

плазмы, 100 мкл разведения стандартного или исследуемого образца или 100 мкл 0,9% раствора натрия хлорида (холостой опыт), добавляют по 100 мкл АЧТВ-реагента и инкубируют смесь в течение 120 – 240 с при температуре $(37 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. Затем в пробирку вносят 100 мкл предварительно прогретого до температуры 37°C 0,025М раствора кальция хлорида и фиксируют время свертывания образца. В зависимости от техники постановки анализа объемы реагентов могут быть изменены с соблюдением пропорции. Время свертывания нормальной плазмы (холостой опыт) должно составлять 25 – 40 с. Для каждого разведения стандартного и исследуемого образцов время свертывания определяют трижды.

2. Хромогенный метод

Метод основан на расщеплении хромогенного субстрата, специфического для активированного фактора X (FXa). При внесении в образец, содержащий гепарин, избыточных количеств АТШ и FXa происходит ингибирование количества FXa, пропорционального количеству гепарина. Оставшийся FXa отщепляет от специфического хромогенного субстрата *n*-нитроанилин, абсорбцию которого определяют при 405 нм. Таким образом, величина абсорбции обратно пропорциональна количеству гепарина. Данным методом определяют содержание как нефракционированного, так и низкомолекулярного гепарина в анти-Ха единицах.

Количество гепарина хромогенным методом определяют с помощью коммерческих тестовых систем. Для построения калибровочного графика используют стандартный образец гепарина или плазму-калибратор, аттестованную по международному стандарту. Стандартный образец или плазму-калибратор разводят в дистиллированной воде согласно инструкции. Готовят 4 разведения стандартного образца с концентрацией гепарина менее 1 анти-Ха ед/мл, используя буфер для разведения рН 8,4. Анализ проводят при температуре 37°C в соответствии с инструкцией к набору. Для каждого разведения трижды определяют абсорбцию при 405 нм, после чего в