разведения для построения калибровочной зависимости в диапазоне 0 – 2 МЕ/мл. После разведения определение следует провести в течение 30 мин.

Ход определения

Определение в пробирках

200 мкл разбавленного стандартного, контрольного или исследуемого образца вносят в пробирки, инкубируют в течение 3-4 мин при температуре 37°C, прибавляют 50 мкл предварительно прогретого реактива факторов, инкубируют в течение 2-4 мин при температуре 37°C и прибавляют 50 мкл раствора хромогена.

Определение в микропланшетах

В лунки микропланшета вносят по 50 мкл разбавленного стандартного, контрольного или исследуемого образца, инкубируют в течение 3-4 мин при 37°С, прибавляют 50 мкл предварительно прогретого реактива факторов, инкубируют в течение 2-4 мин при температуре 37°С и прибавляют 50 мкл раствора хромогена.

Кинетический метод определения

После прибавления раствора хромогена в течение 2 – 10 мин измеряют изменение оптической плотности раствора при 405 нм.

Определение по конечной точке

После прибавления раствора хромогена смесь продолжают инкубировать при температуре 37°C в течение 2 – 10 мин, после чего для остановки реакции прибавляют 50 мкл 20% уксусной или 2% лимонной кислоты. Измеряют оптическую плотность раствора против буфера при 405 нм.

Расчеты

Строят зависимость изменения оптической плотности в минуту (для кинетического метода) или оптической плотности (для определения по конечной точке) разведений стандартного раствора от концентрации в них