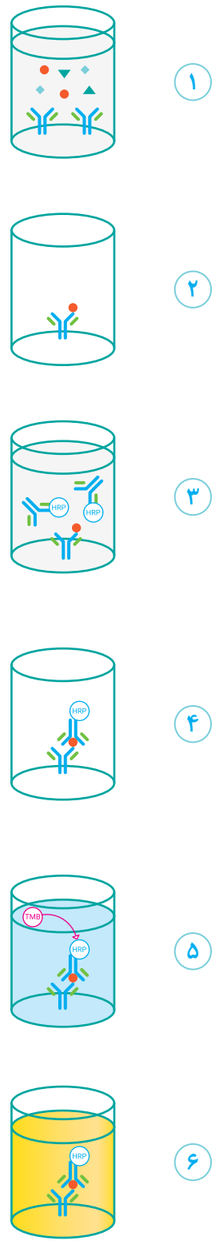
خلاصه روش کار



۱. افزودن ۱۰۰ µl از استاندارد، کنترل، سرم
افزودن ۵۰ µl بافر رقیق کننده

۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق

۴ بار شستشو چاهک‌ها با ۳۰۰ µl محلول شستشو رقیق شده

۲. افزودن ۱۰۰ µl محلول آنزیم کونژوگه

۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق

۴ بار شستشو چاهک‌ها با ۳۰۰ µl محلول شستشو رقیق شده

۴. افزودن ۱۰۰ µl محلول رنگ زا

۱۵ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق

۵. افزودن ۱۰۰ µl محلول متوقف‌کننده

۶. خوانش میزان جذب نوری در طول موج
۴۵۰ نانومتر با دیفرانسیل ۶۳۰ نانومتر

Key: TMB | HRP | FreePSA | Antibody

DiaZist
کیت سنجش Free PSA

کاربرد

اندازه‌گیری غلظت Free PSA در سرم یا پلاسمای انسانی به‌روش ایمونوآنزیماتیک Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Cat.No. DG.FPSA.01)

مقدمه

ساختار و نقش فیزیولوژیک: آنتی ژن اختصاصی پروستات PSA (Prostate Specific Antigen) گلیکوپروتئینی با وزن مولکولی حدود ۳۳ کیلودالتون از یک زنجیره مرکب از ۲۳۷ اسید آمینه و یک زنجیره کربوهیدرات تشکیل شده است. با توجه به برابری بیش از هشتاد درصدی PSA با ژن کالیکرین ۱ (Kallikrein) این بیومارکر از خانواده کالیکرینها محسوب می شود. [۱،۲]

در سرم مولکول PSA به دو صورت آزاد و ترکیبی وجود دارد. PSA آزاد (Free PSA) که مقدار ناچیزی از آن را شامل می شود به لحاظ آنزیماتیک غیر فعال است. قسمت اعظم این بیومارکر با مهار کننده سرین پروتئاز آلفا-۱-آنتی کیموتریپسین (PSA-alpha-1-antichymotrypsin) ترکیب شده و فعالیت آنزیمی دارد. این دو فرم از مولکول PSA با روشهای ایمونولوژیک قابل اندازه گیری (Immunodetectable) می باشند. بر خلاف این دو فرم، PSA ترکیبی با آلفا-۲-ماکروگلبولین (alpha-2-macroglobulin) با روشهای ایمونولوژیک قابل اندازه گیری نیست. [۱،۲،۳]

PSA عمدتاً از سلولهای اپیتلیال خوشه های غددی و مجاری پروستات ترشح شده و سپس به داخل مجرای غده پروستات و مایع منی هدایت می شود. این مولکول که در غلظتهای بالا در مجاری پروستات وجود دارد به دلیل وجود بافت منسجم غده پروستات و ساختمان عروقی مجاری پروستات به میزان ناچیزی وارد جریان خون می گردد. این سدهای محافظ در هنگام بیماریهایی مانند سرطان، عفونت و هایپرپلازی خوش خیم پروستات باز شده و بدین ترتیب غلظت سرمی این بیومارکر در بیماریهای مرتبط با پروستات بالا می رود. PSA با فعالیت سرین پروتئازی، باعث مایع کردن (Liquefaction) کواگولوم مایع منی و افزایش تحرک اسپرماتوزوئیدها می گردد. [۲]

کاربرد بالینی: امروزه سرطان ها بعد از بیماریهای قلبی و عروقی به عنوان مهم ترین علل مرگ و میر در جوامع بشری مطرح هستند. سرطان پروستات یکی از شایع ترین سرطانهای منتهی به مرگ و میر در مردان است. [۴] با این حال ابتلا به این بدخیمی در سنین کمتر از ۵۰ سال نادر بوده و درمان آن در مراحل اولیه یعنی زمانیکه توده سرطانی در داخل کپسول پروستات باشد دارای شانس بالایی است.

تعیین غلظت سرمی PSA آزاد و ترکیبی در تشخیص اولیه و ارزیابی مرحله پاتولوژیک سرطان پروستات به طور وسیعی استفاده می شود. تحقیقات حاکی است میزان Free PSA سرم در هایپرپلازی خوش خیم پروستات به طور معنی داری بیشتر از سرطان پروستات است. لذا در مواردی که غلظت Total PSA در محدوده ۴-۱۰ ng/ml (مشکوک به سرطان پروستات) باشد و از سایر آزمایشات از جمله DRE (Digital rectal examination) شواهدی دال بر احتمال سرطان پروستات بدست نیاید، به منظور جلوگیری از بیوپسی غیر ضروری از نسبت Free PSA/Total PSA به عنوان یک راهنما در تشخیص افتراقی این دو بیماری می توان استفاده نمود. [۲،۱]

اساس روش سنجش

مدت زمان انجام تست: ۳۰ دقیقه + ۳۰ دقیقه + ۱۵ دقیقه

طراحی کیت Free PSA بر اساس روش ایمونوآنزیماتیک ساندویچی با استفاده از آنتی بادی‌های مونوکلنال می‌باشد. در این روش آنتی‌ژن مورد سنجش طی دو مرحله بین آنتی‌بادی تثبیت شده در ته چاهک‌های پلی‌استایرنی و آنتی‌بادی دوم متصل به آنزیم پراکسیداز (HRP) که شاخص‌های‌آنتی ژنیک متمایزی را روی مولکول Free PSA شناسایی می کنند، قرار می‌گیرد. پس از شستشو و خارج کردن آنالیت‌های غیرمتصل با افزودن سوبسترا، تترا متیل بنزیدین (TMB)، آنزیم رنگ آبی ایجاد می‌کند. با اضافه نمودن محلول متوقف‌کننده، رنگ آبی به زرد تبدیل می‌شود. شدت رنگ ایجاد شده که با غلظت Free PSA ارتباط مستقیم دارد، در طول موج **۴۵۰** نانومتر (با دیفرانسیل **۶۳۰** نانومتر) اندازه‌گیری می‌گردد.

توجه و احتیاط

- این کیت تشخیصی به صورت *in vitro* قابل استفاده می‌باشد.
- کلیه محلول‌های کیت آماده مصرف هستند، فقط محلول شستشوی غلیظ **(20x)** قبل از استفاده نیاز به رقیق‌سازی دارد.
- اجزای اختصاصی این کیت برای مصرف با اجزای هم سری ساخت کیت ارائه شده‌اند.
- اجزای عمومی کیت شامل محلول‌های شستشو، رنگ زا و متوقف‌کننده می‌باشند که برای سایر محصولات دیازیست نیز قابل استفاده هستند.
  به‌منظور رقیق‌سازی نمونه می‌بایست از "محلول استاندارد صفر" کیت مربوطه، استفاده گردد.
- جهت کاهش پدیده تأخیری، ضرورت دارد زمان انجام مرحله اول تست در کمتر از ۱۰ دقیقه انجام شود.
- توصیه می‌شود در هر تست استانداردها جهت رسم منحنی استفاده شوند، همچنین درصورتی که همزمان بیش از یک پلیت تست گذاشته شود، رسم منحنی برای هر پلیت ضروری است.
- کالیبره بودن ابزارها و دستگاه‌ها در صحت نتایج اثرگذار است.
- جهت ساخت اجزای این کیت از مواد شیمیایی و زیستی استفاده شده است. لذا توصیه می‌شود هنگام کار از تماس مستقیم با مواد پرهیز شود.

محتویات کیت

اجزای تشکیل دهنده کیت ۹۶ تستی FreePSA به شرح زیر می باشد:

ردیف	نام اجزاء	مقدار/تعداد
۱	پلیت پوشانده شده با آنتی‌بادی مونوکلنال ضد Free PSA (Anti- Free PSA Antibody Coated Microtiter Plate)	1/96 wells
۲	استاندارد صفر (Standard A)	1/4 ml
۳	استانداردهای B-G (Standards B-G) کالیبراسیون بر مبنای استاندارد WHO (1st IS 96/668)	6/1.5 ml
۴	کنترل پایین و بالا (Controls Low & High) کالیبراسیون بر مبنای استاندارد WHO (1st IS 96/668)	2/1.5 ml
۵	بافر رقیق‌کننده (Assay Buffer)	1/6 ml
۶	محلول شستشوی غلیظ (Concentrated Wash Buffer)	1/25 ml
۷	محلول آنزیم (HRP) کونژوگه شده به آنتی‌بادی ضد Free PSA (Anti-Free PSA Antibody- HRP Conjugate)	1/12 ml
۸	محلول رنگ زا (TMB Substrate)	1/12 ml
۹	محلول متوقف‌کننده (Stop Solution)	1/12 ml

شرایط نگهداری و پایداری

- کیت را در دمای **۸-۲** درجه سانتیگراد نگهداری کنید.
- پایداری کیت در دمای **۸-۲** درجه سانتیگراد، قبل از شروع استفاده **(In Shelf)** و حین استفاده**(In use)** بر مبنای استاندارد **CLSI (EP25-A)** [۵] بررسی گردید که نتایج به شرح زیر می‌باشد:

قبل از شروع استفاده (In Shelf)	تا پایان تاریخ انقضا
حین استفاده (In use)	تا ۶ ماه

جمع آوری و آماده‌سازی نمونه‌ها

نمونه مورد نیاز جهت اندازه‌گیری Free PSA، سرم یا پلاسمای به‌دست آمده با مواد ضد انعقاد هپارین، سیترات سدیم و EDTA می‌باشد. جهت پایداری نمونه‌ها ازسدیم ازاید **(Sodium Azide)** استفاده نشود. نمونه ها در دمای **۸-۲** درجه سانتیگراد تا **۴** روز و در دمای **۲۰-** درجه سانتیگراد تا شش ماه قابل نگهداری هستند. [۶] از ذوب شدن و یخ زدن مکرر نمونه‌ها پرهیز نمایید. جهت اندازه‌گیری Free PSA نمونه‌های منجمد شده، ابتدا نمونه را در دمای اتاق ذوب و بعد با حرکت دست یکنواخت نمایید. در صورتی که غلظت نمونه‌ای بیش از آخرین استاندارد باشد، جهت اندازه گیری دقیق آنالیت، ابتدا نمونه را با **"محلول استاندارد صفر"** رقیق و نمونه رقیق شده را مجدد تست کنید. در محاسبه غلظت نهایی این نمونه ها، ضریب رقت را منظور نمایید.
از آنجا که بعد از نمونه برداری پروستات با استفاده از سونوگرافی و بررسی پروستات با توشه رکتال مقدار PSA افزایش می یابد توصیه می گردد اندازه گیری PSA قبل از هر عملی که موجب افزایش غلظت آن می شود، انجام گیرد.[۷]

کیت سنجش Free PSA

DiaZist

مواد و وسایل لازم که همراه کیت عرضه نمی شوند

- دستگاه الایزا ریدر دارای فیلتر ۴۵۰ و۶۳۰ نانومتر کالیبر شده
- سمپلرهای ۱۰۰، و ۵۰ میکرولیتر کالیبر شده
- سرسمپلرهای یک‌بار مصرف
- آب مقطر برای رقیق سازی محلول شستشوی غلیظ

روش انجام تست

قبل از انجام تست:

- تمام مواد و نمونه ها را به دمای اتاق (۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد) برسانید.
- برای تهیه محلول شستشوی قابل مصرف، یک حجم محلول شستشوی غلیظ(20x) را با ۱۹ حجم آب مقطر رقیق نمایید.

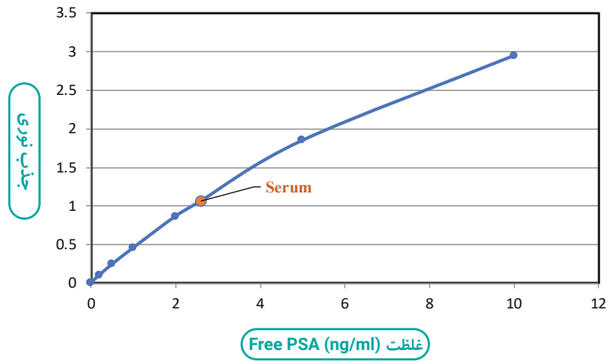
مراحل انجام تست :

۱. ۱۰۰ میکرولیتر از هر استاندارد، کنترل و نمونه سرم به چاهک مربوطه بریزید.
۲. ۵۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده به هر چاهک اضافه نمایید و پلیت را ۱۵ ثانیه تکان دهید.
۳. روی چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پوشانده و مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار دهید.
۴. چاهک‌ها را ۴ بار با ۳۰۰ میکرولیتر محلول شستشو بشویید.
۵. به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر محلول آنزیم کونژوگه اضافه نمایید.
۶. روی چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پوشانده و مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار دهید.
۷. چاهک‌ها را ۴ بار با ۳۰۰ میکرولیتر محلول شستشو بشویید.
۸. به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر محلول رنگ زا اضافه نمایید و پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار دهید.
۹. به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده اضافه نمایید و بعد از مخلوط کردن به مدت ۱۵ ثانیه، میزان جذب نوری را در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دیفرانسیل ۶۳۰ نانومتر، حداکثر تا ۱۵ دقیقه بعد از افزودن محلول متوقف کننده، بخوانید.

محاسبه نتایج

غلظت Free PSA نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد (رسم به‌صورت دستی یا دستگاه الایزا ریدر) تعیین می‌گردد. در این منحنی جذب نوری استانداردها را در طول موج ۴۵۰ نانومتر بر روی محور عمودی (Y) و غلظت آن‌ها را بر حسب ng/ml بر روی محور افقی (X) مشخص کنید و بر اساس آن منحنی را رسم نمایید. با استفاده از منحنی ترسیم شده و جذب نوری بدست آمده از نمونه، غلظت FreePSA آن قابل محاسبه می‌باشد. جدول و نمودار زیر به عنوان مثال ارائه شده است.

نمونه	جذب نوری	میانگین جذب نوری	غلظت Free PSA (ng/ml)
استاندارد A	۰/۰۱۹	۰/۰۱۶	۰
	۰/۰۱۳		
استاندارد B	۰/۱۱۸	۰/۱۱۳	۰/۲
	۰/۱۰۸		
استاندارد C	۰/۲۴۸	۰/۲۵۴	۰/۵
	۰/۲۶۰		
استاندارد D	۰/۴۷۴	۰/۴۶۶	۱
	۰/۴۵۸		
استاندارد E	۰/۸۲۱	۰/۸۷۵	۲
	۰/۹۲۹		
استاندارد F	۱/۸۵۲	۱/۸۵۶	۵
	۱/۸۶۰		
استاندارد G	۲/۹۳۲	۲/۹۵۲	۱۰
	۲/۹۷۲		
کنترل پایین	۰/۲۴۱	-	۰/۴۷
کنترل بالا	۱/۸۹۸	-	۵/۱۰
سرم	۱/۰۷۰	-	۲/۵۹



کنترل کیفی

تست در صورتی تأیید می‌گردد که:

- جذب نوری استاندارد صفر کمتر از ۰/۰۹ باشد.
- جذب نوری استاندارد آخر بیش از ۱/۴ باشد.
- خوانش کنترل‌های پایین و بالای کیت در محدوده مورد قبول باشد.
- توصیه می‌گردد جهت حصول اطمینان از نتایج کیت، علاوه بر کنترل‌های ارائه شده در کیت، به صورت دوره‌ای از کنترل‌های دقت و صحت تجاری نیز استفاده گردد. بدیهی است نتایج بدست آمده بایستی در محدوده مورد قبول قرائت گردد.

تداخل‌ها و محدودیت‌ها

- اثر تداخلی بیلی روبین (تا ۲۰ mg/dl)، هموگلوبین (تا ۵۰۰ mg/dl)، تری گلیسیرید (تا ۳۰۰۰ mg/dl) و فاکتورهای روماتوئید(تا ۱۵۰۰ IU/ml) در سرم کمتر از ۵٪ می باشد.
- در این کیت برای نمونه‌های رقیق نشده تا غلظت ۲۰ µg/ml اثر هوک دیده نشد.
- نمونه سرم یا پلاسمای افرادی که سابقه درمان یا تشخیص بیماری با مواد حاوی آنتی‌بادی مونوکلنال موش داشته‌اند، می‌تواند حاوی آنتی بادی‌های انسانی ضد موش (HAMA) باشد. با توجه به غلظت آنتی‌بادی و مواد بازدارنده مورد استفاده در این کیت، واکنش‌های تداخلی غیر اختصاصی به حداقل رسیده و تا کنون واکنش مثبت کاذب مشاهده نشده است.
- در موارد نادری به دلیل پیدایش ایزوفرمهای جدید PSA در سرم بیمار، غلظت بدست آمده از روشهای مختلف لزوماً بر هم منطبق نیستند، لذا ضروری است آزمایشگاه ضمن اعلام روش سنجش بکار رفته در تعیین غلظت Free PSA به پزشک، در صورت تغییرآن تطابق عددی دو روش را پیش از تغییر، برای بیماران تعیین نماید.
- جهت تعیین صحیح درصد Free PSA به Total PSA ضروری است تعیین غلظت این دو با کیتهای تولید شده توسط سازنده واحد انجام شود.
- محدوده قابل اندازه‌گیری غلظت Free PSA با این کیت تا ۱۰ ng/ml – ۰/۱ می‌باشد.

مقادیر طبیعی

با تعیین غلظت Free PSA، ۳۰۰ نمونه مرد سالم بین ۷۰-۴۰ سال، مقادیر طبیعی Free PSA ارزیابی گردید. نتایج بدست آمده از این نمونه ها با ۹۵٪ حدود اطمینان (95% CI) کمتر از ۰/۹۵ ng/ml با میانگین ۰/۴۷ ng/ml می باشد.

تعیین غلظت این تومور مارکر به تنهایی ارزش بالینی نداشته و جهت تشخیص افتراقی بین هایپرپلازی خوش خیم پروستات و سرطان پروستات (PCA) از نسبت Free PSA/Total PSA برحسب درصد، طبق فرمول زیر، استفاده می گردد: [۱,۲]

$$\frac{\text{غلظت Free PSA (ng/ml)}}{\text{غلظت Total PSA (ng/ml)}} \times ۱۰۰$$

در ارزیابی های انجام شده جهت تعیین احتمال سرطان پروستات درصدFree PSA برابر با ۲۵ به عنوانCut off در نظر گرفته می شود. این نسبت می تواند به صورت قابل ملاحظه ای مانع از بیوپسی های غیر ضروری (Specificity) گردد.

همانگونه که در جدول زیر آمده است، در مواردی که غلظت Total PSA بین ۴-۱۰ ng/ml و DREمنفی گزارش گردیده است با در نظر گرفتن این Cut off، ۹۸-۹۰ درصد از بیماران مبتلا به سرطان پروستات (Sensitivity) شناسایی می شوند. لازم به یادآوری است که تایید قطعی بدخیمی صرفاً بعد از گزارش نمونه برداری و تعیین درجه گلیسون امکان پذیر است. [۱,۲,۸]

کیت سنجش Free PSA

DiaZist

گروه سنی [۸]	% Free PSA Cut off	Sensitivity%	Specificity%
۵۹-۵۰	≤۲۵	۹۸	۱۱
۶۹-۶۰	≤۲۵	۹۴	۱۹
۷۵-۷۰	≤۲۵	۹۰	۳۴

قابل ذکر است که مقادیر طبیعی ذکر شده یک راهنمای کلی است و با توجه به اینکه غلظت Free PSA سرم وابسته به سن، نژاد و رژیم غذایی است [۹]، توصیه می گردد هر آزمایشگاه با اندازه گیری غلظت Free PSA افراد سالم، درصد Free PSA افراد سالم، مبتلا به هایپرپلازی خوش خیم و سرطان پروستات منطقه خود، محدوده طبیعی مرجع خود را تعیین و از آن برای تفسیر نتایج استفاده نماید.

ویژگی‌های اختصاصی کیت

۱. حساسیت: حداقل غلظت قابل اندازه گیری Free PSA که از نمونه فاقد آنالیت قابل تمایز باشد را حساسیت گویند. این مقدار که بر اساس میانگین غلظت استاندارد صفر بعلاوه دو برابر انحراف معیار محاسبه گردیده است (**بدست آمده از ۱۰ تست**)، ۰/۱ ng/ml می‌باشد.

۲. صحت: غلظتFree PSA، ۳۸۰ نمونه تصادفی با کیت دیازیست و روش مرجع (ELFA) اندازه گیری شد. نتایج بدست‌آمده از مقایسه دو روش ضریب همبستگی خطی (r) ۰/۹۹ را نشان می‌دهد. غلظت نمونه‌ها با کیت دیازیست بین ۰/۱ ng/ml تا ۸/۷۸ و با روش مرجع ۰/۱ ng/ml تا ۸/۸۰ بود. نتایج مقایسه دو روش به شرح زیر است:

روش	تعداد نمونه	غلظت نمونه ها (ng/ml)	Intercept	Slope
Passing/Bablok	۳۸۰	۰/۱-۹	۰/۰	۱/۰
Linear Regression	۳۸۰	۰/۱-۹	۰/۰۲	۰/۹۸

۳. دقت: شاخص دقت این کیت بر مبنای استاندارد CLSI (EP5-A2) [۱۰] ارزیابی گردیده است. بدین منظور میزان Free PSA ۳ نمونه سرمی با غلظت‌های مختلف اندازه‌گیری و انحراف معیار و ضریب تغییرات محاسبه گردید که در جدول زیر آمده است:

شماره نمونه	تعداد سنجش	میانگین غلظت (ng/ml)	Within Run		Total	
			SD	٪CV	SD	٪CV
۱	۶۰	۰/۸۰	۰/۰۳	۴/۱۲	۰/۰۳	۴/۱۴
۲	۶۰	۱/۶۱	۰/۰۸	۵/۱۰	۰/۰۸	۵/۱۷
۳	۶۰	۴/۱۸	۰/۲۵	۵/۹۲	۰/۲۶	۶/۱۸

۴. خطی بودن: به منظور بررسی صحت اندازه‌گیری نمونه‌های با غلظت بالای ULoQ (upper limit of quantitation) تست خطی بودن این کیت بر مبنای استاندارد CLSI(EP34)[۱۱] انجام گردید. بدین منظور نمونه سرم با غلظت ۸/۱۳ ng/ml با "محلول فاقد آنالیت" به صورت متوالی رقیق شد سپس غلظت‌ها با کیت Free PSA اندازه‌گیری گردید. درصد ریکاوری رقت که شاخص میزان دقت رقت‌گیری می باشد، طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\frac{\text{غلظت اندازه‌گیری شده (ng/ml)}}{\text{غلظت مورد انتظار (ng/ml)}} \times ۱۰۰$$

(محدوده درصد ریکاوری بدست آمده بین ۹۸/۳ تا ۱۰۷ است)

رقت	غلظت مورد انتظار (ng/ml)	غلظت اندازه‌گیری شده (ng/ml)	٪ ریکاوری
۱:۲	۴/۰۶	۳/۹۹	۹۸/۳
۱:۴	۲/۰۳	۲/۰۳	۱۰۰
۱:۸	۱/۰۱	۱/۰۸	۱۰۷
۱:۱۶	۰/۵۰	۰/۵۱	۱۰۲

۵. بازیابی: به‌منظور بررسی اثر ماتریکس، تست بازیابی این کیت بر مبنای استاندارد CLSI (EP34)[۱۱] انجام گردید. بدین منظور مقادیر متفاوتی از نمونه حاوی Free PSA با غلظت بالا (۳/۴۹ng/ml) به نمونه مورد بررسی حاوی Free PSA با غلظت پایین (۰/۵۹ng/ml) افزوده شد. سپس غلظت نمونه‌ها با کیت Free PSA اندازه‌گیری گردید و درصد ریکاوری که شاخص میزان دقت بازیابی می‌باشد، طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\frac{a-b}{c} \times 100$$

a: غلظت اندازه‌گیری‌شده نمونه مورد بررسی بعد از افزودن آنالیت

b: غلظت اندازه‌گیری‌شده نمونه مورد بررسی بعد از افزودن محلول رقیق‌کننده

C: غلظت آنالیت افزوده شده

(درصد ریکاوری بدست آمده بین ۹۴/۵ تا ۹۹/۱ است)

٪ ریکاوری	c (ng/ml)	b (ng/ml)	a (ng/ml)
۹۴/۵	۰/۱۶۶	۰/۵۱۷	۰/۶۷۴
۹۶/۵	۰/۳۱۷	۰/۴۶۸	۰/۷۷۴
۹۹/۱	۰/۵۸۱	۰/۴۳۸	۱/۰۱۴
۹۸/۳	۰/۹۹۷	۰/۳۱۴	۱/۲۹۴

منابع

1. Sung Kyu Hong. Kallikreins as biomarkers for prostate cancer. BioMed Research International. April, 2014.
2. Gilgunn S, *et al*. Aberrant PSA glycosylation—a sweet predictor of prostate cancer. Nat. Rev. Urol. 10, 99–107, 2013.
3. Can Hekim. hK2 and PSA: Functions and targets for treatment of prostate cancer. Faculty of Medicine, University of Helsinki Finland. February, 2012.
4. Southwick P.C. The role of free PSA in the detection of prostate cancer. Laboratory medicine. 32, 5, 2001.
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of Stability of *In Vitro* Diagnostic Reagents; Approved Guideline – First Edition. NCCLS Document EP25-A. 2009.
6. Kumari G. R, Malati T. Stability of total and free PSA in serum samples at different storage conditions. Indian Journal of Clinical Biochemistry. 19:10-13, 2004.
7. Djavan B, *et al*. PSA progression following radical prostatectomy and radiation therapy, 43: 12-27, 2003
8. Catalona W. J, *et al*. Use of the percentage of Free PSA to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease. American Medical Association. 279; 19, 1998.
9. Xin Liu, et al. Reference ranges of age-related PSA in men without cancer from Beijing area. Iranian J Publ Health, 42, 2013
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline – Second Edition. NCCLS Document EP5-A2. 2004.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Establishing and Verifying an Extended Measuring Interval Through Specimen Dilution and Spiking – First Edition. EP34. 2018.

تهران،خیابان سهروردی شمالی،خیابان افشار جوان،پلاک ۲، واحد ۱۰
تلفن ویژه: ۷۲۴۵۷-۰۲۱
office@garnimed.com
www.garnimed.com

Published: Dec. 2018