

BIOPHEN Faktor IX Ref. 221802

Chromogener Test zur Bestimmung der Faktor IX-Aktivität in Plasma oder Konzentraten

Nur für *In-vitro*-Forschungszwecke

www.hyphen-biomed.com

155, rue d'Eragny, F. 95000 Neuville-sur-Oise

Tel. +33-1-3440 6510 | Fax +33-1-3448 7236

Vertrieb: www.coachrom.com

CoaChrom Diagnostica GmbH

Stolzthalergasse 6, A 1080 Wien

Kostenfreie Nummern für Deutschland:

Tel. 0800-24 66 33-0 | Fax 0800-24 66 33-3

Tel. +43-1-699 97 97 | Fax +43-1-699 18 97

Revision: 13/01/2010

VERWENDUNGSZWECK:

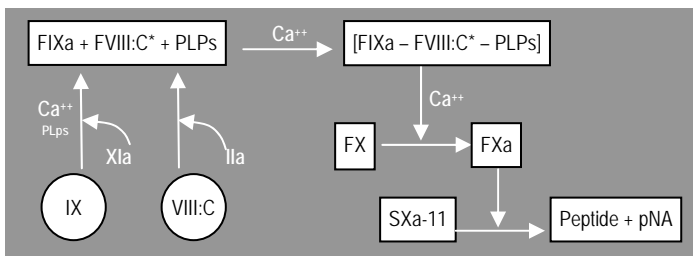
BIOPHEN Faktor IX ist ein Test zur chromogenen Bestimmung der Faktor IX-Aktivität in humanem Citratplasma oder Faktor IX-Konzentraten mit manuellen oder automatisierten Methoden.

KLINISCHE ANWENDUNG:

Bestimmung der Faktor IX-Aktivität in allen biologischen Flüssigkeiten oder therapeutischen Konzentraten, in denen die Faktor IX-Aktivität bestimmt werden soll.

TESTPRINZIP:

In Gegenwart von Thrombin, Phospholipiden und Calcium wird zunächst der in der Probe vorhandene Faktor IX durch Faktor XIa, der im Test in konstanter Konzentration und im Überschuss vorhanden ist, zu Faktor IXa aktiviert. Faktor IXa bildet anschließend einen Enzymkomplex mit Thrombin-aktiviertem Faktor VIII:C (ebenfalls in konstanter Konzentration und im Überschuss vorhanden), Phospholipiden (PLPs) und Calcium. Dieser Enzymkomplex aktiviert schließlich im Test vorhandenen Faktor X zu Faktor Xa. Die gebildete Menge Faktor Xa ist direkt abhängig von der Menge Faktor IX in der Probe, die den limitierenden Faktor darstellt. Der gebildete Faktor Xa kann dann durch die spezifische Aktivität für das chromogene Faktor Xa-Substrat SXa-11 exakt bestimmt werden. Die Menge des durch die Spaltung des Substrates freigesetzten para-Nitroanilin (pNA) ist direkt proportional zur Faktor IXa-Aktivität. Letztendlich besteht ein direkter Zusammenhang zwischen dem Faktor IX-Gehalt in der Probe und der gebildeten Faktor Xa-Aktivität, die über die freigesetzte Menge pNA bestimmt und durch die Farbentwicklung bei 405nm gemessen wird.



Anmerkung: FVIII:C*: Thrombin-aktivierter Faktor VIII:C

REAGENZIEN:

R1: Reagenz 1: Humaner Faktor X und Faktor VIII:C

Humaner Faktor X und Faktor VIII:C; in Gegenwart eines Fibrinpolymerisations-Inhibitors und Stabilisatoren lyophilisiert.

2 Flaschen (mit je 2,5 ml Aqua dest. rekonstituieren).

R2: Reagenz 2: Aktivierungsreagenz (Faktor XIa-Thrombin-Calcium-Phospholipide)

Faktor XIa (human), in konstanter und optimierter Konzentration. Enthält humanes Thrombin, Calcium und synthetische Phospholipide, in Gegenwart von Stabilisatoren lyophilisiert.

2 Flaschen (mit je 2,5 ml Aqua dest. rekonstituieren).

R3: Reagenz 3: SXa-11

Chromogenes Substrat, spezifisch für Faktor Xa (SXa-11), lyophilisiert.

2 Flaschen SXa-11 mit Faktor XIa-Inhibitor (mit je 2,5 ml Aqua dest. rekonstituieren).

R4: Reagenz 4: Tris-BSA-Puffer

Tris-BSA-Puffer, gebrauchsfertig. Enthält 1% BSA, Faktor VIII:C-Stabilisatoren und Natriumazid.

2 Flaschen mit je 25 ml.

Warnhinweise:

- Faktor X, Faktor XIa und Thrombin wurden aus humanem Plasma gewonnen, das mit registrierten Methoden getestet und als negativ für HIV-Antikörper, HBs-Ag und HCV-Antikörper eingestuft wurde. Bovines Serumalbumin (BSA) wurde aus bovinem Plasma hergestellt, das auf die Abwesenheit infektiöser Substanzen getestet und aus BSE-freien Tieren gewonnen wurde. Kein Test kann jedoch mit absoluter Sicherheit die Anwesenheit infektiöser Substanzen ausschließen. Jegliche Produkte mit biologischem Ursprung sind daher mit allen Vorsichtsmaßnahmen, die im Umgang mit potenziell infektiösem Material erforderlich sind, zu handhaben.

- Natriumazid (0,9 g/l) kann mit Blei oder Kupferarmaturen unter Bildung hochexplorier Metallazide reagieren. Bei Entsorgung der Lösung in den Ausguss muss mit großen Mengen Wasser nachgespült werden.

ERFORDERLICHE MATERIALIEN, DIE NICHT IN DER TESTPACKUNG ENHALTEN SIND:

Reagenzien:

- Aqua dest., bevorzugt steril.
- Endpunkt-Methode: Essigsäure (20%) oder Zitronensäure (2%).
- Kalibrationsplasma (BIOPHEN Plasma Calibrator #222101).
- Normales und abnormales Kontrollplasma (BIOPHEN Normal Control Plasma #223201, BIOPHEN Abnormal Control Plasma #223301).
- Referenzmaterial für Faktor IX-Konzentrate (Internationaler oder Interner Standard).

Geräte:

- Spektrophotometer oder Gerinnungsautomaten zur Bestimmung chromogener Teste (Messwellenlänge: 405nm).
- Stoppuhr.
- Geeichte Pipetten.

LAGERUNG:

Die BIOPHEN Faktor IX-Reagenzien müssen bei 2-8 °C in der Originalverpackung gelagert werden und sind dann bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum haltbar.

REKONSTITUTION UND STABILITÄT DER REAGENZIEN:

Anmerkung: Die Rekonstitutionsvolumina können bei unterschiedlichen Automatenapplikationen variieren und sind den jeweiligen Adaptionsvorschriften zu entnehmen.

R1: Reagenz 1: Humaner Faktor X, Faktor VIII:C und Fibrinpolymerisations-Inhibitor

- Den Inhalt jeder Flasche mit exakt 2,5 ml Aqua dest. rekonstituieren und gut durchmischen.
- Für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren (18-25°C).
- Vor Gebrauch vorsichtig mischen.

Stabilität des rekonstituierten Reagenz R1 in der Originalflasche:

- 24 Stunden bei 2-8°C.
- 8 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C).
- 2 Monate bei -20°C oder kälter.

R2: Reagenz 2: Faktor XIa, mit Thrombin, Phospholipiden und Calcium

- Den Inhalt jeder Flasche mit 2,5 ml Aqua dest. rekonstituieren und bis zur vollständigen Auflösung des Inhalts gut schütteln (Vortex).
- Für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren (18-25°C) und dabei gelegentlich schütteln.
- Den Inhalt vor jedem Gebrauch homogenisieren.

Stabilität des rekonstituierten Reagenz R2 in der Originalflasche:

- 24 Stunden bei 2-8°C.
- 8 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C).
- 2 Monate bei -20°C oder kälter.

R3: Reagenz 3: Faktor Xa-spezifisches chromogenes Substrat (SXa-11)

- Den Inhalt jeder Flasche mit 2,5 ml Aqua dest. rekonstituieren und bis zur vollständigen Auflösung des Inhalts gut schütteln (Vortex).
- Für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren (18-25°C) und dabei gelegentlich schütteln.
- Den Inhalt vor jedem Gebrauch homogenisieren.

Stabilität des rekonstituierten Reagenz R3 in der Originalflasche:

- 1 Monat bei 2-8°C.
- 7 Tage bei Raumtemperatur (18-25°C).
- 2 Monate bei -20°C oder kälter.

R4: Reagenz 4: Tris-BSA-Puffer

- Gebrauchsfertig.
- Vor Gebrauch schütteln.

Stabilität des Puffers, unter Vermeidung jeglicher bakterieller Kontamination:

- In der Originalflasche, bei 2-8°C, bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum.
- Nach Öffnen 7 Tage bei 2-8°C

Vorsichtsmaßnahmen:

- Um die Stabilität zu erhöhen, müssen die Reagenzien nach jedem Gebrauch mit der Original-Schraubkappe verschlossen werden (weiße Kappen für R1 und R2, gelbe Kappe für R3 und weiße Kappe für Puffer R4).
- Die Reagenzien sind sorgfältig zu handhaben, um jegliche Kontamination während des Gebrauchs zu vermeiden.
- Eine Gelbfärbung des Substrates deutet auf Kontamination hin. Die betroffene Flasche muss verworfen und eine neue Flasche verwendet werden.

Anmerkung:

- Die Flaschen von R1, R2 und R3 werden unter Vakuum verschlossen. Die Verschlüsse sind vorsichtig zu entfernen, um einen Verlust von Lyophilisat beim Öffnen zu vermeiden.
- Entsprechend der verwendeten Automatenmethode kann es zu Abweichungen der Rekonstitutionsvolumina der Reagenzien von den empfohlenen Rekonstitutionsvolumina kommen. In jedem Fall müssen jedoch die festgelegten reaktiven Verhältnisse (entsprechende Reagenzkonzentrationen im Testansatz) zwischen R1, R2 und R3 genau eingehalten werden.
- Es dürfen ausschließlich Reagenzien aus Testpackungen mit übereinstimmender Chargennummer verwendet werden. Zur Testdurchführung dürfen keine Reagenzien aus Testpackungen mit unterschiedlichen Chargennummern eingesetzt werden. Die Kombination der Reagenzien R1, R2 und R3 ist in Bezug auf die Testcharge optimiert.
- Stabilitätsstudien bei 30°C zeigen, dass die Reagenzien ohne Beeinträchtigung bei Raumtemperatur versendet werden können.

PROBENMATERIAL:

Humanes Citratplasma oder therapeutische Faktor IX-Konzentrate.

TESTDURCHFÜHRUNG:

BIOPHEN Faktor IX wurde als automatisierte, kinetische Methode entwickelt, kann jedoch ebenso als manuelle Endpunktmethode durchgeführt werden. Adaptionsvorschriften für die verschiedenen Automaten sind auf Anfrage erhältlich. Der Test wird unter Temperaturkontrolle bei 37°C durchgeführt und die Farbentwicklung bei 405 nm gemessen.

KALIBRATION:

Hoher Bereich (5 bis 200%):

Die Kalibration wird mit einem normalem Citratplasma-Pool (bestehend aus Plasmen von mindestens 30 Normalspendern, männlich oder weiblich, im Alter zwischen 18 und 55 Jahren und ohne Medikation bzw. Erkrankung) mit einem zugeordneten Gehalt von **100% Faktor IX** durchgeführt. Der Test verwendet eine Standardplasmaverdünnung von **1:100**. Gemäß Definition entspricht diese Verdünnung des Plasmapools einer Faktor IX-Aktivität von **100 %**. Der dynamische Bereich umfasst **0 bis 200 %** Faktor IX. Eine Faktor IX-Gehalt von **200 %** entspricht somit einer **1:50-Verdünnung** des Plasmapools (in Tris-BSA-Puffer (R4)).

BIOPHEN Faktor IX kann ebenso mit kommerziell erhältlichem Kalibrationsplasma mit bekanntem Faktor IX-Gehalt bzw. Internationalen oder Internen Referenzmaterialien für die Bestimmung in Faktor IX-Konzentrationen kalibriert werden. Bei Verwendung eines kommerziell erhältlichen Kalibrationsplasmas mit bekanntem Faktor IX-Gehalt (C) entspricht die **1:100-Verdünnung** dem angegebenen Faktor IX-Gehalt und die **1:50-Verdünnung** dem doppelten Gehalt. Um bei Verwendung eines Kalibrationsplasmas mit einem Faktor IX-Gehalt von C im Test einen Faktor IX-Gehalt von **200%** zu erzielen, wird der Verdünnungsfaktor wie folgt berechnet: $50 \times C : 100$.

Als Ausgangslösung werden **2 ml** einer **1:50-Verdünnung** des Plasmapools bzw. einer (**50x:100**)-Verdünnung des Kalibrationsplasmas hergestellt. Der Faktor IX-Gehalt in dieser Ausgangslösung entspricht **200%** (in nachfolgender Tabelle als **C1** bezeichnet). Die weiteren Kalibrationsplasmen werden aus dieser Ausgangslösung durch serielle Verdünnung wie folgt hergestellt:

| Standard | C1 | C2 | C3 | C4 | C5 |
|---------------------------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| % Faktor IX | 200 | 100 | 50 | 25 | 5 |
| Vol. Faktor IX-Standard | 1000 µl C1 | 500 µl C1 | 500 µl C2 | 500 µl C3 | 100 µl C4 |
| Vol. Tris-BSA-Puffer (R4) | 0 µl | 500 µl | 500 µl | 500 µl | 400 µl |

Die Kalibration kann ebenso mit Faktor IX-Referenzmaterialien (Internationaler bzw. Interner Standard) durchgeführt werden. Das Referenzmaterial (mit bekanntem Faktor IX-Gehalt) wird mit Tris-BSA-Puffer **R4** auf einen Gehalt von **exakt 1 IU/ml** verdünnt. Anschließend wird durch **1:50-Verdünnung** dieser Lösung mit **R4** der Kalibrator mit einem Faktor IX-Gehalt von **200%** hergestellt. Die weiteren Kalibratoren werden dann entsprechend der Verwendung eines Plasmapools mit einem Faktor IX-Gehalt von **100%** (siehe Tabelle oben) hergestellt.

Für die Bestimmung in Faktor IX-Konzentrationen muss die Probe mit **R4** auf einen erwarteten Gehalt von ca. **1 IU/ml** verdünnt werden. Es wird empfohlen, eine Vorverdünnung durchzuführen, um einen erwarteten Faktor IX-Gehalt im Bereich von **0,2 - 2,0 IU/ml** einzustellen und anschließend die **1:100-Verdünnung** mit **R4** für die Testdurchführung herzustellen. Der erwartete Faktor IX-Gehalt liegt dann im Bereich **20 - 200%**. Der gemessene Faktor IX-Gehalt in der Probe muss anschließend mit dem Vorverdünnungsfaktor multipliziert werden.

Niedriger Bereich (0 bis 20%):

Die Kalibration wird mit einem normalem Citratplasma-Pool mit einem zugeordneten Gehalt von **100 %** Faktor IX durchgeführt. Der Plasmapool muss mit Faktor IX-Mangelplasma (**#DP050A/K**) auf einen Faktor IX-Gehalt von **20%** verdünnt werden (1 Teil Plasmapool + 4 Teile Puffer oder Faktor IX-Mangelplasma). Der vorverdünnte Plasmapool wird anschließend **1:20** mit Tris-BSA-Puffer (R4) für die Testdurchführung verdünnt. Gemäß Definition entspricht diese Verdünnung des Plasmapools einem Faktor IX-Gehalt von **20 %**. Der dynamische Bereich umfasst **1 bis 20 %** Faktor IX.

Kommerziell erhältliches Kalibrationsplasma mit bekanntem Faktor IX-Gehalt (**C**) muss nach Rekonstitution durch Verdünnung mit Faktor IX-Mangelplasma auf einen Faktor IX-Gehalt von **20%** verdünnt werden (der Verdünnungsfaktor errechnet sich in diesem Fall wie folgt: $5 \times C : 100$). Das so vorverdünnte Kalibrationsplasma wird anschließend **1:20** mit Tris-BSA-Puffer (R4) für die Testdurchführung verdünnt. Gemäß Definition entspricht diese Verdünnung des Kalibrationsplasmas einem Faktor IX-Gehalt von **20 %**.

Die weiteren Kalibrationsplasmen werden aus dieser Ausgangslösung durch serielle Verdünnung wie folgt hergestellt:

| % Faktor IX | 20% Faktor IX-Kalibrator (µl) | Tris-BSA-Puffer (R4) (µl) |
|-------------|-------------------------------|---------------------------|
| 1,0 | 25 | 475 |
| 2,5 | 65 | 455 |
| 5,0 | 125 | 375 |
| 10,0 | 250 | 250 |
| 20,0 | 500 | 0 |

Um optimale Testgenauigkeit zu gewährleisten, dürfen die verdünnten Kalibrationsplasmen erst kurz vor der Testdurchführung hergestellt werden. Dies verhindert einen Abbau von Faktor IX, der zu falschen Ergebnissen führen kann.

DURCHFÜHRUNG:

Manuelle Methode:

Hoher Bereich: Proben und Kontrollen werden in **1:100-Verdünnung** in Tris-BSA-Puffer (R4) im Test eingesetzt.

Für die Bestimmung in Faktor IX-Konzentrationen oder biologischen Proben, deren Faktor IX-Gehalt von Plasma abweicht, muss die Probe zunächst auf einen erwarteten Faktor IX-Gehalt von ca. **0,2 - 2,0 IU/ml** vorverdünnt und dann zur Testdurchführung 1:100 mit Tris-BSA-Puffer (R4) verdünnt werden.

Niedriger Bereich: Proben und Kontrollen werden in **1:20-Verdünnung** in Tris-BSA-Puffer (R4) im Test eingesetzt.

| Reagenzien | Mikrotiterplatte | Teströhrchen |
|---|------------------|--------------|
| Kalibratoren, verdünnte Proben oder Kontrollen | 50 µl | 200 µl |
| R1 : Faktor IX-VIII:C | 50 µl | 200 µl |
| Mischen und 2 min. bei 37°C inkubieren, dann zugeben: | | |
| R2 : Aktivierungsreagenz | 50 µl | 200 µl |
| Mischen und 3 min. bei 37°C inkubieren, dann zugeben: | | |
| R3 : Substrat SXa-11, bei 37°C vorinkubiert | 50 µl | 200 µl |
| Mischen und für exakt 2 min. bei 37°C inkubieren | | |
| Stoppen der Reaktion durch Zugabe von: | | |
| Zitronensäure (2%) oder Essigsäure (20%) | 50 µl | 200 µl |
| Mischen und die Absorption bei 405nm gegen einen Probenleerwert messen. | | |

Die Gelbfärbung ist für 2 Stunden stabil.

Der Probenleerwert wird durch Mischung der Reagenzien in umgekehrter Reihenfolge erzeugt, d.h. Zitronensäure (2%), Substrat SXa-11, verdünnte Probe, R1, R2.

Die Absorption wird bei **405 nm** (A405) gemessen und anschließend der Probenleerwert des Testes vom A405-Wert subtrahiert.

Kinetische Methode:

Der Test kann auch als kinetische Methode durchgeführt werden. In diesem Fall wird die Änderung der Absorption im Bereich von 10 bis 100 Sekunden nach Zugabe des Substrates aufgezeichnet. Die Subtraktion der Probenleerwerte und das Stoppen der Reaktion ist bei der kinetischen Methode nicht erforderlich. Die Ergebnisse werden anhand der Änderung der Absorption (ΔA_{405}) der Kalibratoren und Proben berechnet.

Automatisierte Methoden:

Adaptionsvorschriften für die verschiedenen Automaten sind auf Anfrage erhältlich. Der Test wird dann kinetisch durchgeführt. Das Stoppen der Reaktion ist nicht erforderlich und die Probenleerwerte werden automatisch subtrahiert.

Anmerkung:

- Falls die verwendete Methode andere Reagenzienvolumina als die oben beschriebenen erfordert, müssen die Verhältnisse der Reagenzienkonzentrationen und Reagenzienvolumina genau eingehalten werden, um den Erhalt der Leistungsmerkmale des Testes zu gewährleisten.
- Bei lipämischen, ikterischen oder hämolysierten Plasmen, bzw. falls die Färbung des Plasmas von der gewöhnlichen Färbung abweicht, ist ein Probenleerwert durchzuführen.

ERGEBNISSE:

Bei der Endpunktmethode wird der Faktor IX-Gehalt (%) auf der x-Achse (Abszisse) gegen die korrespondierende Absorption (**A405**) auf der y-Achse (Ordinate) im **bilogarithmischen** Maßstab aufgetragen. Der Faktor IX-Gehalt der Probe kann direkt an der Kalibrationskurve abgelesen werden. Die Ergebnisse werden als % Faktor IX angegeben.

Die Ergebnissberechnung bei der kinetischen Methode erfolgt entsprechend, durch Auftragung der ΔA_{405} -Werte anstelle der **A405**-Werte.

Bei der automatisierten Durchführung werden die Ergebnisse der Proben entsprechend der gemessenen Kalibrationskurve und der Probenverdünnung automatisch berechnet.

Der dynamische Bereich ist 5 bis 200% für den hohen und 1 bis 20% für den niedrigen Bereich.

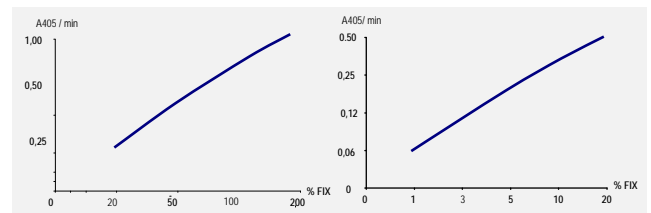
Bei einer Probenverdünnung von **1:100 (im hohen Bereich)** bzw. **1:20 (im niedrigen Bereich)** kann der Faktor IX-Gehalt der Proben direkt an der Kalibrationskurve abgelesen werden. Bei abweichenden Probenverdünnungen müssen die Ergebnisse im hohen Bereich mit dem Verdünnungsfaktor **D**, dividiert durch **100**, d.h. **D/100**, im niedrigen Bereich mit dem Verdünnungsfaktor **D**, dividiert durch **20**, d.h. **D/20** multipliziert werden.

QUALITÄTSKONTROLLE:

Die Qualitätskontrolle kann mit kommerziell erhältlichen Kontrollplasmen durchgeführt werden, deren Faktor IX-Gehalt bestimmt wurde. Die Messung von Qualitätskontrollen ermöglicht eine Validierung der Kalibration und die Überprüfung der gleichbleibenden Qualität von Analysenlauf zu Analysenlauf und von Serie zu Serie bei Verwendung der selben Reagenziencharge. Es stehen Kontrollplasmen zur Verfügung: **BIOPHEN Normal Control Plasma** (#223201) und **BIOPHEN Abnormal Control Plasma** (#223301). Die Faktor IX-Bestimmung in den Kontrollplasmen sollte im üblichen Arbeitsablauf durchgeführt werden.

BEISPIELKALIBRATIONEN:

Bei den gezeigten Kalibrationskurven handelt es sich lediglich um Beispiele, die mit einer automatisierten Methode (STA-R) aufgenommen wurden. Zur Bestimmung des Faktor IX-Gehalts darf ausschließlich eine, zusammen mit der jeweiligen Analysenserie gemessene, Kalibrationskurve verwendet werden.



LEISTUNGSMERKMALE:

Die Nachweisgrenze des Testes wird an der Kalibrationskurve durch Messung des scheinbaren Faktor IX-Gehalts einer Faktor IX-freien Probe bestimmt und berechnet sich als der mittlere A405-Wert dieser Probe plus 3 x Standardabweichung. Diese Nachweisgrenze liegt im **hohen Bereich** bei ca. **2,0%**, im **niedrigen Bereich** bei ca. **0,5%**.

ERWARTETE WERTE:

Der Normalbereich für Faktor IX liegt bei 70 bis 130%. Faktor IX wird auch als Antihämophiler Faktor B bezeichnet. Mangelzustände mit Plasmaspiegeln <25% manifestieren sich als Hämophilie B (angeborene Blutungsneigung). Niedrige Plasmaspiegel beobachtet man bei Patienten unter Therapie mit Vitamin K-Antagonisten, bei Lebererkrankungen, Zirrhose oder DIC. Erhöhte Plasmaspiegel von Faktor IX könnten ein Risikofaktor für venöse Thrombosen sein.

BIOCHEMIE:

Faktor IX (FIX) ist ein einkettiges, Vitamin K-abhängig synthetisiertes Glykoprotein mit einer molekularen Masse von ca. 55 kDa und ist an der mittleren Phase der Blutgerinnung beteiligt. Der normale Faktor IX-Gehalt in humanem Plasma liegt bei ca. 4 bis 5 µg/ml. Nach Aktivierung durch Faktor XIa (in Gegenwart von Calcium) bildet Faktor IXa (in Gegenwart von Calcium und Phospholipiden) einen aktiven Komplex mit Faktor VIII:C, der Faktor X zu Faktor Xa aktiviert.

REFERENZEN:

- van Hylckama Vlieg A, van der Linden IK, Bertina RM, Rosendaal FR, "High levels of factor IX increase the risk of venous thrombosis", Blood, 95(12):3678-82, 2000.
- Taran LD, "Factor IX of the blood coagulation system: a review", Biochemistry (Moscow), 62(7):685-93, 1997.
- Wagenvoort R, Hendrix H, Tran T, Hemker HC, "Development of a sensitive and rapid chromogenic FIX assay for clinical use", Haemostasis, 20(5): 276-88, 1990.
- Parekh VR, Mannucci PM, Ruggeri ZM, "Immunological heterogeneity of haemophilia B: a multicentre study of 98 kindreds", Br J Haematol, 40(4):643-55, 1978.
- Orstavik KH, Vellkamp JJ, Bertina RM, Hermans J, "Detection of carriers of haemophilia B", Br J Haematol, 42(2):293-301, 1979.
- www.ncbi.nlm.nih.gov, OMIM, Haemophilia B, FIX deficiency, +306900, +134540, +134510, +134520.