

Количественное определение фактора VIII проводят с помощью набора реактивов, в котором фактор VIII является кофактором для фактора IXa при активации фактора X в форму Xa, расщепляющего хромогенный субстрат.

Принцип метода

В присутствии ионов Ca^{2+} и фосфолипидов фактор X под действием фактора IXa активируется в Xa. При избытке фактора X и оптимальных количествах Ca^{2+} , фосфолипидов и фактора IXa скорость активации фактора X линейно зависит от количества фактора VIII. Фактор Xa гидролизует хромогенный субстрат S-2765 (N-a-Z-DArg-Gly-Arg-pNA) с высвобождением хромогенной группы pNA, окраску которой регистрируют спектрофотометрически при 405 нм. Количество образовавшегося фактора Xa и, следовательно, интенсивность окрашивания, пропорциональны активности фактора VIII в образце.

Набор реактивов для определения активности фактора VIII стабилен в течение срока, указанного производителем при температуре хранения от 2 до 8°С.

Набор реактивов содержит:

1. 7,7 мг хромогена S-2765 с добавкой синтетического ингибитора тромбина I-2581. Реактив восстанавливают в 6,0 мл стерильной воды для инъекций. Восстановленный раствор стабилен в течение 1 мес при температуре от 2 до 8°С. Перед использованием нагревают до температуры 37°С.
2. Реактив бычьих факторов: 0,3 Ед фактора IX, 2,7 МЕ фактора X и 1 НИН Ед тромбина, лиофилизированных в присутствии 40 ммоль CaCl_2 и 0,2 ммоль фосфолипидов. Реактив восстанавливают в 2,0 мл стерильной воды для инъекций. Восстановленный раствор стабилен в течение 12 ч при температуре от 2 до 8°С, 2 нед при температуре минус 30 °С и 1 мес при температуре минус 80°С. Не следует хранить при температуре минус 20°С. Перед использованием нагревают до температуры 37°С.