

• 行业研究 •

# 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱临床检测微生物的专利及行业发展分析

曹克浩, 吴文英<sup>#</sup>, 葛永奇

(国家知识产权局专利局复审和无效审理部, 北京 100088)

**摘要:**本文从专利申请趋势、技术来源国、专利申请人的分布、检测特征标志物、专利授权趋势、授权的发明主题类型等方面,对全球基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI TOF MS)临床检测微生物的研究现状进行了专利信息分析。结果表明,该检测领域具有重大潜在市场空间,但尚未被国外企业引起重视。虽然我国在该领域初步形成了技术垄断企业,但仍然需要进一步深入研究、拓宽应用领域、积极开展专利布局工作,并需要各级政府加大对该产业的扶持力度。

**关键词:**基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱; 微生物检测; 专利分析; 发展建议

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2019.18.024

**中图法分类号:**R446.5

**文章编号:**1673-4130(2019)18-2271-05

**文献标识码:**A

## Analysis on the patent application of MALDI TOF MS in clinical microorganism detection of the and industry development

CAO Kehao, WU Wenyong<sup>#</sup>, GE Yongqi

(Reexamination and Invalidation Department of the Patent Office, China National Intellectual Property Administration, Beijing 100088, China)

**Abstract:** Analysis on the patent application of MALDI TOF MS in clinical microorganism detection was carried out in many aspects, such as trends in patent applications, countries of technology source, distribution of patent applicants, detection of characteristic markers, trends in patent licensing, theme of invention. Result showed that the detection field has significant potential market space, but didn't get attention from foreign enterprises. Although China has initially formed technological monopoly enterprises, we have to further study and expand application field, actively carry out the overall arrangement of patent, and governments at all levels should increase support for the industry.

**Key words:** MALDI TOF MS; microorganism detection; patent; industry development

临床上检测微生物是一个复杂的过程。当患者疑似微生物感染时,临床医生需要收集其流行病学信息、症状和体征,并及时采集患者样本(如血液、尿液、痰等)送微生物实验室进行鉴定。目前病原菌的鉴定方法主要包括表型鉴定法和基因型鉴定法。前者需要对样本进行培养、分离,检测周期长且操作繁琐,已经不适合快速鉴定致病微生物的临床需要。后者通过分子生物学方法将细菌的检测与鉴定引入核酸和蛋白质等大分子水平,虽然准确率高,但操作复杂,成本昂贵,易受干扰物影响<sup>[1]</sup>。因此,快速而高效的微生物诊断技术对于确定患者治疗方案、缓解患者病痛至关重要。

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI

TOF MS)检测微生物技术是近年来发展起来的鉴定病原微生物的新技术,可通过对供试病原微生物的生物活性分子的指纹图谱进行同源分析而快速鉴定菌种,对疾病诊断具有重要意义<sup>[2]</sup>。MALDI TOF MS检测微生物主要是利用已知的菌种建立数据库,通过对待测微生物进行检测,获得蛋白质或核酸特征指纹图谱,再将所得的质谱图与数据库中的微生物参考图谱进行比对,从而得到鉴定结果。因此,与传统病原微生物鉴定方法相比, MALDI TOF MS 技术具有灵敏度较高、准确率较高、耗能较低、高通量等优点。

目前国际上使用较为广泛的 MALDI TOF MS 的主要生产商有德国布鲁克公司、法国梅里埃公司、日本岛津公司等。截至 2019 年 2 月 19 日,全球涉及

**作者简介:**曹克浩,男,调研员,主要从事医药和生物专利申请的审查及相关研究。 <sup>#</sup> 共同第一作者。

**本文引用格式:**曹克浩,吴文英,葛永奇. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱临床检测微生物的专利及行业发展分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(18): 2271-2275.

MALDI TOF MS 质谱仪及其部件的相关专利申请已经达到 2 269 件(同族专利扩展为 10 396 件),其中中国受理的专利申请为 399 件(数据来自国家知识产权局专利检索系统、DWPI 数据库、CNABS 数据库)。虽然国内已有北京东西分析、北京普析通用、江苏天瑞、舜宇恒平、聚光科技、郑州安图、北京毅新、厦门质谱等企业提交了一系列涉及质谱仪产品的专利申请<sup>[3]</sup>,但这些专利申请多是基于上述国外生产商的产品及其部件进行改进,原创型专利数量过少,在相关技术的推广应用易于受到国外产品专利的限制。

根据中华检验医学网的预测,未来的临床微生物检测的市场空间将达到 400 亿元<sup>[4]</sup>。鉴于 MALDI TOF MS 临床上检测微生物的潜在应用价值,可以预期相关检测技术和产品(例如检测试剂、芯片、载体、指纹图谱库或质谱模型、分析软件及试剂盒等)即将成为专利申请的热点。因此,在全球范围内分析 MALDI TOF MS 临床上检测微生物的专利申请进展,可以了解相关检测技术和产品的创新现状和发展趋势,对于我国在该领域上绕开质谱仪器专利的限制而实现“弯道超车”提供指导作用。

## 1 专利分析的数据来源

本文以国家知识产权局收录的德温特世界专利索引数据库(DWPI)和中国专利文摘数据库(CNABS)为数据来源,利用关键词检索式“MALDI”“time s flight s mass s spectrometry”“matrix assisted laser desorption / ionization”“CLIN-TOF”,结合“Microbe or microb+ or microorganism+”“bacil+(= bacillus or bacillus or bacilli) or bacter+(= bacteria or bacterial or bacterium)”“germ or microphyte or pathogen+, fung+(= fungi or fungus or fungal)”“virus”,截至 2019 年 2 月 13 日,共得到涉及 MALDI TOF MS 技术检测微生物的 508 件专利(同族专利扩展为 2 750 件专利)。在分析大量文献的基础上,从上述结果中筛选和去除主要发明目的在于改进质谱仪装置、部件以及用于诊断非微生物病症的数据,共获得发明主题涉及上述检测技术和产品的 279 件专利申请,其中以中国作为受理国的专利申请共 122 件,包含中国申请人提交的 83 件专利。所有结果导入数据分析的专业平台进行分析。

此外,以主题关键词“MALDI”“time s flight s mass s spectrometry”“matrix assisted laser desorption / ionization”“CLIN-TOF 结合分类号 G01N”进行检索,共得到涉及 MALDI TOF MS 技术的 2 269 件专利(同族专利扩展为 10 396 件专利),其中以中国作为受理国的专利申请为 399 件。

虽然中国专利申请的公开周期普遍短于国外专

利申请的公开周期,但国外专利申请到公开通常有 18 个月周期,因此 2018 年的数据仅供参考。

## 2 涉及 MALDI TOF MS 临床检测致病微生物的专利申请分析

### 2.1 专利申请趋势分析

图 1 显示了世界范围及中国范围内 MALDI TOF MS 临床检测微生物的专利逐年申请情况。从图 1 中可以看出,该技术从 1996 年首次出现专利申请后,之后呈缓慢增长的态势,其中申请人以外国申请人为主。进入 2008 年之后,中国范围内提交的专利申请呈现快速增长的态势,并逐渐缩小与世界范围内专利申请的数量差距,尤其是 2016—2018 年,虽然二者的申请数量均不高,但申请数量差距达到最小值。这初步表明国外申请人尚未重视将 MALDI TOF MS 临床检测微生物的技术提交专利申请,而中国已经成为将该检测技术提交专利申请的主要国家。

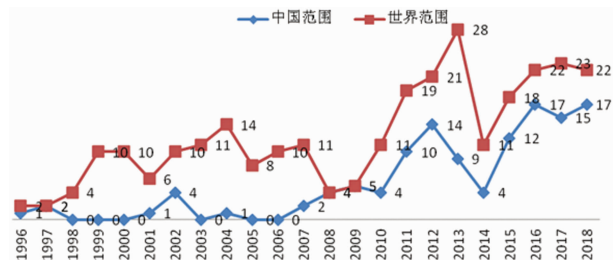


图 1 世界范围及中国范围的专利逐年申请情况

### 2.2 技术来源国的专利申请趋势分析

图 2、3 分别为世界范围内、中国范围内提交专利申请的主要国家及地区。虽然美国在世界范围内的专利申请数量最多,但其进入中国的专利申请仅位居第二。事实上加上中国台湾的申请量,中国申请人提交的专利申请数量已经位居世界第一。这表明,相比于以中国作为受理国的申请量(399 件)占世界范围内涉及所有 MALDI TOF MS 技术的专利申请量(共 2 269 件)的较小比例而言,中国申请人在临床检测微生物的专利申请已经超过外国申请人,进一步表明国外申请人并未重视 MALDI TOF MS 技术临床检测微生物在中国的市场前景,这意味着无论是从研究的角度,还是市场运营的角度,对于中国申请人都是难得的科学研究与专利保护的“窗口期”。

### 2.3 专利申请人的申请趋势分析

图 4 显示世界范围内 MALDI TOF MS 临床检测微生物的主要专利申请人的数量排名。数据显示,国外申请人中,德国布鲁克公司、法国梅里埃公司、美国安捷伦公司作为 MALDI TOF MS 仪器的核心技术的拥有者,对于临床检测微生物的应用技术也给予一定的关注;知名的国际生物仪器及试剂公司,如美国 BD 公司、美国 ISIS 制药公司、美国西昆诺姆公司,也开始涉及质谱临床

检测微生物的应用中。然而,同样作为 MALDI TOF MS 仪器的核心技术的拥有者,日本岛津公司(含在中国的合资企业)并未提交 MALDI TOF MS 临床检测微生物的专利申请。

国内申请人中,北京毅新(含北京毅新博创公司、北京毅新兴业公司)的专利申请及授权数量远远超过其他国内申请人和国外申请人,这表明该公司在该研究领域已经处于垄断地位。担负传染病预防和检疫职责的中国疾控中心亦已经开始使用质谱用于临床诊断致病微生物。而较早研究和开发 MALDI TOF MS 仪器的厦门质谱、浙江和谱、郑州安图,亦开始涉及临床诊断微生物的研究和应用。这表明我国在该领域的主体并不是以研究机构为主,已经涌现出以北京毅新为代表的企业积极参与技术转化,并在该领域的专利布局中与国外申请人保持同步、甚至超越,保持均衡的态势。

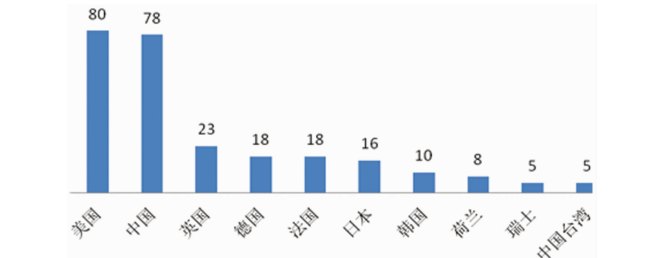


图 2 世界范围内提交专利申请的国家和地区(前 10 名)

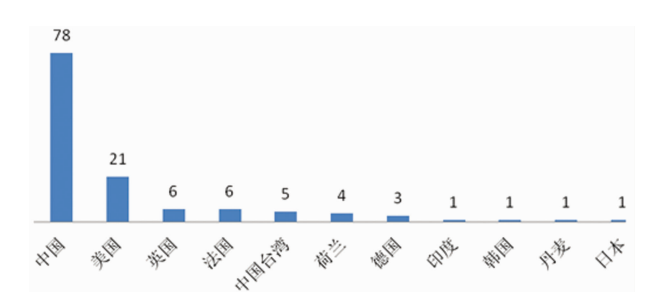


图 3 中国范围内提交专利申请的主要国家及地区

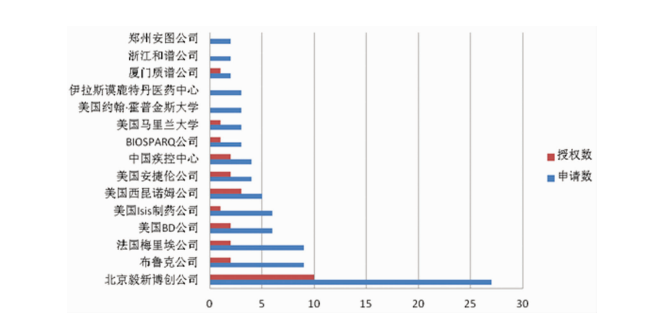


图 4 世界范围内主要申请人的专利申请数和授权数排名

## 2.4 MALDI TOF MS 临床检测微生物的特征标志物的专利分析

微生物包括细菌、病毒、真菌和酵母菌等。针对微生物的特征标志物主要是具有生物活性的蛋白质和核酸。从分子生物学的角度看,由于核酸(基因)决定蛋白的表达,而蛋白质的表达决定生物

体的表型。因此,通常认为基于蛋白质指纹图谱进行的微生物鉴定分析,相比核酸水平进行的鉴定更为准确和便捷<sup>[5]</sup>。在专利分析中,以蛋白或多肽作为待检特征标志物的专利分类号 IPC 小组为 C07K,以核酸或基因作为鉴定标志物的专利分类号 IPC 小组为 C12N。

然而,以世界范围的专利申请(279 件)的分类号 C07K、C12N(包括主分类号、副分类号)进行分析,结果显示:涉及分类号 C07K 的专利申请数量(共 101 件)与涉及分类号 C12N 的专利申请数量(共 178 件),二者比例接近 4 : 7。这表明,目前使用 MALDI TOF MS 技术用于临床鉴定微生物,已经越来越倾向于以微生物的核酸或基因作为待检特征标志物。这种变化主要与 MALDI TOF MS 联合 PCR 扩增技术的检测技术取得突破发展有关。该技术或是使用通用引物扩增微生物 16S rDNA 后,通过特定核酸内切酶将扩增产物酶切成长度不一、丰度不一的核酸片段,然后进行激光质谱获得待测微生物的核酸指纹图谱;或是联合多重 PCR 技术扩增微生物的核酸目的基因,然后将扩增的目的基因片段经质谱检测后的峰图与数据库中的峰图进行比对后得出鉴定结果<sup>[6]</sup>。

此外,利用 MALDI TOF MS 检测核酸标志物,还具有双保险的特点,一旦有序列发生变化,质谱就可以发现变化的产物,可以是峰的迁移或是出现新的质谱峰,抑或是理论值峰的消失,因此特别适用于检测耐药性突变位点、微生物分型。甚至有报道使用该技术转用于检测生物组织 SNP 位点、甲基化分型、产前诊断中的胎儿游离循环 DNA,这都预示着 MALDI TOF MS 技术中选择核酸作为特征标志物,相比于选择蛋白作为特征标志物,将具有更为广泛的应用前景<sup>[7]</sup>。

## 2.5 MALDI TOF MS 临床检测微生物的专利申请的授权情况分析

图 5 显示世界范围内 MALDI TOF MS 临床检测微生物的专利申请状态。其中授权的专利申请数量为 84 件,占总数 30%。未授权(包括驳回、主动撤回、视为撤回)的专利申请数量为 46 件,占总数 17%。在审案件(包括处于申请公开、进入实质审查)的案件为 149 件,占总数 53%。通过比较,授权的比例明显超过未授权的比例,说明 MALDI TOF MS 临床检测微生物的技术具有较高的可专利性,这与该技术受到临床检验人员的认可保持一致。

然而,根据专利法第 25 条第 1 款的规定,对于疾病的诊断和治疗方法不能获得专利权。同时,《专利审查指南》第二部分第一章第 4.3.1.1 节“属于诊断方法的发明”指出,“如果一项发明从表述形式上看是以离体样品为对象的,但该发明是以获得同一主体疾



病诊断结果或健康状况为直接目的,则该发明仍然不能被授予专利权”<sup>[8]</sup>。虽然 MALDI TOF MS 用于临床鉴定微生物的发明方法,从表述形式上看是以离体致病菌样品为对象的,但该发明方法是以获得同一主体(即患者)疾病诊断结果或健康状况为直接目的,因此,对于这类方法的发明主题不能被授予专利权。

因此,对授权专利的发明主题进行分析可知,如图 6 显示,一方面,发明主题涉及检测微生物方法的授权专利(共 13 件)全部为用于鉴定微生物耐药性的专利,具体是通过 MALDI TOF MS 技术分析抗菌药物及被修饰后的产物、分析给药后待测细菌的代谢物、分析微生物的核糖体 DNA 甲基化、分析微生物的突变位点等。这种对致病微生物的耐药性机理的保护,由于不能以产品的形式进行运营,难以引起资本市场的兴趣。同时在专利侵权鉴定过程中难以认定被控侵权的方法是否落入专利的保护范围,因此该类主题的授权专利难以获得有效的专利运营和市场保护。

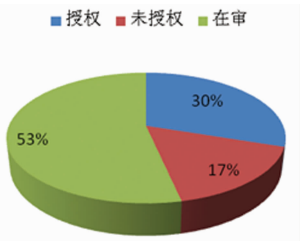


图 5 世界范围内 MALDI TOF MS 临床检测微生物的专利申请状态

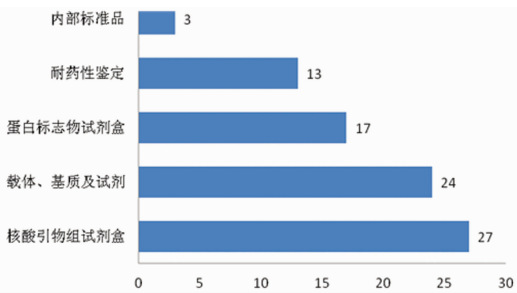


图 6 授权专利的发明主题

另一方面,发明主题涉及核酸引物组试剂盒的专利为 27 件,蛋白标志物试剂盒的专利为 17 件,涉及对鉴定核酸或蛋白标志物中改进所用载体、基质及试剂的专利为 24 件。由此可见,通过提交涉及核酸和蛋白标志物的试剂盒的专利申请,既有利于获得专利授权,同时能够间接地保护 MALDI TOF MS 临床检测微生物的用途。此外,改进上述试剂盒中所用的载体(如承载蛋白或核酸样品的芯片载体、靶托)、基质(用于匹配样品点样的基质溶液)、试剂(如样品预处理试剂等)也具有较高的可专利性。可以预期这类发明主题的专利更会受到市场的认可,同时也为研究人

员的技术开发提供指导作用。

3 结论与建议

3.1 结论 本文通过国家知识产权局收录的德温特世界专利索引数据库(DWPI)和中国专利文摘数据库(CNABS),从世界及中国范围的专利申请趋势、技术来源国、专利申请人的分布、检测特征标志物、专利授权情况、授权的发明主题类型等方面对全球 MALDI TOF MS 临床检测致病微生物的研究现状和发展态势进行了专利信息分析。

研究表明:(1)涉及研发和生产 MALDI TOF MS 产品及其部件的核心技术仍然掌握在美、日、德等国,国内并未出现类似于类型布鲁克公司和英国质谱公司这类型的大型质谱研发和生产企业<sup>[9]</sup>;(2)当前国外 MALDI TOF MS 质谱研发企业的研究热点包括离子源、离子阱、离子导入装置、真空泵、宽动态范围以及微通道板为主的电子倍增器<sup>[10]</sup>,对于使用该技术用于临床检测致病微生物的应用并未引起重视,因而在专利申请和授权数量上并未占据优势。(3)相比于国外的 MALDI TOF MS 质谱仪器的企业,国内相关企业已经形成利用该技术应用于临床检测致病微生物的趋势,并涌现以北京毅新为代表的国内科技创新企业进行专利布局,其中无论是申请数量还是授权数量,已经能与国外企业形成均衡态势。(4)该领域的研究成果中,对于发明主题涉及涉及核酸和蛋白标志物的试剂盒以及载体、基质、试剂的专利申请,既有利于获得授权,同时在专利运营过程中具有较低的生产成本和诊断准确率高的优点,易于获得市场认可。因此,在国外 MALDI TOF MS 产品的专利技术垄断的情况下,属于难得的专利申请空白,值得国内科技创新企业引起关注。

3.2 建议 为全面贯彻十九大报告提出的“实施健康中国战略”的精神,同时响应“中国制造 2025”的发展规划,坚持创新驱动、智能转型、强化基础、绿色发展,加速我国在应用 MALDI TOF MS 临床诊断新技术的发展,为人民群众提供全方位全周期的健康服务,可以从以下几方面进行努力。(1)鼓励国内企业和科研院所利用我国临床样本资源丰富的优势,积极投入 MALDI TOF MS 临床诊断致病微生物的研究,不断提高自身的技术创新能力,研发一系列针对中国人特有的微生物病症的诊断技术,并积极申报专利申请,实现专利保护。(2)国家及地方政府在科研政策、市场采购、专利资助、知识产权保护等方面出台相关政策,以鼓励国内申请人积极抢占技术制高点,推进诊断技术的创新,为将来国外专利进入中国诊断市场而提前做好准备。(3)国内企业和科研院所要不断努力拓展 MALDI TOF MS 临床诊断致病微生物的新领域,并根据中国现阶段的国情,例如微生物对环境

和食品安全的影响的检测需要,积极研发和申报关于非诊断目的的检测微生物的专利方法申请,从而获得更为全面的专利保护力度。(4)根据该技术需要大样本的微生物标准指纹质谱图谱数据的特点,利用互联网将众多医院、检疫机构的微生物标准数据样本进行共享,并通过大数据技术进行处理分析,从而研发出一系列“互联网+”的质谱诊断技术和相关产品,并积极进行国内外专利布局,以实现我国在该诊断领域中“弯道超车”。(5)在承接成熟的 MALDI TOF MS 质谱诊断微生物的基础上,将实验数据的处理分析与人工智能结合,形成 MALDI TOF MS 智慧质谱(即 MALDI TOF MS 智谱)诊断微生物技术。该智谱技术极大提高了谱图稳定性与谱库分辨率,并智能读取质谱产生的数据并做出判定,实现了效率的极大提升,大量节省了医疗成本<sup>[11]</sup>。

参考文献

[1] 丁进亚. 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱应用于临床微生物快速鉴定诊断[J]. 华南国防医学杂志, 2018, 32(4): 286-289.

[2] MENG Q, et al. Screening for potential serum-based proteomic biomarkers for human type 2 diabetes mellitus using MS[J]. Proteomics Clin Appl, 2017, 11(3/4): 79

[3] 张志娟. 质谱仪技术领域专利计量研究[J]. 科学管理研究, 2018(2): 149-153.

[4] 白大雄. 微生物检测: NGS 和质谱为行业变革带来契机 [EB/OL]. [2018-08-13]. [http://www.labweb.cn/html/de\\_wsw/201808/48510.html/](http://www.labweb.cn/html/de_wsw/201808/48510.html/).

[5] 杜美红, 赵瑞雪. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱分析技术在微生物检测与鉴定中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(2): 457-461.

[6] 章晟, 封志纯. 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱在病原微生物检测和鉴定中的应用进展[J]. 发育医学电子杂志, 2017, 5(3): 181-185.

[7] 李云峰, 马文晨. 生物质谱技术在核酸检测中的应用[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2017, 40(2): 141-144.

[8] 国家知识产权局. 专利审查指南[M]. 北京: 知识产权出版社, 2010: 125.

[9] 梁琴琴, 赵志耘. 基于专利分析的质谱仪质量分析器现状和趋势研究[J]. 现代情报, 2015, 35(8): 61-66.

[10] 沈湘, 吴鸣. 基于 1997—2016 年专利分析全球质谱仪技术创新现状和趋势[J]. 分析试验室, 2017, 36(12): 1477-1482.

[11] 张阳, 刘昕超. 从质谱到智谱-历史与未来[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(22): 2721-2728.

(收稿日期: 2019-03-10 修回日期: 2019-06-02)

(上接第 2270 页)

CEA 水平进行联合检测对疾病早期诊断的灵敏度较高, 对于患者的病情发展具有一定的预测作用, 建议在临床进行推广。

参考文献

[1] 吴定权. 血清 CA153、CA125 和 CEA 联合检测应用在乳腺癌诊断中的临床效果[J]. 影像研究与医学应用, 2017, 1(4): 109-111.

[2] CAO Y, DEPARTMENT C. Clinical value of combined detection of serum PDGF, CEA and CA15-3 in patients with breast cancer[J]. Chi Health Stan Manage, 2017, 2(5): 31-32.

[3] 张巨彪, 苏秀兰, 欧阳晓晖. 联合检测血清肿瘤标志物对乳腺癌的诊断价值[J]. 疾病监测与控制, 2017, 11(6): 448-449.

[4] 肖欢, 罗大极. 血清 sE-cadherin、CXCL16 含量对宫颈癌病灶内恶性生物学行为的评估价值[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(24): 3433-3436.

[5] 吴琼, 王堃, 向满林, 等. 可溶性细胞间黏附分子-1 在乳腺癌患者血清中表达的临床意义[J]. 实用预防医学, 2016, 23(5): 630-633.

[6] 刘亦赤, 刘江英. 分析血清 CA153、CA125 和 CEA 联合检测应用在乳腺癌诊断中的临床效果[J]. 生物技术世界, 2016, 11(2): 113-114.

[7] WEI F. Clinical value of serum CEA, CA153, CEA72-4 combined detection in the diagnosis of breast cancer[J]. Clin Lab J, 2017, 2(5): 30-33.

[8] 丁珂, 滕毅. 血清 CEA、NSE 与 CYFRA21-1 联合检测在肺癌诊断及疗效评估中的价值[J]. 贵州医科大学学报, 2017, 42(7): 803-807.

[9] AN X Q, LI J D, SU F. the sensitivity and specificity of G2 serum SDF-1 combined with CXCL5 and CEA in the diagnosis of breast cancer[J]. Chin J Lab Diag, 2018, 3(6): 29-31.

[10] YANG Z, YANG G S, NING L, et al. Diagnostic value of combined whole body bone scintigraphy and serum CA15-3, CEA in breast cancer with bone metastases[J]. Chi J Canc Prev Treat, 2016, 3(5): 6-8.

[11] 梁志. E-cadherin 和 sE-cadherin 在乳腺癌中的表达及意义[D]. 济南: 山东大学, 2016.

[12] 陈士华. 联合检测 CA15-3、CA125、CEA 对乳腺癌的临床价值探讨[J]. 检验医学, 2013, 28(3): 235-237.

[13] 易琳, 刘兴明, 林丁, 等. 血清 CA153、CA125、CEA 联合检测在乳腺癌诊断中的价值[J]. 重庆医科大学学报, 2012, 37(9): 802-805.

[14] 安雪青, 吕健东, 苏锋, 等. 血清 SDF-1 联合 CXCL5 及 CEA 联合检测用于乳腺癌诊断的敏感度与特异性分析[J]. 中国实验诊断学, 2018, 22(1): 10-13.

(收稿日期: 2019-02-02 修回日期: 2019-03-24)