

Измеряют оптическую плотность надосадочной жидкости на спектрофотометре в кюветах с толщиной слоя 10 мм при длине волны 541 нм. Раствор сравнения – буферный раствор.

Рассчитывают степень гемолиза (Y) по формуле (3):

$$Y = \frac{A_p - A_o}{A_k - A_o},$$

где: A_p – среднее значение оптической плотности испытуемой пробы;
 A_o – среднее значение оптической плотности контрольной пробы без гемолиза;
 A_k – среднее значение оптической плотности контрольной пробы с полным гемолизом.

С помощью программного обеспечения или на миллиметровой бумаге с логарифмическим масштабом строят график со значениями $Y/(1-Y)$ по оси абсцисс и количеством разведенного компонента (в мл) по оси ординат. Получают оптимизированную кривую (при построении графика учитываются значения степени гемолиза, находящиеся в диапазоне от 0,15 до 0,85; значения, находящиеся за пределами указанного диапазона не учитываются), соответствующую нанесенным точкам, и определяют ординату для дозы компонента, приводящей к 50% гемолизу, т.е. $Y/(1-Y)=1$.

Вычисляют активность компонента в исходном растворе, выраженную в гемолитических единицах ($CH_{50}/мл$), по формуле (4):

$$CH_{50}/мл = \frac{B}{C \cdot 5},$$

где: B – величина, обратная степени разведения компонента;
 C – объем разведенного компонента (мл);
вызывающий 50% гемолиз ($Y/(1-Y)=1$);
 5 – множитель для учета количества эритроцитов.

Результат титрования компонента считают достоверным при условии, что наклон прямой составляет от 0,15 до 0,40, предпочтительно в интервале 0,18-0,30.