

2.1.11.26. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАКТОРА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА IX

В настоящей общей фармакопейной статье представлена методика количественного определения фактора свертывания крови человека IX клоттинговым методом.

Метод количественного определения основан на способности фактора свертывания крови человека IX (фактор IX) сокращать время пролонгированной коагуляции плазмы, дефицитной по фактору IX. Реакцию ускоряют добавлением реагента, содержащего фосфолипид и контактный активатор, например каолин, кремния диоксид или эллаговую кислоту.

Активность фактора IX определяют путем сравнения кривых доза-реакция испытуемого образца и стандартного образца, калиброванного в международных единицах. За международную единицу принимают активность фактора IX в определенном количестве международного стандартного образца, устанавливаемую Всемирной организацией здравоохранения. Международный стандартный образец представляет собой лиофилизированный концентрат фактора IX.

В качестве стандартного образца может быть использован *СО ФЕАЭС фактора свертывания крови человека IX*, калиброванный в международных единицах.

Восстанавливают испытуемый образец и стандартный образец согласно инструкциям производителей. Полученные растворы используют немедленно. Если необходимо, предварительно определяют количество гепарина в испытуемом образце (*номер*) и нейтрализуют гепарин, например, добавлением *протамина сульфата Р* из расчета 10 мкг *протамина сульфата Р* на 1 МЕ гепарина. Предварительно разводят испытуемый образец и стандартный образец плазмой, дефицитной по фактору IX (например, *плазмы субстрат Р2*), до концентрации 0,5 - 2,0 МЕ/мл. Готовят не менее трех разведений каждого из образцов в двух повторностях, используя подходящий буферный раствор (например, *имидазольный буферный раствор с рН 7,3 Р*), содержащий *альбумин бычий Р* или *альбумин человека Р* в концентрации 10 г/л. Растворы используют немедленно.

Для количественного определения фактора IX используют прибор, подходящий для измерения времени свертывания, или проводят испытание с помощью пробирок, инкубируемых на водяной бане при температуре 37 °С. В отдельные пробирки, содержащие по 0,1 мл плазмы, дефицитной по фактору IX (например, *плазмы субстрат Р2*), помещают по 0,1 мл каждого из разведений испытуемого или стандартного образцов. Во все пробирки прибавляют по 0,1 мл подходящего реактива для определения

активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), содержащего фосфолипиды и контактный активатор, и инкубируют смесь в течение рекомендуемого времени при температуре 37 °С. По окончании инкубации во все пробирки прибавляют по 0,1 мл раствора 3,7 г/л *кальция хлорида Р*, предварительно нагретого до 37 °С, и измеряют время, прошедшее между добавлением раствора 3,7 г/л *кальция хлорида Р* и появления первых признаков образования фибрина. Наблюдение проводят не более 30 мин от момента приготовления разведений испытуемого образца. Объёмы указанных выше реактивов могут быть скорректированы для используемого АЧТВ реактива и прибора. Активность фактора IX рассчитывают общепринятыми статистическими методами (2.3.12.0).