Затем в каждую пробирку (пробирки 1-12 и пробирки с контрольными пробами) добавляют по 0,2 мл гемолитической системы, тщательно перемешивают и инкубируют в термостате при температуре 37±0,5°С в течение 60 мин, затем охлаждают 10 мин при температуре 5±3°С и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 5 мин.

Измеряют оптическую плотность надосадочной жидкости на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 541 нм. Раствор сравнения – буферный раствор. Рассчитывают степень гемолиза (Y) по формуле (3) и строят график аналогично, как указано в разделе «Титрование комплемента».

Если центрифугирование и/или считывание результатов не может быть проведено немедленно, пробы хранят при температуре 5±3˚С не более 1 ч.

Учет и интерпретация результатов

Вычисляют по формуле (4) активность комплемента в гемолитических единицах (CH_{50}/мл) для испытуемого образца иммуноглобулина, контрольных образцов (положительный и отрицательный контроли) и контроля комплемента.

Антикомплементарную активность испытуемого образца иммуноглобулина (в %) и контрольных образцов (положительный и отрицательный контроли) вычисляют относительно АКА в контроле комплемента, принятой за 100%, по формуле (6):

$$АКА = \frac{b-a}{b} \cdot 100\ \%\ ,$$

где: b – активность комплемента (CH_{50}/мл) в контроле комплемента, рассчитанная по формуле (4);
a – активность комплемента (CH_{50}/мл) в испытуемом образце иммуноглобулина и в контрольных образцах (положительный и отрицательный контроли), рассчитанная по формуле (4).

Антикомплементарную активность испытуемого образца иммуноглобулина в CH_{50}/мг белка рассчитывают по формуле (7):