



Zestaw do pomiaru wolnych łańcuchów kappa Optilite® Freelite®

Wyłącznie do wykorzystania w diagnostyce *in vitro*

Kod produktu: LK016.OPT

Wyrób wyprodukowany przez:

The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, UK
www.bindingsite.co.uk

Telephone: +44 (0)121 456 9500

Fax: +44 (0)121 456 9749

E-mail: info@bindingsite.co.uk

Optilite® i Freelite® to zarejestrowane w niektórych krajach znaki handlowe The Binding Site Group Limited (z siedzibą w Birmingham, Wielka Brytania). Inne marki lub nazwy wyrobów mogą być znakami handlowymi należącymi do ich właścicieli.



Ostrzeżenie: Wyniki pomiaru wolnych lekkich łańcuchów kappa dla danego rodzaju uzyskane na sprzeczne różnych producentów lub na różnych systemach mogą się różnić w wyniku różnic w metodach pomiaru i swoistości odczynnika. Wyniki podane lekarzowi przez laboratorium muszą zawierać nazwę użytego testu na wolne lekkie łańcuchy kappa. Wartości uzyskane przy zastosowaniu różnych pomiarów lub systemów nie mogą być używane zamiennie. Jeśli w czasie regularnego monitorowania pacjenta zostanie zmieniony test lub system określający poziom wolnych lekkich łańcuchów kappa, należy przeprowadzić dodatkowe badania sekwencyjne. Przed zmianą testu lub systemu laboratorium **MUSI** potwierdzić wartości bazowe dla pacjentów monitorowanych regularnie.

1 PRZEZNACZENIE

Zestaw Optilite Freelite do pomiaru wolnych łańcuchów kappa przeznaczony jest do ilościowego pomiaru *in vitro* wolnych lekkich łańcuchów kappa w surowicy, osoczu z heparyną litową lub osoczu z EDTA, korzystając z analizatora Optilite firmy Binding Site. W połączeniu z innymi wynikami laboratoryjnymi i klinicznymi, pomiar wolnych łańcuchów lekkich pomaga w zdiagnozowaniu i monitorowaniu szpiczaka mnogiego, nowotworów limfocytowych, choroby Waldenströma, amyloidozę AL, choroby odkładania lekkich łańcuchów oraz chorób tkanki łącznej, takich jak tocznia rumieniowatego układowego (SLE).

2 OPIS I WYJAŚNIENIE

Molekuły immunoglobulin składają się z dwóch identycznych łańcuchów ciężkich (α , μ , γ , δ lub ϵ), które określają klasę immunoglobuliny, oraz dwóch identycznych łańcuchów lekkich (κ lub λ). Każdy łańcuch lekki jest kowalennie połączony z łańcuchem ciężkim a dwa łańcuchy ciężkie są połączone kowalennie w rejonie zawiasowym. U osób zdrowych większość łańcucha wolnego istnieje w surowicy właśnie w tej formie, związana z łańcuchem ciężkim. W surowicy osób zdrowych znajduje się również niewielkie ilości wolnych łańcuchów lekkich (FLC) w wyniku nadprodukcji i wydzielania FLC przez komórki osocza. O ile masa obu lekkich łańcuchów wynosi ≈ 22.5 kDa, wolny lekki łańcuch κ (κ -FLC) istnieje głównie jako monomer a wolny łańcuch lekki λ (λ -FLC) jako kowalennie połączony dimer o masie cząstkowej ≈ 45 kDa. Prowadzi to do zróżnicowania szybkości filtrowania kłębuszkowego κ -FLC i λ -FLC i może stanowić wyjaśnienie obserwowanego współczynnika κ -FLC do λ -FLC wynoszącego 0,625 w surowicy w porównaniu ze współczynnikiem związanego κ do λ wynoszącego 2,0. Podwyższone poziomy monoklonalnych FLC łączy się z rozprzestrzenianiem się złośliwych komórek osocza (np. szpiczak mnogim), amyloidozą AL i chorobą odkładania lekkich łańcuchów. Podwyższone poziomy poliklonalnych FLC w surowicy mogą być również związane z chorobami autoimmunologicznymi, takimi jak np. SLE (1-13).

3 ZASADA

Określenie stężenia rozpuszczalnego antygenu metodami turbidymetrycznymi wymaga reakcji z określoną surowicą odpornościową w celu stworzenia związków nierozpuszczalnych. System soczewek optycznych przesyła i ogniskuje na fotodiodzie część światła przechodzącego przez powstałą zawiesinę. Ilość przesłanego światła jest w odwrotnej proporcji do stężenia danego białka w badanej próbce. Stężenia są obliczane automatycznie poprzez odniesienie do krzywej kalibracyjnej znajdującej się w instrumencie.

4 ODCZYNNIKI

4.1 Odczynnik lateksowy: Składa się z warstwy poliklonalnego monoswoistego przeciwciała nałożonego na lateks polistyrenowy. Konserwanty: 0,01% kwasu E-amino-n-kapronowego (EACA), 0,01% benzamidyny oraz 0,05% ProClin.

4.2 Wzorzec i materiały kontrolne: Połączona surowica ludzka, dostarczona w stabilizowanej formie płynnej. Zawiera następujące konserwanty: 0,099% azydku sodu, 0,1% EACA oraz 0,01% benzamidyny.

4.3 Bufor reakcyjny: Zawiera konserwant w postaci 0,099% azydku sodu.

5 UWAGA

Wszyscy dawcy surowicy ludzkiej zawartej w tym zestawie zostali poddani badaniom surowicy, które dały negatywny wynik dla antygenu powierzchniowego wirusa zapalenia wątroby typu B (HBsAg) oraz przeciwciał przeciw ludzkiemu wirusowi niedoboru odporności (HIV1 i HIV2) i wirusowi zapalenia wątroby typu C. Wykorzystane testy zostały zatwierdzone przez FDA (USA) lub dopuszczone do używania w diagnostyce *in vitro* w UE (Dyrektywa 98/79/WE, Aneks II); pomimo tego nie mogą one gwarantować braku czynników zakaźnych. Należy ustalić prawidłowe metody obchodzenia się i utylizacji dla wszystkich potencjalnie zakaźnych materiałów, takie jak (między innymi) obowiązek noszenia przez użytkowników odpowiednich środków ochrony i odzieży ochronnej przez cały czas. Do wykonywania tych procedur powinien być dopuszczony wyłącznie personel kompletnie przeszkolony w zakresie takich metod.

OSTRZEŻENIE: Wyrób ten zawiera azydek sodu i ProClin 300 należy obchodzić się z nim z ostrożnością; w czasie używania wyrobu należy zawsze mieć na sobie odpowiednie rękawice oraz inną odzież ochronną. Nie spożywać i zapobiegać przed kontaktem ze skórą (szczególnie ze skaleczeniami i ranami otwartymi) i błonami śluzowymi. Jeśli dojdzie do kontaktu, należy umyć miejsce dużą ilością wody i pilnie uzyskać pomoc medyczną. W wyniku długiego kontaktu z azydkiem sodu mogą powstać wybuchowe azydki metali, szczególnie przy kontakcie z ołowianymi i miedzianymi elementami instalacji kanalizacyjnej. W przypadku utylizacji odczynnika należy przepłukać instalację dużą ilością wody, aby uniknąć osadzania się azydku.

Wyrób ten może używany wyłącznie przez odpowiednio przeszkolony personel do celów opisanych w Przeznaczeniu. Niezbędne jest stałe i ścisłe przestrzeganie tych zaleceń. Zastosowanie parametrów innych, niż te zawarte w zaleceniach może spowodować uzyskanie nieważnych rezultatów.

Odczynniki z zestawów o innych numerach partii **NIE** są wzajemnie zamienne.

6 PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Nieotwarty zestaw powinien być przechowywany w temperaturze od 2 do 8°C i może być używany do daty ważności widocznej na etykiecie opakowania zestawu. **NIE ZAMRAŻAĆ.** Odczynnik, wzorzec i materiały kontrolne można przechowywać w lodówce do trzech miesięcy po otwarciu, zamknięte, aby uniknąć parowania, w temperaturze od 2 do 8°C. Odczynnik może być przechowywany otwarty w analizatorze Optilite do 30 dni, pod warunkiem, że urządzenie jest podłączone na stałe do sieci.

7 POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Próbki powinny być pobierane poprzez wkłucie dożylnie i w przypadku osocza jak najszybciej rozdzielone. Krew powinna w naturalny sposób skrzepnąć, a surowica powinna zostać jak najszybciej oddzielona, aby nie dopuścić do hemolizy. Probki można przechowywać w temperaturze od 2 do 8°C do 21 dni, natomiast dłuższe przechowywanie powinno odbywać się w temperaturze -20°C, lub niższej (16). Należy unikać powtarzania cykli zamrażania i rozmrażania. Przed wykonaniem badania należy odwirować próbki zawierające cząstki stałe (17). Nie należy używać próbek skażonych bakteryjnie, próbek zawierających cząstki stałe oraz próbek lipemicznych lub hemolizowanych. Do odpowiedzialności danego laboratorium należy wykorzystanie wszystkich dostępnych materiałów referencyjnych i/lub wyników swoich własnych badań w celu ustalenia własnych kryteriów stabilności (14).

8 METODOLOGIA

Uwaga: aby umożliwić pełną interpretację wyników, należy określić stosunek wolnych kappa do lambda; w związku z tym należy dokonać pomiarów próbek przy pomocy zestawu pomiaru wolnych łańcuchów lambda Optilite Freelite firmy Binding Site (LK018.OPT).

8.1 Materiały dostarczone

- 8.1.1 1 Optilite Kappa Free Reagent (odczynnik Optilite dla wolnych łańcuchów kappa) do 100 testów
- 8.1.2 1 Optilite Kappa Free Calibrator (wzorzec Optilite dla wolnych łańcuchów kappa) 2,7 ml
- 8.1.3 1 Optilite Kappa Free High Control (materiał wysokiej kontroli Optilite dla wolnych łańcuchów kappa) 1,6 ml
- 8.1.4 1 Optilite Kappa Free Low Control (materiał niskiej kontroli Optilite dla wolnych łańcuchów kappa) 1,6 ml

8.2 Materiały wymagane lecz niedostarczone

- 8.2.1 Sprzęt do pobierania i przygotowania próbek badanych, np. próbki, wirówka, itp.
- 8.2.2 W pełni sprawny i wyposażony analizator Optilite.
- 8.2.3 Aktualna instrukcja obsługi analizatora. Podręcznik obsługi Optilite, wprowadzić kod INS700.OPT
- 8.2.4 Rozcieńczalnik Optilite 1, kod wyrobu IK709

8.3 Przygotowanie odczynnika

Przed załadowaniem należy odczynnik wymieszać łagodnie używając inwersji tak, aby nie wytworzyć lub pozostawić na powierzchni piany lub bąbelków, ponieważ mogą one zakłócić aspirację odczynnika.

8.4 Procedura testu

Użytkownik powinien zapoznać się z obsługą analizatora Optilite przed rozpoczęciem czynności testujących. Analizator należy przygotować do użytku zgodnie z instrukcją zawartą w Podręczniku obsługi Optilite.

- 8.4.1 Parametry testu dla tego testu podano jako kody kreskowe na załączonym atście QC (np. QCcert016.OPT). „Zeskanuj kody kreskowe, by wprowadzić parametry”

8.5 Zakres pomiaru

Przybliżony zakres pomiaru testu przedstawiono w tabeli poniżej.

Stopień rozpuszczenia dla analizatora Optilite.	Przybliżony zakres (mg/l)
1+1	0,6 - 25,3
1+9	2,9 - 127
1+99	29 - 1270
1+999	290 - 12700
1+9999	2900 - 127000

8.6 Interpretacja wyników

Wyniki tego badania należy zawsze rozważać w połączeniu z historią zdrowia pacjenta, badaniami klinicznymi i innymi wynikami włącznie z uprzednimi wynikami testu **Freelite**, jeśli takie są dostępne.

Natura białek monoklonalnych powoduje, że niektóre próbki mogą wykazywać brak liniowości przy badaniu w różnych rozcieńczeniach. Aby właściwie dokonać pomiarów takich próbek, wskazane jest postępowanie zgodnie z protokołem rozcieńczania opartym w dziale 8.5 i podanie pierwszego realistycznego wyniku.

Wszystkie testy immunologiczne cechuje możliwość wystąpienia nadmiaru antygenów. Aby określić, które próbki cechuje nadmiar antygeny, Optilite daje możliwość śledzenia kinetyki reakcji. Próbkę o nietypowej kinetyce reakcji spowodują albo

- pojawienie się flagi HA (High activity - Wysoka aktywność)
- albo flagi AC (Activity check - Kontrola aktywności)*

Próbki, które spowodowały pojawienie się któreś z tych flag są automatycznie ponownie mierzone przy wyższym rozcieńczeniu. Jeśli próbka da wynik uznany za mało prawdopodobny, należy ją ponownie przetestować.

Dalsze informacje na temat interpretacji flag znajdują się w Podręczniku obsługi Optilite (INS700.OPT), dostarczonym wraz z analizatorem.

Ważna uwaga: Żaden zautomatyzowana kontrola nie zidentyfikuje wszystkich przypadków nadmiaru antygeny, a bardzo niewielki procent próbek z nadmiarem antygeny wykaże normalną kinetykę reakcji, w związku z tym nie spowoduje pojawienia się flagi HA lub AC.

Zaleca się, aby wszystkim rezultatom pomiarów wolnych łańcuchów lekkich towarzyszyło następujące oświadczenie

„Niewykryty nadmiar antygeny występuje rzadko, ale nie może zostać wykluczony. Jeśli niniejsze wyniki pomiaru wolnych łańcuchów lekkich są niezgodne z innymi wynikami klinicznymi lub laboratoryjnymi, bądź próbka pochodzi od pacjenta, u którego wcześniej pojawił się nadmiar antygeny, wynik musi zostać sprawdzony poprzez ponowne przetestowanie przy wyższym stopniu rozcieńczenia próbki. Wyniki należy zawsze interpretować w połączeniu z innymi testami laboratoryjnymi i wynikami klinicznymi; wszelkie anomalie powinny zostać przedyskutowane z testującym laboratorium.”

*Flaga AC jest widoczna wyłącznie na przyrządach Optilite z zainstalowanym oprogramowaniem V7.0

9 KONTROLA JAKOŚCI

Minimum raz dziennie należy przetestować przynajmniej dwa poziomy odpowiedniego materiału kontrolnego. Materiały kontrolne należy testować również po kalibracji, z każdą nową partią odczynnika i po określonych czynnościach koserwacyjnych lub naprawczych opisanych w Podręczniku obsługi Optilite.

Testowanie kontrolne jakości należy przeprowadzać zgodnie z wymogami przepisów oraz ze standardową procedurą danego laboratorium.

Stężenia dostarczonych materiałów kontrolnych zamieszczone są w załączonym atście QC (QCcert016.OPT). Uzyskane wyniki można przyjąć jedynie wówczas, gdy rezultaty kontrolne znajdują się w przedziale $\pm 20\%$ podanego stężenia (stężeń).

Jeśli w czasie pomiaru przy pomocy zachowanej krzywej uzyskany zostanie wynik kontrolny poza zakresem, pomiar musi zostać ponownie skalirowany. Jeśli po rekaliibracji wyniki kontrolne mierzone przy pomocy nowej krzywej nadal znajdują się poza zakresem, należy sprawdzić instrument i parametry pomiarowe przed powtórzeniem pomiaru. Jeśli problemy nie znikną, proszę się skontaktować z miejscowym serwisem technicznym.

10 OGRANICZENIA

- 10.1 Zmętnienie, obecność cząstek i hemoliza mogą zakłócić wyniki pomiaru. Próbkę o widocznym zmętnieniu lub z obecnymi cząstkami należy poddać odwirowaniu przed użyciem do testowania (17). Nie poddających się oczyszczeniu wysoce lipemicznych lub mętnych próbek nie należy używać. Nieoczekiwane wyniki należy potwierdzić przy pomocy alternatywnej metody testowania.
- 10.2 Nie należy dokonywać diagnozy i prowadzić leczenia jedynie na podstawie pomiarów wolnych łańcuchów lekkich kappa. Należy wziąć pod uwagę ogólny wywiad kliniczny pacjenta oraz inne wyniki laboratoryjne.
- 10.3 Badanie to nie jest przeznaczone do użytku pediatrycznego.

11 OCZEKIWANE WARTOŚCI

Podane przedziały uzyskano na podstawie ograniczonej liczby próbek i powinny być one traktowane jedynie do celów orientacyjnych. Oczekiwane wartości mogą się różnić w zależności od wieku, płci, typu próbki, diety i położenia geograficznego. Każde laboratorium powinno zweryfikować przenaszalność wartości oczekiwanych na swoją własną populację i, jeśli to konieczne, określić własny przedział odniesienia.

Zakres referencyjny dla surowicy

Ten zakres referencyjny uzyskano mierząc stężenie wolnych łańcuchów lekkich w surowicy pobranej od 282 normalnych dawców amerykańskich, używając testów Binding Site Freelite na BN™ II* (11). Ten zakres referencyjny obliczono korzystając z nieparametrycznej analizy statystycznej i reprezentuje on centralne 95% populacji.

	Srednia (mg/l)	Mediana (mg/l)	Przedział 95 percentyla (mg/l)
Wolny kappa	8,36	7,30	3,30 - 19,40
Wolny lambda	13,43	12,40	5,71 - 26,30
	Srednia	Mediana	Całkowity zakres
Stosunek kappa do lambda	0,63	0,60	0,26 - 1,65

*BN™ jest znakiem towarowym należącym do Siemens Healthcare Diagnostics, Inc.

12 CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

12.1 Precyzja

Badanie precyzji oparte było na: Ocena precyzji wyników klinicznych metod pomiarów wielkościowych CLSI EP5-A2 (CLSI EP5-A2 Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods). Badanie to przeprowadzono w ciągu 21 dni roboczych, z 2 pobraniami dziennie. Jeden użytkownik dokonał pomiaru 8 różnych próbek, używając 1 partii odczynnika, i korzystając z 3 analizatorów.

Podsumowanie precyzji									
	Średnia (mg/l)	W czasie pobrania		Pomiędzy pobraniami		Pomiędzy dniami		Ogółem	
		SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV
Poziom 1*	2,48	0,07	2,6	0,02	0,8	0,09	3,5	0,11	4,4
Poziom 2	4,87	0,13	2,6	0,14	2,9	0,32	6,6	0,38	7,7
Poziom 3	8,17	0,17	2,1	0,14	1,7	0,34	4,1	0,41	5,0
Poziom 4	13,74	0,23	1,7	0,14	1,0	0,55	4,0	0,61	4,5
Poziom 5	23,19	0,34	1,5	0,42	1,8	0,61	2,7	0,82	3,5
Poziom 6	71,79	2,35	3,3	1,27	1,8	2,13	3,0	3,42	4,8
Poziom 7	105,13	5,52	5,2	0,00	0,0	4,48	4,2	7,11	6,7
Poziom 8**	329,21	13,32	4,0	5,67	1,7	13,18	4,0	19,58	5,9

* wykonany przy rozcieńczeniu próbki 1+1

** wykonany przy rozcieńczeniu próbki 1+999

12.2 Porównanie

Badanie porównawcze polegało na analizie 208 próbek surowicy (w tym 73 normalnych surowic i 135 surowic klinicznych) z wykorzystaniem zestawu Optilite Freelite do badania wolnych łańcuchów lekkich Kappa oraz alternatywnego, dostępnego komercyjnie testu. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$y = 0,95x - 0,76$ (mg/l) (y = Optilite; x = porównawczy analizator)
współczynnik korelacji $r = 0,967$ (obliczony przy pomocy regresji liniowej)

Badanie porównawcze polegało na analizie 80 sparowanych próbek osocza, zawierających surowicę i EDTA, z wykorzystaniem testu Optilite Freelite do badania wolnych łańcuchów lekkich Kappa. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$y = 0,95x - 0,23$ (mg/l) (y = osocze z EDTA; x = surowica)
współczynnik korelacji $r = 0,989$ (obliczony przy pomocy regresji liniowej)

Badanie porównawcze polegało na analizie 90 sparowanych próbek osocza, zawierających surowicę i heparynę litową, z wykorzystaniem zestawu Optilite Freelite do pomiaru wolnych łańcuchów lekkich Kappa. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$y = 1,06x - 0,40$ (mg/l) (y = osocze z heparyną litową; x = surowica)
współczynnik korelacji $r = 0,991$ (obliczony przy pomocy regresji liniowej)

12.3 Granica oznaczalności

Granica oznaczalności tego testu określona jest jako dolna wartość zakresu pomiarowego, 0,6 mg/l. Badanie walidujące granicę oznaczalności oparte było o *Protokoły określania granic wykrywalności i granic oznaczalności CLSI EP17-A* (CLSI EP17-A Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation).

12.4 Liniowość

Badanie liniowości zostało przeprowadzone w oparciu o Ocenę liniowości procedur pomiarów ilościowych CLSI (Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures): Podejście statystyczne; zatwierdzone wytyczne (EP6-A). Liniowość tego badania została potwierdzona przy użyciu próbki surowicy seryjnie rozcieńczonej w przedziale od 2,60 - 140,34 mg/l, przy odchyleniu od liniowości <10%.

12.5 Zakłócenia

Badanie wykonano zgodnie w CLSI EP7-A2: *Testowanie zakłóceń w chemii klinicznej, zatwierdzone wytyczne* (Dokument CLSI EP7-A2). Przetestowano normalną próbkę surowicy, próbki surowicy bliską punktowi podejmowania decyzji medycznych oraz próbki surowicy anormalnej. Nie zaobserwowano znaczących zakłóceń badania przy testowaniu z Intralipidem (500 mg/dl), bilirubiną (200 mg/l), trójglicerydem (1000 mg/dl) lub z hemoglobiną (1,25 g/l).

Nie są znane zakłócenia spowodowane przez powszechnie używane leki. Dalsze informacje znajdują się w literaturze (15).

13 BIBLIOGRAFIA

1. Cole PW, Durie BGM, Salmon SE (1978). Immunoprecipitation of free light chain immunoglobulins: Application in multiple myeloma. J. Immunol. Meth. **19**: 341-349.
2. Pescali E, Pezozoli A (1988). The clinical spectrum of pure Bence-Jones proteinuria. Cancer **61**: 2408-2415.
3. Solling K, Solling J, Romer FK (1981). Free light chains of immunoglobulins in serum from patients with rheumatoid arthritis, sarcoidosis, chronic infections and pulmonary cancer. Acta. Med. Scand. **209**: 473-477.

4. Drayson MT, Tang LX, Drew R, Mead GP, Carr-Smith HD and Bradwell AR (2001). Serum free light chain measurements for identifying and monitoring patients with non-secretory multiple myeloma. *Blood* **97**: 2900-2902.
5. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Tang LX, Showell PJ, Drayson MT and Drew RL (2001). Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin. Chem.* **47**: 4, 673-680.
6. Tang LX, Showell P, Carr-Smith HD, Mead GP, Drew R and Bradwell AR (2000). Evaluation of F(ab')₂-based latex-enhanced nephelometric reagents for free immunoglobulin light chains on the Behring Nephelometer™ II. *Clin. Chem* **46**:6, Suppl. 2000: 705, pA181.
7. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Harvey TC and Drayson MT (2003). Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma. *Lancet* **361**: 489-491.
8. Abraham RS, Katzmann JA, Clark RJ, Bradwell AR, Kyle RA and Gertz MA (2003). Quantitative Analysis of Serum Free Light Chains: A new marker for the diagnostic evaluation of primary systemic amyloidosis. *Am. J. Clin. Pathol.* **119**: (2): 274 – 278.
9. Lachmann HJ, Gallimore JR, Gillmore JD, Carr-Smith HD, Bradwell AR, Pepys MB and Hawkins PN (2003). Outcome in systemic AL amyloidosis in relation to changes in concentration of circulating immunoglobulin free light chains following chemotherapy. *Brit. J. Haem.* **122**: 78-84.
10. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP and Drayson MT (2002). Serum free light chain immunoassays and their clinical application. *Clinical and Applied Immunology Reviews* **3**: 17 – 33.
11. Katzmann JA, Clark RJ, Abraham RS, Bryant S, Lymp JF, Bradwell, AR and Kyle RA (2002). Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin. Chem.* **48**: 1437-1444.
12. Bradwell AR (2009). *Serum Free Light Chain Analysis*, 5th Edition. Publ. The Binding Site Ltd, Birmingham, UK.
13. Mead GP, Carr-Smith HD, Drayson MT, Morgan GJ, Child JA and Bradwell AR (2004). Serum free light chains for monitoring multiple myeloma. *Brit. J. Haematol.* **126**, 348-354.
14. CLSI GP44-A4, Vol. 30 No. 10, 5.5.1.1.1, May 2010, "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline"
15. Young D (2000). *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 5th ed. AACC Press.
16. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 2002
17. CLSI – C56-A, Vol 32 No.10 July 2012 "Hemolysis, Icterus, and Lipemia/Turbidity Indices as Indicators of Interference in Clinical Laboratory Analysis"