



(12)发明专利申请



(10)申请公布号 CN 109387625 A

(43)申请公布日 2019.02.26

(21)申请号 201810764941.0

G01N 21/76(2006.01)

(22)申请日 2018.07.12

G01N 33/68(2006.01)

(30)优先权数据

17184389.9 2017.08.02 EP

(71)申请人 西门子医学诊断产品有限责任公司

地址 德国马尔堡

(72)发明人 哈拉尔德·阿尔特豪斯

赫伯特·施瓦茨 诺贝特·桑德尔

(74)专利代理机构 北京康信知识产权代理有限

责任公司 11240

代理人 沈敬亭 张晓影

(51)Int.Cl.

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

G01N 33/536(2006.01)

权利要求书2页 说明书6页

(54)发明名称

用于诊断肝素诱导性血小板减少症的结合
分析法

(57)摘要

本发明涉及用于诊断肝素诱导性血小板减少症的结合分析法,属于体外诊断领域,并且具体涉及用于建立肝素诱导性血小板减少症的易于自动化的结合分析法,该结合分析法使用了Fc γ RIIa蛋白涂覆的粒子。

1. 一种用于检测体液样品中抗PF4/肝素复合物抗体的方法,所述方法包括以下步骤:
 - i. 通过将所述样品与以下物质混合提供反应混合物:
 - 肝素或PF4结合的无支链多糖或PF4结合的聚阴离子,或
 - PF4/肝素复合物或由PF4与无支链多糖或聚阴离子构成的复合物,和
 - 颗粒固相;以及
 - ii. 测量所述反应混合物中所述颗粒固相的凝集;
 - iii. 将由此测量的所述反应混合物中的凝集与含有来自已知不含抗PF4/肝素复合物抗体的供体体液样品的反应混合物中的凝集的预定参考值进行比较;和
 - iv. 当所述反应混合物中测定的凝集超过所述参考值时,确定所述样品中抗PF4/肝素复合物抗体的存在,其特征在在于,所述颗粒固相涂覆有分离的Fc γ RIIa蛋白。
2. 根据权利要求1所述的方法,其中光度测量所述反应混合物中所述颗粒固相的凝集。
3. 根据权利要求1所述的方法,其中所述颗粒固相的第一部分与信号形成系统的第一组分结合,以及所述颗粒固相的第二部分与所述信号形成系统的第二组分结合,并且其中所述信号形成系统的所述第一组分和所述第二组分相互作用,使得在所述信号形成系统的所述第一组分和所述第二组分彼此紧密靠近时形成可检测信号,并且基于所形成的信号测量所述反应混合物中所述颗粒固相的凝集。
4. 根据权利要求3所述的方法,其中所述信号形成系统的所述第一组分是化学发光剂以及所述信号形成系统的所述第二组分是光敏剂,反之亦然,并且其中测量所述反应混合物中的化学发光。
5. 一种用于诊断肝素诱导性血小板减少症的方法,其中使用权利要求1至4中任一项所述的方法检测来自患者的体液样品中抗PF4/肝素复合物抗体的存在。
6. 一种用于实施权利要求1至5中任一项所述的方法的分析试剂盒,包含以下组分:
 - a. 第一试剂,含有肝素、PF4结合的无支链多糖或PF4结合的聚阴离子,或PF4/肝素复合物或由PF4与无支链多糖或聚阴离子构成的复合物;和
 - b. 第二试剂,含有涂覆有分离的Fc γ RIIa蛋白的颗粒固相。
7. 根据权利要求6所述的分析试剂盒,进一步包含以下组分:
 - c. 第三试剂,含有涂覆有分离的Fc γ RIIa蛋白的颗粒固相,其中,所述第二试剂的所述颗粒固相与信号形成系统的第一组分结合,以及所述第三试剂的所述颗粒固相与所述信号形成系统的第二组分结合,并且其中所述信号形成系统的所述第一组分和所述第二组分相互作用使得在所述信号形成系统的所述第一组分和所述第二组分彼此紧密靠近时形成可检测信号。
8. 根据权利要求7所述的分析试剂盒,其中所述信号形成系统的所述第一组分是化学发光剂,以及所述信号形成系统的所述第二组分是光敏剂,反之亦然。
9. 根据权利要求6至8中任一项所述的分析试剂盒,其中所述颗粒固相是乳胶粒子。
10. 根据权利要求6至9中任一项所述的分析试剂盒,其中存在于所述第一试剂中的所述肝素、PF4结合的无支链多糖或PF4结合的聚阴离子,或存在于所述第一试剂中的所述

PF4/肝素复合物或所述由PF4与无支链多糖或聚阴离子构成的复合物,与另外的颗粒固相、优选乳胶粒子偶联。

用于诊断肝素诱导性血小板减少症的结合分析法

技术领域

[0001] 本发明属于体外诊断领域,并且涉及用于确定肝素诱导性血小板减少症的易于自动化的结合分析法,该结合分析法使用涂覆有Fc γ RIIa蛋白的粒子。

背景技术

[0002] 肝素诱导性血小板减少症(HIT)是一种血栓形成障碍症,其可能在肝素治疗期间出现,并可能导致危及生命的血栓栓塞并发症。受影响的患者产生结合由肝素和血小板因子4(PF4)构成的复合物的抗体,所谓的抗PF4/肝素复合物抗体。在体内,抗体结合的PF4/肝素复合物与凝血细胞(thrombocyte)表面结合并导致凝血细胞活化。这会导致凝血细胞计数减少和血栓栓塞风险增加。

[0003] 两种分析原理主要用于HIT诊断。第一种分析原理基于来自患者的体液样品中的抗PF4/肝素复合物抗体的直接检测。为此,将样品与PF4/肝素复合物或由PF4和另一种合适的聚阴离子(如,例如,聚乙烯磺酸盐)构成的复合物接触,使用常规免疫学分析方法(例如,ELISA)测量样品中存在的任何抗-PF4/肝素复合物抗体的结合。然而,缺点在于,虽然抗PF4/肝素复合物抗体的检测是灵敏的,但它不是完全特异性的,即抗体的检测不足以用于阳性HIT诊断,而阴性结果会适当可靠地排除HIT。因此,推荐通过基于第二分析原理的功能性分析法进行确证。

[0004] 第二功能性分析原理基于抗PF4/肝素复合物抗体的凝血细胞活化作用的检测。在所述分析原理中,将来自一个或多个正常供体的经洗涤的凝血细胞与来自患者的血浆或血清样品和肝素混合,并且基于已知的活化标记如例如基于释放血清素(serotonin)的量(5-羟色胺释放分析法),或基于凝血细胞的可视识别的凝集反应(HIPA分析法)测量凝血细胞活化作用。如果患者样品含有抗PF4/肝素复合物抗体,则有可能确定与正常样品(无此类抗体)相比升高的凝血细胞活化作用。

[0005] 基于凝血细胞的功能性分析法具有的缺点是凝血细胞必须在复杂的手工方法中制备,并且由于其保质期不充分而只能使用新鲜的凝血细胞。另外,总是需要使用来自多个供体的凝血细胞的混合物,才能补偿各个血凝血细胞制剂之间的生物学差异,由此允许一定的标准化。

发明内容

[0006] 本发明的一个目的是提供一种用于检测体液样品中抗PF4/肝素复合物抗体的方法,该方法避免了上述缺点,特别是凝血细胞的使用。

[0007] 据发现,在通过将样品与肝素或PF4/肝素复合物和颗粒固相混合并测量颗粒固相的凝集的反应混合物中,当颗粒固相涂覆有分离的Fc γ RIIa蛋白时能够确定抗-PF4/肝素复合物抗体在样品中的存在。

[0008] 因此,本发明提供了一种用于检测体液样品中抗-PF4/肝素复合物抗体的方法。该方法包括以下步骤:

- [0009] i. 通过将样品与以下物质混合而提供反应混合物:
- [0010] • 肝素或PF4结合的无支链多糖或PF4结合的聚阴离子, 或
- [0011] • PF4/肝素复合物或由PF4与无支链多糖或聚阴离子构成的复合物, 和
- [0012] • 颗粒固相;
- [0013] ii. 测量反应混合物中颗粒固相的凝集;
- [0014] iii. 将由此测量的反应混合物中的凝集与含有来自已知不含抗-PF4/肝素复合物抗体的供体的体液样品的反应混合物中的凝集的预定参考值进行比较; 和
- [0015] iv. 当反应混合物中测定的凝集超过参考值时, 确定样品中抗PF4/肝素复合物抗体的存在,
- [0016] 其中颗粒固相涂覆有分离的Fc γ RIIa蛋白。
- [0017] 体液样品优选来源于人。优选地, 体液样品是基本上不含凝血细胞并且具体而言是血浆或血清的样品。
- [0018] 体液样品能够与PF4结合的无支链多糖或与PF4结合的聚阴离子混合。与PF4形成的多种PF4-结合物质, 通过要检测的抗-PF4/肝素复合物抗体结合的复合物, 是已知的。合适的无支链多糖是例如肝素、未分级肝素 (UFH)、分级肝素 (LMWH)、硫酸葡聚糖和岩藻依聚糖 (fucoidan)。合适的聚阴离子是例如聚乙烯硫酸盐、聚乙烯磺酸盐、聚乙烯磷酸盐、聚乙烯膦酸盐、聚苯乙烯硫酸盐和聚苯乙烯磺酸盐。
- [0019] 可替换地, 体液样品能够与PF4/肝素复合物或与由PF4与无支链多糖或聚阴离子构成的复合物混合。
- [0020] 此外, 样品与涂覆有分离的Fc γ RIIa蛋白的颗粒固相混合。
- [0021] 在本发明的上下文中, 术语“颗粒固相”应该理解为意指近似直径为至少20nm且不大于20 μ m, 通常200nm至350nm, 优选250nm至320nm, 特别优选270nm至290nm, 非常特别优选280nm的非细胞颗粒。微粒可以是规则或不规则的形状。它们可以是球体 (sphere)、椭球体 (spheroid)、具有或多或少的大空腔或孔道的球体。微粒能够由有机材料、无机材料或二者的混合物或组合而构成。它们能够由多孔或无孔的、可膨胀或不可膨胀的材料构成。原则上, 微粒能够具有任何密度, 但优选密度接近水密度的粒子, 如约0.7~约1.5g/ml。优选的微粒可悬浮于水溶液中并且尽可能长时间悬浮稳定。它们可以是透明的、部分透明的或不透明的。微粒能够由多个层构成如例如, 包含芯和一个或多个包封层的所谓“核-壳”粒子。术语微粒涵盖例如染料晶体、金属溶胶、二氧化硅粒子、玻璃粒子和磁性粒子。优选的微粒是可悬浮于水溶液中并由水不溶性聚合物材料构成的粒子, 具体而言是由取代的聚乙烯构成的粒子。非常特别优选的是乳胶粒子, 例如, 由聚苯乙烯、丙烯酸聚合物、甲基丙烯酸聚合物、丙烯腈聚合物、丙烯腈丁二烯苯乙烯、聚乙酸乙烯酯丙烯酸酯、聚乙烯吡啶、氯乙烯丙烯酸酯构成的乳胶粒子。特别感兴趣的是在其表面上具有反应性基团如例如羧基、氨基或醛基的乳胶粒子, 该反应性基团允许分离的Fc γ RIIa蛋白与乳胶粒子共价结合。在本发明的上下文中, 术语“微粒固相”明确不涵盖人、动物、植物或真菌细胞或细菌。
- [0022] 术语“分离的Fc γ RIIa蛋白”应理解为是指重组或合成产生的Fc γ RIIa蛋白或天然Fc γ RIIa蛋白, 即来自天然来源, 例如, 由人类白细胞纯化的蛋白。适用于生产重组Fc γ RIIa蛋白的是已知的原核或真核表达系统, 如例如, 在细菌 (例如, 大肠杆菌) 中, 在酵母 (例如, 酿酒酵母, 巴斯德毕赤酵母) 中, 在植物、动物或人细胞培养物中的表达。适用于合成Fc

γ RIIa蛋白的生产是用于体外蛋白合成的已知技术,例如,固相合成(例如,梅里菲尔德合成)。优选地,在根据本发明的方法中使用的Fc γ RIIa蛋白是重组产生的Fc γ RIIa蛋白,其产生于人类细胞的培养物中,优选人类胚胎肾细胞(HEK细胞)的培养物中。

[0023] Fc γ RIIa蛋白(同义词:CD32a蛋白)优选是人Fc γ RIIa蛋白。术语“Fc γ RIIa蛋白”不仅涵盖完整的Fc γ RIIa蛋白,而且还涵盖能够结合至由PF4/肝素复合物和由其结合的抗PF4/肝素复合物抗体组成的免疫复合物的完整Fc γ RIIa蛋白的片段。术语“Fc γ RIIa蛋白”进一步不仅涵盖野生型Fc γ RIIa蛋白或其片段,而且还涵盖具有一个或多个能够结合PF4/肝素复合物的氨基酸取代基如例如人Fc γ RIIa蛋白的位置131处的已知取代的Fc γ RIIa蛋白。Fc γ RIIa蛋白或Fc γ RIIa蛋白片段能够在N-端与异源信号序列融合,即与通常不存在于人Fc γ RIIa蛋白中却在所选择的表达系统中对重组表达的Fc γ RIIa蛋白的表达和/或分泌产生积极影响的多肽融合。此外,Fc γ RIIa蛋白或Fc γ RIIa蛋白片段能够在C端与一个或多个允许将例如重组表达的蛋白结合于亲和支持物的亲和标签融合,允许例如重组表达的Fc γ RIIa蛋白的纯化。优选的是长度不超过12个氨基酸的小亲和标签。特别优选的是来自由His-标签、Flag-标签、Arg-标签、c-Myc-标签和Strep-标签组成的组中的亲和标签。以高亲和力结合至亲和标签的合适亲和支持物有例如特异性抗体、固定的阳离子(例如,对His-标签具有亲和力的 Ni^{2+})或其他类型的结合配偶体(例如,对Strep-标签具有亲和力的链霉亲和素)。

[0024] 如果体液样品含有抗PF4/肝素复合物抗体,则这些在反应混合物中结合至PF4/肝素复合物。形成的免疫复合物被Fc γ RIIa蛋白结合并引起反应混合物中颗粒固相的凝集。

[0025] 反应混合物中颗粒固相的凝集的测量能够光度例如比浊法或浊度法进行。自约1920年以来就已知有基于粒子增强光散射原理的结合分析法(对于综述,参见Newman, D.J.et al., Particle enhanced light scattering immunoassay. Ann Clin Biochem 1992;29:22-42)。就此而言,优选使用直径为0.1~0.5 μm ,特别优选直径为0.15~0.35 μm 的聚苯乙烯颗粒。优选使用具有胺、羧基或醛官能团的聚苯乙烯颗粒。进一步优选使用壳/核颗粒。颗粒的合成和配体的共价偶联例如描述于Peula, J.M.et al., Covalent coupling of antibodies to aldehyde groups on polymer carriers. Journal of Materials Science:Materials in Medicine 1995;6:779-785中。

[0026] 可替换地,反应混合物中颗粒固相凝集的测量能够通过信号形成系统的第一和第二组分彼此紧密接近时测量由信号形成系统产生的信号而进行。就此而言,颗粒固相的第一部分与信号形成系统的第一组分结合,而颗粒固相的第二部分与信号形成系统的第二组分结合,其中信号形成系统的第一和第二组分相互作用使在信号形成系统的第一和第二组分彼此紧密靠近时形成可检测的信号,而反应混合物中颗粒固相的凝集则基于形成的信号进行测量。

[0027] 在根据本发明的方法的该实施方式中,信号形成系统包括至少一个第一组分和至少一个第二组分,它们相互作用使得在它们彼此紧密靠近并能够因此彼此相互作用时形成可检测信号。组分之间的相互作用尤其应该理解为能量传递,即组分之间能量的直接转移,例如通过光或电子辐射以及还通过反应性化学分子,如例如短活的单线态氧。能量传递能够从一个组分向另一个组分进行,但是能量传递穿过不同物质的级联也是可能的。例如,组分能够由能量供体和能量受体例如如光敏剂和化学发光剂(EP-A2-0515194, LOCI[®]技术)

或光敏剂和荧光团 (WO 95/06877) 或放射活性碘^{<125>}和荧光团 (Udenfriend et al. (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. 82:8672-8676) 或荧光团和荧光猝灭剂 (US 3,996,345) 组成的对。特别优选的是,信号形成系统的第一组分是化学发光剂,而信号形成系统的第二组分是光敏剂,或反之亦然,并测量了反应混合物中的化学发光。

[0028] 在测量反应混合物中的凝集(例如,通过测量反应混合物的吸收的最大变化)之后,将如此测量的凝集与预定的参考值进行比较。合适的参考值是在含有来自已知不含抗-PF4/肝素复合物抗体的供体的体液样品的反应混合物中用相同的方法测量(或已经预先测量)的凝集。通常,为了测量参考值,在来自已知不具有抗PF4/肝素复合物抗体的健康供体的多个样品中测量凝集,然后与来自患有HIT并具有抗PF4/肝素复合物抗体的供体的多个样品的凝集相比较。例如,参考值可以是允许区分具有抗PF4/肝素复合物抗体的样品和无抗体的那些样品的阈值。如果在反应混合物中测量的凝集超过参考值,则这就有可能确定样品中存在抗PF4/肝素复合物抗体。相反,如果反应混合物中测定的凝集低于该参考值,则这就有可能确定样品中不存在抗PF4/肝素复合物抗体。

[0029] 本发明进一步提供了一种用于诊断肝素诱导性血小板减少症的方法,其中根据本发明的方法用于检测来自患者的体液样品中抗PF4/肝素复合物抗体的存在。

[0030] 本发明另外进一步提供了一种用于实施根据本发明的方法的分析试剂盒。该分析试剂盒至少包含以下组分:

[0031] a. 含有肝素、PF4结合的无支链多糖或PF4结合的聚阴离子或PF4/肝素复合物或由PF4与无支链多糖或聚阴离子构成的复合物的第一试剂;和

[0032] b. 含有涂覆有分离的Fc γ RIIa蛋白的颗粒固相的第二试剂。

[0033] 第一试剂能够含有

[0034] • PF4结合的无支链多糖,优选来自自由肝素、未分级肝素、分级肝素、硫酸葡聚糖和岩藻依聚糖组成的组中;或

[0035] • PF4结合的聚阴离子,优选来自自由聚乙烯硫酸盐、聚乙烯磺酸盐、聚乙烯磷酸盐、聚乙烯膦酸盐、聚苯乙烯硫酸盐和聚苯乙烯磺酸盐组成的组;或

[0036] • PF4/肝素复合物;或

[0037] • 由PF4与无支链多糖或聚阴离子组成的复合物。

[0038] 第一和第二试剂旨在用于提供具有体液样品的反应混合物。

[0039] 在优选的分析试剂盒中,存在于第二试剂中的颗粒固相由乳胶粒子构成。这种分析试剂盒适用于通过光度法测量凝集。

[0040] 除了第一和第二试剂以外,分析试剂盒的另一个实施方式另外包含第三试剂,第三试剂同样包含涂覆有分离的Fc γ RIIa蛋白的颗粒固相。就此而言,第二试剂的颗粒固相与信号形成系统的第一组分结合,而第三试剂的颗粒固相与信号形成系统的第二组分结合,其中信号形成系统的第一和第二组分相互作用,使得在信号形成系统的第一和第二组分彼此紧密靠近时形成可检测的信号。优选信号形成系统的第一组分是化学发光剂,而信号形成系统的第二组分是光敏剂,反之亦然。这种分析试剂盒适用于通过化学发光测量法测量凝集。

[0041] 在分析试剂盒的又一个实施方式中,存在于第一试剂中的肝素、PF4结合的无支链多糖或PF4结合的聚阴离子或存在于第一试剂中的PF4/肝素复合物或由PF4与无支链多糖

或聚阴离子构成的复合物已经偶联于另一种颗粒固相,优选偶联于乳胶粒子。

[0042] 根据本发明的分析试剂盒的试剂能够以液体或冻干形式提供。如果分析试剂盒的一些或全部试剂以冻干物存在,则分析试剂盒能够另外含有溶解冻干物所需的溶剂,如例如,蒸馏水或合适的缓冲液。

[0043] 以下实施例用于举例说明本发明,而不应该理解为限制性的。

具体实施方式

[0044] 实施例

[0045] 实施例1:用于检测抗-PF4/肝素复合物抗体的均相结合分析

[0046] 通过在缓冲溶液中将分离自人凝血细胞浓缩物的PF4蛋白与未分级肝素(UFH)按照10 μ g PF4蛋白:0.2U/mL(UFH)的比率混合制备试剂1。可替换地,使用仅含有未分级肝素(UFH)(0.2U/mL)的试剂1。

[0047] 通过在缓冲溶液中将约1mg人Fc γ RIIa蛋白与1mL聚苯乙烯乳胶粒子(50mg/mL,粒径0.2~0.3 μ m)混合和温育制备试剂2。重复洗涤该颗粒后,然后将该颗粒重新悬浮于50mL缓冲溶液中。

[0048] 将20 μ L人血清样品与20 μ L包含PF4/肝素复合物的试剂1和80 μ L包含Fc γ RIIa蛋白涂覆的乳胶粒子的试剂2混合而形成反应混合物并在37 $^{\circ}$ C下温育。

[0049] 在BCS XP分析仪(Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH)中于570nm波长下测量反应混合物的光密度(OD)长达6分钟时间段,并将每分钟光密度的平均变化(Δ OD/min)确定为测量结果。

[0050] 使用根据本发明的凝集分析法测量来自5个HIT患者的血清样品,对于这些患者已经基于临床标准(4T得分,在一些情况下具有血栓形成事件)诊断出HIT,并使用两种独立的市售免疫分析法(HemosIL[®] AcuStar HIT-Ab(PF4-H),Instrumentation Laboratories,和Asserachrom[®] HPIA-IgG, Diagnostica Stago)确立抗-PF4/肝素复合物抗体的存在。

[0051] 此外,测量了来自4位健康供体(其没有临床HIT标准并且也没有抗PF4/肝素复合物抗体)和正常血浆库(来自健康供体的约20个血浆,“FNP”)的血清样品。

[0052] 缓冲液用作阴性对照。

[0053] 分析结果汇总在表1中。使用含有PF4/肝素复合物(PF4/肝素)的试剂1或仅含有肝素(肝素)的试剂1的分析结果存在区别。

[0054] 表1:根据本发明的凝集分析对于HIT诊断的结果

[0055]

	样品 ID	PF4/肝素 Δ OD/min [570 nm]	肝素 Δ OD/min [570 nm]
健康供体	N 050	0.038	0.021
	N 048	0.026	0.025
	N 038	0.041	0.063
	N 001i	0.054	0.043
	FNP	0.025	0.027
	阴性对照	0.024	0.022
HIT 患者	175390366	0.462	0.212
	47288928	0.457	0.247
	175419732	0.493	0.531
	66793	0.344	0.271
	74850	0.269	0.408

[0056] 据发现,根据本发明的两种凝集分析的结果使有可能从HIT-阳性患者中区分出健康的HIT阴性血液供体。在所有含有HIT患者样品的反应混合物中,有可能测量与健康供体相比显著升高的凝集。作为用于区分含有抗-PF4/肝素复合物抗体的样品与不含抗-PF4/肝素复合物抗体的样品的阈值(截止值),将有可能在两个现存的分析系统中选择出0.1的 Δ OD/min[570nm]。

[0057] 然而,对于截止值统计上的更准确定义,需要明显更多的样品测量值。

专利名称(译)	用于诊断肝素诱导性血小板减少症的结合分析法		
公开(公告)号	CN109387625A	公开(公告)日	2019-02-26
申请号	CN201810764941.0	申请日	2018-07-12
[标]申请(专利权)人(译)	西门子医学诊断产品有限责任公司		
申请(专利权)人(译)	西门子医学诊断产品有限责任公司		
当前申请(专利权)人(译)	西门子医学诊断产品有限责任公司		
[标]发明人	哈拉尔德·阿尔特豪斯 赫伯特·施瓦茨 诺贝特·桑德尔		
发明人	哈拉尔德·阿尔特豪斯 赫伯特·施瓦茨 诺贝特·桑德尔		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/531 G01N33/536 G01N21/76 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/6854 G01N33/6893 G01N2800/222 G01N2800/226 G01N33/54313 G01N21/76 G01N33/531 G01N33/536 G01N33/6803 G01N2333/46		
代理人(译)	张晓影		
优先权	2017184389 2017-08-02 EP		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及用于诊断肝素诱导性血小板减少症的结合分析法，属于体外诊断领域，并且具体涉及用于建立肝素诱导性血小板减少症的易于自动化的结合分析法，该结合分析法使用了FcγRIIa蛋白涂覆的粒子。

	样品 ID	PF4/肝素 △ OD/min [570 nm]	肝素 △ OD/min [570 nm]
健康供体	N 050	0.038	0.021
	N 048	0.026	0.025
	N 038	0.041	0.063
	N 001i	0.054	0.043
	FNP	0.025	0.027
	阴性对照	0.024	0.022
HIT 患者	175390366	0.462	0.212
	47288928	0.457	0.247
	175419732	0.493	0.531
	66793	0.344	0.271
	74850	0.269	0.408