

Для разведения стандарта и препаратов используют NaCl-имидазоловый буферный раствор pH (7,3±0,1), с добавлением 0,1% раствора человеческого или бычьего альбумина. Для построения калибровочного графика готовят серию последовательных разведений стандарта, начиная от концентрации 2 МЕ/мл. Препарат разводят до концентрации ~ 0,5 – 2 МЕ/мл. Анализируют 3 разведения препарата. Для каждого образца измерение времени свертывания проводят минимум 2 раза. Измерение проводят в течение 1 ч после разведения препарата.

Анализ проводят при температуре (37±0,5)°С. В пластиковую пробирку вносят 100 мкл плазмы, дефицитной по фактору VIII, 100 мкл разведения стандарта или препарата и 100 мкл АЧТВ-реагента и инкубируют при температуре (37±0,5)°С в течение 2 мин. Время свертывания фиксируют с момента прибавления к смеси 100 мкл предварительно прогретого до температуры (37 ± 0,5)°С 0,025 М раствора кальция хлорида. В зависимости от техники постановки анализа объемы реагентов могут варьироваться в соответствующей пропорции.

Калибровочный график строят в полулогарифмических координатах. По логарифмической оси абсцисс откладывают значения активности фактора VIII, по оси ординат – время свертывания соответствующих разведений стандарта. Активность фактора VIII для каждого разведения испытуемого образца находят по калибровочному графику. Активность FVIII (*A*) в исследуемом образце рассчитывают по формуле:

$$A = A_x \cdot k,$$

где A_x – активность соответствующего разведения исследуемого препарата, найденная по калибровочному графику;

k – разведение исследуемого образца.

2. Хромогенный метод