

при 405 нм. Значение оптической плотности (или увеличение поглощения) пропорционально количеству фактора VII.

Определение фактора VII хромогенным методом осуществляют с помощью специальных тестовых наборов. Анализ выполняется в соответствии с инструкцией к набору. Стандартный образец и препарат предварительно разводят плазмой, дефицитной по фактору VII, до концентрации ~ 1 МЕ/мл (основное разведение). Из основного разведения готовят с помощью буферного раствора 3 разведения стандартного образца и 3 разведения препарата трис-солевым буфером pH 7,3 – 8,0 с добавлением 0,1% человеческого или бычьего альбумина. Каждое разведение стандартного образца определяют двукратно, полученные значения используют для построения калибровочного графика. Испытуемые образцы определяют трехкратно.

Испытания проводят в ручном режиме с использованием пластиковых пробирок или микропланшет при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ или в автоматическом режиме с использованием коагулометра.

В лунки микропланшет вносят разведения испытуемого препарата или стандартного образца, добавляют кальций-тромбопластиновую смесь, раствор фактора X и инкубируют при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ от 2 до 5 мин, после чего вносят раствор хромогенного субстрата фактора X_a .

Измеряют изменение оптической плотности при длине волны 405 нм либо в кинетическом режиме, либо прерывают реакцию гидролиза через 3 – 15 мин добавлением 20% (о/о) раствора уксусной кислоты ледяной и измеряют оптическую плотность.

Фактор VIII

1. Клоттинговый метод

Определение активности фактора VIII проводят с использованием человеческой плазмы, дефицитной по фактору VIII. Источником фосфолипидов, необходимых для осуществления свертывания, является АЧТВ-реагент.