

• 医药生物技术 •

## SPR 蛋白质芯片在输入性疟疾筛查中的应用

陈凡<sup>1</sup>, 何建安<sup>2</sup>, 董瑞玲<sup>2</sup>, 杨凡<sup>1</sup>, 刘厚明<sup>3</sup>, 顾大勇<sup>4</sup>, 王伟<sup>4</sup>

1 湖北大学 生命科学学院 省部共建生物催化与酶工程国家重点实验室, 湖北 武汉 430062

2 深圳市国际旅行卫生保健中心, 广东 深圳 518033

3 深圳市第三人民医院检验科, 广东 深圳 518112

4 深圳大学第一附属医院检验科 深圳市第二人民医院检验科, 广东 深圳 518035

陈凡, 何建安, 董瑞玲, 等. SPR 蛋白质芯片在输入性疟疾筛查中的应用. 生物工程学报, 2021, 37(4): 1360-1367.

Chen F, He JA, Dong RL, et al. Application of SPR protein chip in screening for imported malaria. Chin J Biotech, 2021, 37(4): 1360-1367.

**摘要:** 输入性疟疾已是我国疟疾防控的主要危险因素, 如何对入境人员进行疟疾快速筛查是急需解决的难题。蛋白质芯片已被广泛应用于高通量筛选和诊断, 本研究尝试构建了表面等离子共振技术 (Surface plasmon resonance, SPR) 蛋白芯片用于恶性疟疾的快速检测。采用聚乙二醇高分子处理的特异性吸附表面, 以恶性疟疾特异性抗原富组氨酸蛋白 II (Histidine-rich protein II, HRP2) 作为捕获探针, 建立疟疾的微阵列芯片, 并对芯片的最佳抗原固定浓度, 检测的灵敏性和特异性, 以及抗干扰能力进行了分析。该芯片可成功应用于恶性疟疾的筛查, 具有无标记、即时快速的特点, 与荧光定量 PCR 法相比, 两种方法在敏感度和特异性方面无统计学差异。研究结果为一步研制疟疾分型鉴定蛋白质芯片奠定了基础, 有利于对入境人员进行疟疾快速筛查。

**关键词:** 蛋白质芯片, 表面等离子共振技术, 疟疾, 筛查

**Received:** August 10, 2020; **Accepted:** October 20, 2020

**Supported by:** National Key Research and Development Program of China (No. 2018YFC0809200), Clinical Research Project of Shenzhen Second People's Hospital (No. 20203357006).

**Corresponding authors:** Dayong Gu. Tel: +86-755-83366388-8833; Fax: +86-755-83356952; E-mail: wanhood@163.com  
Wei Wang. E-mail: wwangsz78@sina.com

国家重点研发计划 (No. 2018YFC0809200), 深圳市第二人民医院临床研究项目 (No. 20203357006) 资助。

网络出版时间: 2020-11-19

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20201119.1109.001.html>

# Application of SPR protein chip in screening for imported malaria

Fan Chen<sup>1</sup>, Jian'an He<sup>2</sup>, Ruiling Dong<sup>2</sup>, Fan Yang<sup>1</sup>, Houming Liu<sup>3</sup>, Dayong Gu<sup>4</sup>, and Wei Wang<sup>4</sup>

1 State Key Laboratory of Biocatalysis and Enzyme Engineering, School of Life Science, Hubei University, Wuhan 430062, Hubei, China

2 Shenzhen International Travel Health Care Center, Shenzhen 518033, Guangdong, China

3 Clinical Laboratory of Shenzhen Third People's Hospital, Shenzhen 518112, Guangdong, China

4 Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Shenzhen University, Shenzhen Second People's Hospital, Shenzhen 518035, Guangdong, China

**Abstract:** Imported malaria has become a major risk factor for malaria prevention and control in China. How to screen malaria quickly for people entering China is an urgent problem to be solved. Protein microarrays are widely used in high-throughput screening and diagnosis. In this study, surface plasmon resonance (SPR) technique for malaria detection was established by using the specific adsorption surface treated by polyethylene glycol polymer, and the malaria specific antigen HRP2 was used as capture probe. The optimal concentration of antigen, sensitivity and specificity of detection, as well as anti-interference ability of the chip were analyzed. The SPR protein chip was applied to detect specific antibodies of malignant malaria in serum with the advantage of label-free, instant and fast. Compared with fluorescence quantitative PCR, there were no significant difference in sensitivity and specificity between the two methods. This study lays a foundation for further development of protein microarray for malaria typing identification, and it is conducive to the rapid screening of malaria for people entering.

**Keywords:** protein chip, surface plasmon resonance, malaria, screening

疟疾 (Malaria) 是一种由疟原虫引起的、经蚊叮咬而传播的重要虫媒传染病, 极大地威胁着人类的健康。近年来疟疾的防治已经取得了很大的进展, 但全球范围内仍有 33 亿人面临疟疾感染的威胁, 2018 年有 2.28 亿新发病例, 死亡人数高达 40.5 万<sup>[1-3]</sup>。我国自 2010 年启动消除疟疾行动计划以来, 疟疾疫情得到了很好的控制<sup>[4-5]</sup>。但随着我国经济发展, 近年来输入性病例呈上升趋势<sup>[6-9]</sup>。早期疟疾感染者因疟原虫含量低, 易造成临床漏检, 常常是潜在的疟疾传染源<sup>[10]</sup>。目前疟疾的主要诊断方法包括: 显微镜镜检、免疫学诊断、PCR 检测技术等。尽管显微镜镜检仍是疟疾诊断的金标准, 但是显微镜镜检方法最大的问题在于检测结果强烈依赖检验人员的专业技术水平, 不适合快速检测和大规模样品的筛查; 免疫学检测和 PCR 检测方法提高了疟疾检出的灵敏度, 但是操作步骤较多, 耗时长, 仍然不能满足对入境人员快速筛查的需求<sup>[11]</sup>。

蛋白质芯片 (Protein chips) 是高通量、高灵敏度、易于操作、实用性高的蛋白质研究工具<sup>[7]</sup>。表面等离子体共振 (Surface plasmon resonance, SPR) 技术是检测生物传感芯片上配位体与分析物作用的一种前沿技术<sup>[12-13]</sup>。其突出的特点是可以实时、在线检测, 而且不需要标记及纯化, 耗样量很少。将传感器技术与蛋白芯片技术相结合, 既可以充分发挥传感器技术的高特异性、高灵敏度、不需标记及纯化、实时检测等特点, 又可进一步利用芯片技术的高通量、高速度、高效率的特点, 从而实现对检测样品的快速、简单、准确的检测。利用 SPR 蛋白芯片技术对疟疾进行快速鉴定, 对疟疾的筛查具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 疟疾样本

样本来源 2018 年 1 月–2019 年 10 月从深圳市国际旅行卫生保健中心和深圳市第三人民医院

收集的疟疾患者 76 例, 在高热时采集全血标本保存备用 (EDTA-K2 抗凝)。未感染疟疾的健康人血清来自深圳市第二人民医院保留血清样本 (伦理批件号 KS20180130001)。

## 1.2 仪器与试剂

SPR 分析仪 (美国 GWC 公司, SPR imager<sup>®</sup> II 型)、SPR 检查芯片 (广州高通)、活化液 EDC/NHS: 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)-碳化二亚胺 (EDC) 和 N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS)、封闭液乙醇胺、再生液甘氨酸、疟原虫核酸测定试剂盒 (上海之江生物)、PCR 扩增仪 (美国 ABI7 500)。

## 1.3 SPR 蛋白芯片的制备和条件优化

### 1.3.1 芯片的制备

①芯片的表面改性: 芯片经过去离子蒸馏水、95%乙醇的清洗后再用等离子清洗仪清洗 10 min; 然后将芯片立即浸泡于现配的 1 mmol/L SH-PEG-COOH (MW3400) 溶液中, 氮气保护下静置芯片 8–10 h, 乙醇清洗, 氮气吹干。②芯片的活化: 分别溶解 0.383 9 g EDC 和 0.430 g NHS, 配制成 10 mL EDC/NHS 活化液, 浸泡芯片活化 30 min, 水洗冲干。③抗原点样: 用乙酸-乙酸钠 (0.2 mmol/L, pH 4.5) 与甘油配制成 10% 的甘油点样液, 将 HRP2 抗原、NS1 抗原和人类 IgG 用点样液作 5 倍稀释处理后, 取 0.5  $\mu$ L 混合液点样于芯片表面的位置, 室温固定 2 h。④芯片表面封闭: 将完成点样的 SPR 芯片, 固定并安装在 SPR 分析仪上, 用 PBS 液调试最佳共振角 (最佳共振角约为 70°至 100°之间), 基线平稳后, 用封闭液乙醇胺处理封闭芯片未反应的活化表面。完成后用再生液处理, 去除物理吸附的物质和封闭液, 然后可上样检测。

### 1.3.2 抗原浓度选择

确定反应体系的离子强度、pH 值后, 以乙酸-乙酸钠缓冲液稀释 HRP2 抗原, 分别配制成 HRP2 抗原浓度为 600  $\mu$ g/mL、500  $\mu$ g/mL、300  $\mu$ g/mL 和 200  $\mu$ g/mL 的溶液, 点样芯片后检测 SPR 信号, 找到最佳抗原点样浓度。

### 1.3.3 SPR 蛋白芯片灵敏性和特异性检测

将特异性 HRP2 抗原以最佳点样浓度固定在 SPR 芯片上, 分别以 NS1 抗原 (200  $\mu$ g/mL) 和 IgG (100  $\mu$ g/mL) 作为对照, 按照 3 $\times$ 4 设计芯片, 检测 HRP2 抗体分别按照 1:500、1:1 000、1:2 000、1:4 000、1:5 000、1:6 000 倍稀释, 以 2  $\mu$ L/s 的流速进样检测, 测定芯片灵敏度。在同一张芯片上点上特异性的 HRP2 抗原和非特异性 NS1 抗原, 另外点上点样液作为对照点, 在 SPR 仪上检测 HRP2 抗体的阳性血清, 测定芯片特异性。

### 1.3.4 检测样本的筛选

分别用 SPR 蛋白芯片检测阳性患者全血和血清样本, 检测信号背景, 特征信号与背景信号区别大的, 即为优选检测样本。

### 1.3.5 芯片抗干扰性能检测

用制备好的 SPR 蛋白芯片检测未感染疟疾的健康血清样品, 观测信号变化幅度。再用甘氨酸处理芯片后, 检测其再生能力。

## 1.4 SPR 蛋白芯片技术在疟疾筛查中的应用

### 1.4.1 显微镜镜检

每份血样均涂制厚薄血膜, 吉氏染色后油镜下观察血涂片。根据染色后红细胞内找到疟原虫的不同阶段形态 (滋养体、裂殖体或环状体) 为确认标准。血片由深圳市国际旅行保健中心同一专家进行显微镜镜检。

### 1.4.2 SPR 检测和分析

将点样好的 SPR 芯片安装在 SPR 分析仪 (美国 GWC 公司, SPR imager<sup>®</sup> II 型) 上, 以 PBS 缓冲溶液 (10 mmol/L, pH 7.4) 为流动相, 流速 2  $\mu$ L/s, 待基线平稳后, 用封闭液乙醇胺 (1 mol/L, pH 8.5) 处理 10 min, 封闭芯片未反应的活化表面。取 5  $\mu$ L 临床样本血清溶于 995  $\mu$ L PBS 缓冲溶液, 然后在微流控进样系统的控制下, 加入 SPR 反应池中, 待检测的血清样本经过 PBS 稀释后可上样进行检测, 每个样本检测完后可用再生液甘氨酸 (100 mmol/L, pH 2.0) 再生芯片, 然后进行下一个样本的测定。

SPR 信号通过 SPR 分析仪 BIA evaluation 软件系统模拟的反应曲线图来进行检测和分析。

### 1.4.3 RT-PCR

参照疟原虫核酸检测试剂盒说明书进行, 试剂盒采用聚合酶链式反应 (Polymerase chain reaction, PCR) 技术结合荧光探针技术对恶性疟原虫特异性核酸片段进行核酸检测。

### 1.5 统计学处理

应用 SPSS20.0 进行统计数据分析, 采用配对四格表资料  $\chi^2$  检验, 计量资料采用  $t$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 芯片的设计

点样设计矩阵为  $3 \times 4$ , 分成 3 行进行排列, 分别以疟疾特异性 HRP2 抗原、登革热 NS1 抗原和人 IgG 点样, 其中 IgG 作为芯片的质控, 把 PBS 设为空白对照点。设计的芯片图如图 1 所示。

### 2.2 抗原点样浓度确定

摸索最佳 HRP2 抗原固定浓度是建立 SPR 蛋白芯片检测疟疾的首要条件。实验结果表明 HRP2 抗原浓度为高于  $300 \mu\text{g/mL}$  时, 检测信号基本饱和, 低于  $300 \mu\text{g/mL}$  时, 检测信号随着抗原的浓度减低而显著减弱, HRP2 抗原浓度为低于  $100 \mu\text{g/mL}$  未能检测到 SPR 信号。因此, HRP2 抗原浓度为  $300 \mu\text{g/mL}$  时, 检测信号最佳(图 2)。

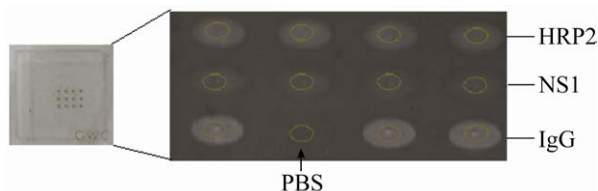


图 1 芯片点样设计图

Fig. 1 Chip sample design drawing. The dot matrix is  $3 \times 4$ , the first line is malaria specific HRP2 antigen, the second line is dengue non-structural protein NS1 antigen, the third line is IgG, as the chip quality control, one of the points is PBS as the blank control point.

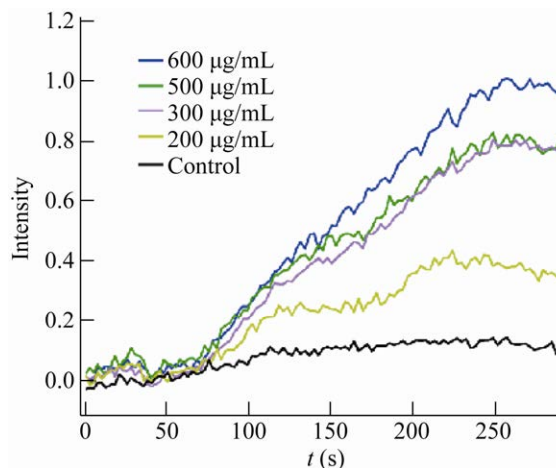


图 2 HRP2 抗原固定浓度的摸索

Fig. 2 Exploration of fixed concentration of HRP2 antigen.

### 2.3 SPR 芯片检测疟疾 HRP2 抗体的灵敏度和特异性

HRP2 最佳固定浓度为  $300 \mu\text{g/mL}$  时, 分别用含  $14 \mu\text{g/mL}$ 、 $7.0 \mu\text{g/mL}$ 、 $3.5 \mu\text{g/mL}$ 、 $1.75 \mu\text{g/mL}$ 、 $1.4 \mu\text{g/mL}$  和  $1.17 \mu\text{g/mL}$  浓度的 HRP2 抗体检测。结果显示在 HRP2 抗体为  $1.4 \mu\text{g/mL}$  仍有检测信号,  $1:6000$  倍稀释 (浓度为  $1.17 \mu\text{g/mL}$ ) 无法检出, 最低检测限为  $1.4 \mu\text{g/mL}$  左右。由 Igor 分析软件处理, 去除空白对照值后作图如下, 对应的强度 (Intensity) 值如图 3A 所示, 具有较好的灵敏度。随着抗体浓度的增高, 信号强度也随之增加 (图 3B)。特异性检测结果显示 HRP2 点样点有特异性信号出现, 而对照样品 NS1 探针点没有明显的信号变化 (图 3C)。表明 SPR 蛋白芯片能特异性地检测疟疾特异性 HRP2 抗体。

### 2.4 SPR 蛋白芯片对全血和血清样本的检测

用 SPR 蛋白芯片检测全血和血清样本时, 均可以检测到 HRP2 的特征信号, 但全血样本的其他信号背景较多, 且与 HRP2 特征信号区别不是很明显 (图 4A)。而在血清样本中, 其他背景信号与 HRP2 特征信号区别明显 (图 4B), 表明该系统适合检测血清样本。

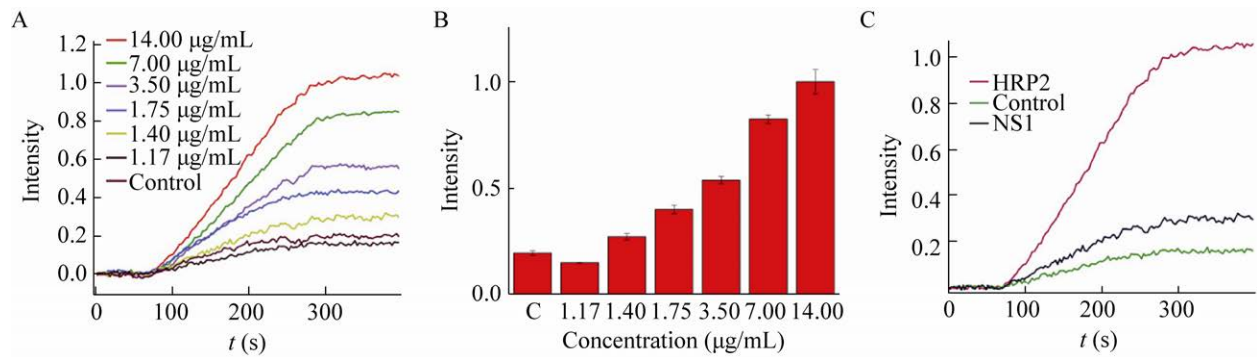


图3 SPR蛋白芯片检测HRP2抗体的灵敏度和特异性

Fig. 3 SPR protein chip was used to detect the sensitivity and specificity of HRP2 antibody. (A) Detection signal of different antibody concentration. (B) SPR chip was used to detect the dose response of HRP2 antibody; the independent experiment was repeated six times. (C) Detection signal of different antigens.

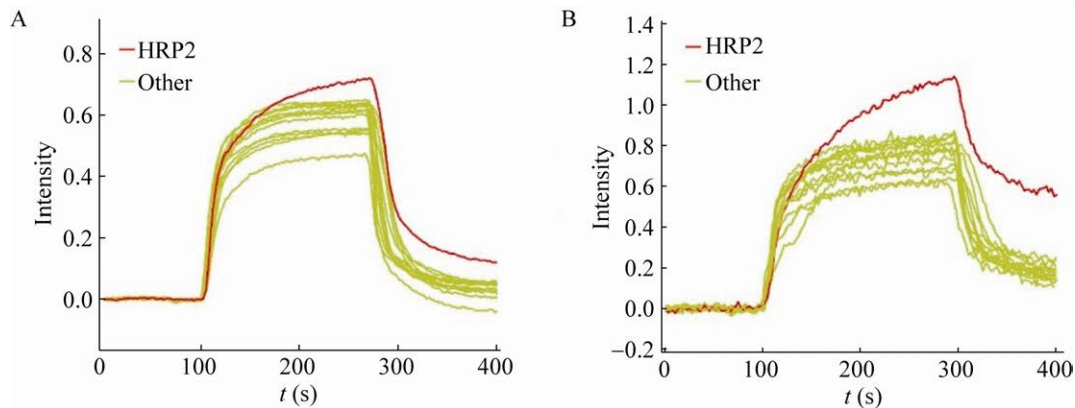


图4 SPR蛋白质芯片检测疟疾全血标本(A)和疟疾血清样本(B)

Fig. 4 The SPR protein chip was used to detect malaria blood samples (A) and malaria serum samples (B).

## 2.5 SPR蛋白芯片的抗干扰性检测

应用SPR蛋白芯片直接检测阴性血清样品，SPR信号变化较小，无特异性的阳性信号，用甘氨酸处理后，芯片的信号背景快速降低，说明蛋白芯片具有良好的再生功能，表明芯片具有良好的抗蛋白质干扰及较好的抗非特异性吸附能力(图5)。

## 2.6 病人样本检测

### 2.6.1 血液涂片镜检

待检血液样本涂片后，经吉氏染色后油镜下观察，如果发现疟原虫大滋养体、裂殖体或环状体之一(图6)，即可判断该样本疟疾感染为阳性。

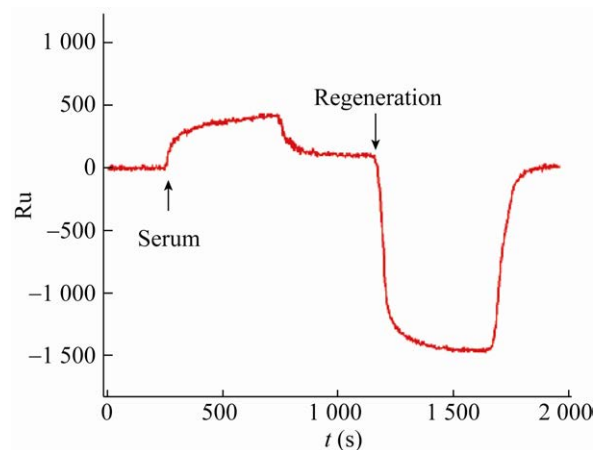


图5 SPR蛋白芯片抗干扰能力检测

Fig. 5 Detection of anti-interference ability of SPR protein chip.



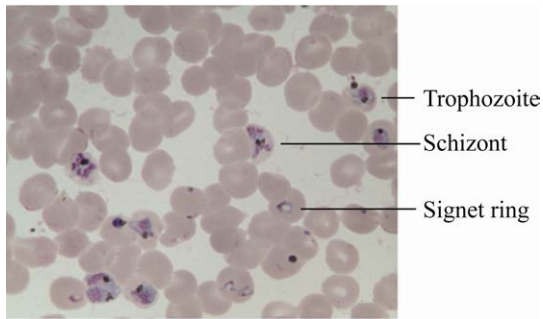


图 6 血液涂片镜检下的疟原虫形态

Fig. 6 Plasmodium morphology under blood smear microscopy.

### 2.6.2 SPR 芯片检测方法与荧光定量 PCR 方法的比较

76 例经血涂片确诊的疟疾标本分别用 SPR 蛋白芯片技术和荧光定量 PCR 进行检测, 结果见表 1。与荧光定量 PCR 方法相比, SPR 芯片技术灵敏度为 96.5%, 特异性为 94.7%, 阳性预警值为 98.2%, 阴性预警值为 90.0%, 总一致性为 96.1%。采用配对  $\chi^2$  检验结果表明两种检测方法比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ), 说明 SPR 蛋白芯片检测方法与 RT-PCR 方法性能基本相当, 可以满足临床上疟疾快速检测的要求。

## 3 讨论

近年来, 由于疟原虫对药物的耐药性增强, 境外人员输入性传染增加, 疟疾的快速诊断对疟疾的防控显得尤为重要<sup>[14-16]</sup>。输入性疟疾患者中,

表 1 SPR 蛋白芯片技术与荧光定量 PCR 的结果比较  
Table 1 Comparison of results between SPR protein chip technology and fluorescence quantitative PCR

| SPR protein chip | RT-PCR |      | Total | Positive warning value (%) | Negative warning value (%) |
|------------------|--------|------|-------|----------------------------|----------------------------|
|                  | +      | -    |       |                            |                            |
| +                | 55     | 1    | 56    | 98.2                       | -                          |
| -                | 2      | 18   | 20    | -                          | 90.0                       |
| Total            | 57     | 19   | 76    | -                          | -                          |
| Sensitivity (%)  | 96.5   | -    | -     | -                          | -                          |
| Specificity (%)  | -      | 94.7 | -     | -                          | -                          |

$\chi^2=0.33$ ,  $P>0.05$ , there was no significant difference between the two methods.

恶性疟疾是目前危害最大、患病率最高的种类。HRP2 是恶性疟原虫分泌的一种特有的水溶性蛋白, 是疟原虫红内期的重要抗原, 主要是由生活在完整的受染红细胞中的发育期原虫所合成, 并可主动地从受染红细胞排出到血清中, HRP2 是构建疟疾疫苗的重要候选抗原, 也是目前用于疟疾诊断最重要的抗原<sup>[17]</sup>。本研究将疟原虫特异性抗原 HRP2 固定在金芯片表面 (图 1), 结合 SPR 传感器系统进行分析<sup>[18-19]</sup>, 用聚乙二醇高分子处理吸附表面后, 发现 HRP2 抗原浓度为 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, 检测信号最佳 (图 2)。在此固定抗原浓度上检测 HRP2 抗体时, 具有较好的灵敏度 (图 3A), 并与抗体浓度呈剂量依赖关系 (图 3B), 而且对照样品 NS1 探针点没有明显的信号变化, 显示出较好的特异性 (图 3C)。表明 SPR 蛋白芯片能特异性地检测恶性疟疾特异性 HRP2 抗体。用 SPR 蛋白芯片检测全血和血清样本时, 发现在血清样本中, 其他背景信号与 HRP2 特征信号区别明显, 表明该系统适合检测血清样本 (图 4)。而抗干扰实验表明芯片具有良好的再生及较好的抗非特异性吸附能力 (图 5)。临床上检测疟疾常用的免疫学检测方法是胶体金法, 然而早期疟疾感染者因疟原虫含量低, 易造成临床漏检。基于核酸检测的 PCR 技术可大大提高检测的灵敏度, 但临床上样本较少, 使得 PCR 检测的耗费较高。而在输入性疟疾检测时, 常用 PCR 检测技术对大范围样本进行筛查, 以提高检测的灵敏度。本研究利用 SPR 蛋白芯片对显微镜检确诊的 76 例疟疾患者血清进行分析, 发现检查结果的敏感性和特异性与荧光定量 PCR 十分接近, 没有显著性差异 (表 1)。

本研究建立一种恶性疟疾检测的新方法和新技术, 具有如下的优势: (1) 高特异性: 本项目采用疟疾特异性抗原的作为反应底物, 充分暴露隐藏在蛋白质深处的隐性表位, 提高对目标抗体的识别能力; (2) 超灵敏: 采用 SPR 技术, 实现了信号的放大, 其检测灵敏度高于酶联免疫吸附

(ELISA) 法<sup>[20-21]</sup>; (3) 无标记检测: 避免了免疫学检测方法中需要酶标、荧光、化学发光物质的标记, 容易出现交叉污染等缺点; (4) 低消耗: 单次实验的样品消耗量仅为 5  $\mu\text{L}$ , 比传统的检测方法节省样品 10–100 倍; (5) 快速: 芯片准备好了后, 样本检测在 20 min 内就得到实验结果, 操作简单迅速, 适合疟疾快速筛查。

本研究结合蛋白芯片和 SPR 技术针对恶性疟的快速诊断作了积极有效的探索。我国大型城市的输入性疟疾中, 还有部分是间日疟、三日疟和卵形疟, 因此, 可以考虑建立疟疾的多个特异性抗原结合芯片, 可以一步鉴定出疟疾类型, 为临床治疗和输入性疟疾防控提供指导建议<sup>[22-25]</sup>。

## REFERENCES

- [1] World Health Organization. World malaria report 2019[EB/OL]. [2019-12-04]. <https://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2019/en/>.
- [2] Lover AA, Baird JK, Gosling R, et al. Malaria elimination: time to target all species. *Am J Trop Med Hyg*, 2018, 99(1): 17-23.
- [3] Cotter C, Sturrock HJ, Hsiang MS, et al. The changing epidemiology of malaria elimination: new strategies for new challenges. *Lancet*, 2013, 382(9895): 900-911.
- [4] 雷正龙, 王立英. 全国重点寄生虫病防治形势与主要任务. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2012, 30(1): 1-5.  
Lei ZL, Wang LY. Control situation and primary task of key parasitic diseases in China. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 2012, 30(1): 1-5 (in Chinese).
- [5] Lai S, Sun J, Ruktanonchai NW, et al. Changing epidemiology and challenges of malaria in China towards elimination. *Malar J*, 2019, 18(1):107.
- [6] 曹俊, 刘耀宝, 曹园园, 等. 中国消除疟疾的持续挑战: 输入性疟疾. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2018, 36(2): 93-96.  
Cao J, Liu YB, Cao YY, et al. Sustained challenge to malaria elimination in China: imported malaria. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 2018, 36(2): 93-96 (in Chinese).
- [7] Nowak SP, Zmora P, Pielok Ł, et al. Case of *Plasmodium knowlesi* malaria in Poland linked to travel in Southeast Asia. *Emerg Infect Dis*, 2019, 25(9): 1772-1773.
- [8] 丰俊, 张丽, 张少森, 等. 全国 2005-2015 年疟疾疫情分析. *中国热带医学*, 2017, 17(4): 325-335.  
Feng J, Zhang L, Zhang SS, et al. Malaria epidemiological characteristics in China, 2005-2015. *Chin Trop Med*, 2017, 17(4): 325-335 (in Chinese).
- [9] Hwang SY, Kim SH, Lee GY, et al. A novel real-time PCR assay for the detection of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* malaria in low parasitized individuals. *Acta Trop*, 2011, 120(1/2): 40-45.
- [10] Rantala AM, Taylor SM, Trottman PA, et al. Comparison of real-time PCR and microscopy for malaria parasite detection in Malawian pregnant women. *Malar J*, 2010, 9: 269.
- [11] Atak A, Mukherjee S, Jain R, et al. Protein microarray applications: Autoantibody detection and posttranslational modification. *Proteomics*, 2016, 16(19): 2557-2569.
- [12] Karlsson R. SPR for molecular interaction analysis: a review of emerging application areas. *J Mol Recognit*, 2004, 17(3): 151-161.
- [13] Torreri P, Ceccarini M, Macioce P, et al. Biomolecular interactions by surface plasmon resonance technology. *Ann Ist Super Sanita*, 2005, 41(4): 437-441.
- [14] Feachem RGA, Phillips AA, Hwang J, et al. Shrinking the malaria map: progress and prospects. *Lancet*, 2010, 376(9752): 1566-1578.
- [15] 曹园园, 王伟明, 周华云, 等. 江苏省 2014–2016 年境外输入性疟疾病例诊断情况分析. *中华流行病学杂志*, 2018, 39(2): 218-221.  
Cao YY, Wang WM, Zhou HY, et al. Cases diagnosis of imported malaria in Jiangsu province, 2014–2016. *Chin J Epidemiol*, 2018, 39(2): 218-221 (in Chinese).
- [16] 鲁琴宝, 吴晨, 吴昊澄, 等. 2007–2016 年浙江省境外输入性疟疾流行特征分析. *中华地方病学杂志*, 2017, 36(12): 902-906.  
Lu QB, Wu C, Wu HC, et al. Epidemiological analysis of imported malaria in Zhejiang Province from 2007 to 2016. *Chin J Endemiol*, 2017, 36(12): 902-906 (in Chinese).

- [17] Forney JR, Magill AJ, Wongsrichanalai C, et al. Malaria rapid diagnostic devices: performance characteristics of the ParaSight F device determined in a multisite field study. *J Clin Microbiol*, 2001, 39(8): 2884-2890.
- [18] Halpern AR, Chen YL, Corn RM, et al. Surface plasmon resonance phase imaging measurements of patterned monolayers and DNA adsorption onto microarrays. *Anal Chem*, 2011, 83(7): 2801-2806.
- [19] Ladd J, Taylor AD, Piliarik M, et al. Label-free detection of cancer biomarker candidates using surface plasmon resonance imaging. *Anal Bioanal Chem*, 2009, 393(4): 1157-1163.
- [20] Chang YF, Wang WH, Hong YW, et al. Simple strategy for rapid and sensitive detection of avian influenza A H7N9 virus based on intensity-modulated SPR biosensor and new generated antibody. *Anal Chem*, 2018, 90(3): 1861-1869.
- [21] Athmaram TN, Saraswat S, Sikarwar B, et al. Characterization of pandemic influenza A (H1N1) virus hemagglutinin specific polyclonal antibodies for biosensor applications. *J Med Virol*, 2014, 86(3): 363-371.
- [22] 蒋旭华, 黄玉仙, 凌云, 等. 上海市输入性疟疾临床流行病学特征分析. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2017, 35(2): 150-155.
- [23] Jiang XH, Huang YX, Ling Y, et al. Clinical epidemiological analysis of imported malaria in Shanghai. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 2017, 35(2): 150-155 (in Chinese).
- [24] 韩常新, 孙艾军, 李雨婷, 等. 2013-2018 年大连市输入性疟疾的流行病学及临床特征分析. *中华地方病学杂志*, 2019, 38(10): 835-839.
- [25] Han CX, Sun AJ, Li YT, et al. Epidemiological and clinical characteristics of imported malaria in Dalian from 2013 to 2018. *Chin J Endemiol*, 2019, 38(10): 835-839 (in Chinese).
- [24] 何战英, 王小梅, 牡丹, 等. 2017 年北京市输入性疟疾疫情分析. *中国血吸虫病防治杂志*, 2018, 30(5): 583-585.
- [25] He ZY, Wang XM, Du D, et al. Epidemic situation of imported malaria in Beijing city, 2017. *Chin J Schisto Control*, 2018, 30(5): 583-585 (in Chinese).
- [25] 何战英, 王小梅, 吴文婷, 等. 2012-2017 年北京市输入性疟疾疫情分析. *热带病与寄生虫学*, 2019, 17(1): 10-13.
- [25] He ZY, Wang XM, Wu WT, et al. Epidemiological analysis on the imported malaria cases in Beijing from 2012 to 2017. *J Trop Dis Parasitol*, 2019, 17(1): 10-13 (in Chinese).

(本文责编 陈宏宇)