 0,02 - 0,08 МЕ/мл).

По 40 мкл из каждой лунки планшета переносят во вторую серию лунок, в которые добавляют по 20 мкл раствора бычьего фактора Ха и инкубируют при температуре  $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$  в течение 30 с, после чего в лунки добавляют по 40 мкл раствора хромогенного субстрата фактора Ха и вновь инкубируют при температуре  $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$  в течение 3 – 15 мин, измеряя скорость расщепления субстрата путем постоянного измерения оптической плотности при длине волны 405 нм (кинетический режим) или после остановки реакции добавлением 20% (о/о) раствора уксусной кислоты ледяной (конечная точка определения).

Содержание гепарина в испытуемом разведении определяют по калибровочному графику с учетом разведения.

При проведении исследований в автоматическом режиме с использованием коагулометра получают значения зависимости изменения оптической плотности от концентрации гепарина.