

**О ПРИЧИНАХ И ПЕРСПЕКТИВАХ
ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ЗАРАЖЕНИЯ ЛЮДЕЙ HBV,
HCV и HIV ЧЕРЕЗ ДОНОРСКУЮ КРОВЬ И ЕЁ
ПРОИЗВОДНЫЕ**

ООО «NEW MEDICAL TECHNOLOGIES»

Пациенты, нуждающиеся в переливании крови или её производных (СЗП и другие) относятся к группе высокого риска заражения HBV, HCV и HIV.

Наиболее вероятными причинами тому являются ложноотрицательные результаты ИФА-тестирования донорской крови на предмет зараженности HBV, HCV и HIV.

По данным литературы причинами ложноотрицательных результатов ИФА на предмет зараженности доноров HBV, HCV и HIV являются:

- Недостаточная чувствительность диагностических тест – систем
- Атипичная сероконверсия (низкие титры антител на различных стадиях хронической инфекции) - серологическое окно
- Процедурные ошибки

Недостаточная чувствительность тест – систем

По неофициальным данным в Республике Узбекистан Фармкомитетом регистрируются и разрешаются для использования в диагностических лабораториях тест-системы, которые при испытаниях дают положительный результат в 85% (!) лунок референс-панелей, содержащих в 100% лунок диагностические титры антигена или антител. **То есть, при регистрации тест-систем закладывается 15%-ая вероятность ложноотрицательных результатов ИФА.**

При диагностике вирусных инфекций у больных имеется возможность выявить ошибки ИФА при повторных обследованиях.

Однако, тестирование крови доноров базируется на однократном (!) ИФА исследовании.

«Серологическое окно»

В период «серологического окна» благодаря лимфотропизму HBV, HIV и HCV, их репликацию можно наблюдать в лимфоцитах крови и клетках тканей.

При этом, в сыворотке крови вирусные частицы или антитела отсутствуют и образуется т.н. абсолютное «диагностическое окно» («эклипсная» фаза).

Именно это обуславливает ложно-отрицательные результаты при ИФА или ПЦР исследованиях сыворотки крови.

«Серологическое окно» – действительное отсутствие в сыворотке крови диагностических маркеров в период, предшествующий сероконверсии, когда на фоне острой инфекции в крови не выявляются антигены и антитела.

Исходя из постулата о том, что в периоды «серологического окна» в сыворотке крови отсутствуют антитела или антигены вируса, но их репликация осуществляется внутриклеточно в лимфоцитах, в целях снижения частоты ложноотрицательных результатов ИФА нами предпринята попытка определения антигенов HBV и HIV параллельно в сыворотке крови и содержимом лимфоцитов у доноров крови.

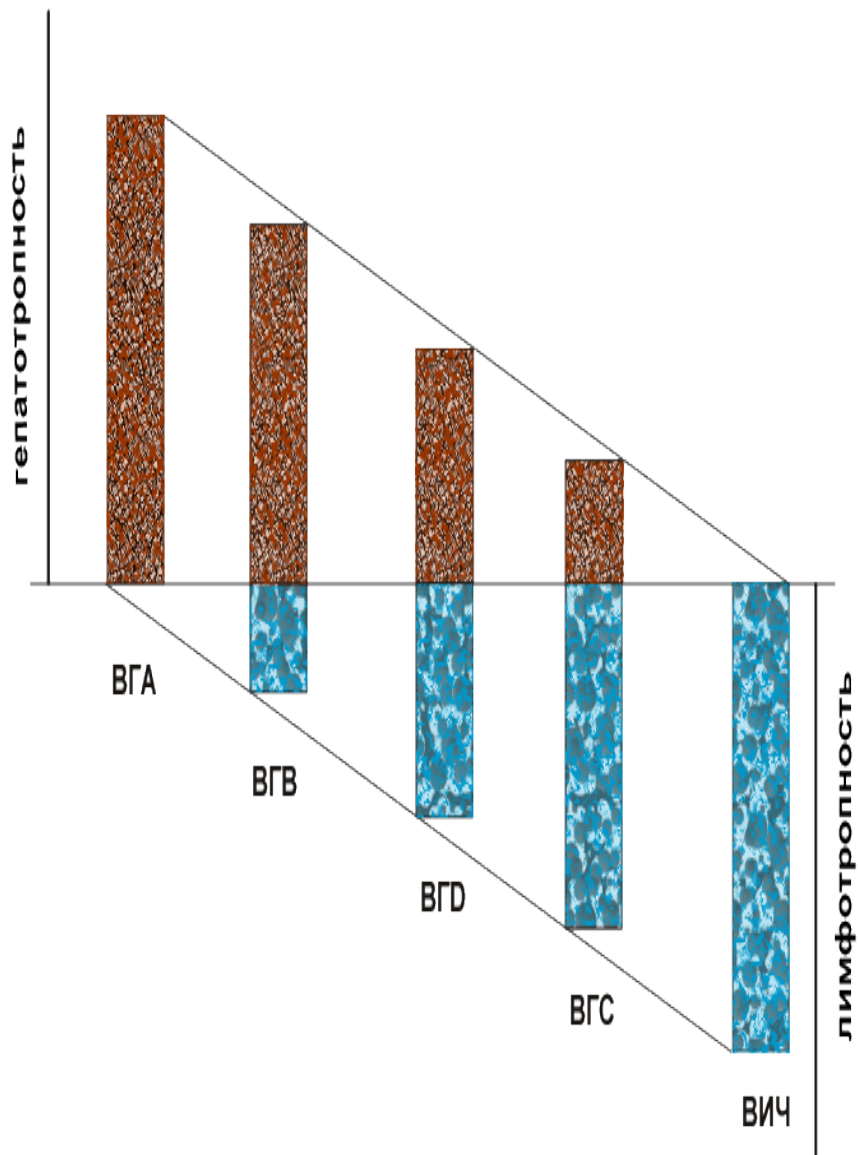
Проблемы при хронических вирусных гепатитах В и С

Формирование хронического инфекционного процесса при вирусных гепатитах и ВИЧ инфекции как проблема	
HAV	0%
HBV	До 40%
HCV	До 80%
HIV	До 100%

Сравнительная характеристика эпидемиологических, клинических, морфологических и иммунологических свойств HAV, HBV, HCV и HIV.

		HAV	HBV	HCV	HIV
Формирование хронического процесса		нет	40%	80%	100%
Содержание РНК / ДНК		РНК	ДНК	РНК	РНК
Пути передачи	Энтеральный	+			
	Парентеральный		+	+	+
Репликация в гепатоцитах и развитие гепатита		++++	+++	++	?
Репликация в мононуклеарных клетках			+	++	++++
Развитие прогрессирующего ВИД			+	+++	++++
Зависимость ВИД от давности патологии			+	++	++++
Развитие лимфогрануломатоза			+	++	+++
Развитие цирроза печени			+	++	?
Гепатоцеллюлярная карцинома			+	++	?
Нарастающая утомляемость			+	++	++++
Оппортунистические инфекции			+	++	++++
Ингибирование интерфероногенеза			++	+++	++++

Гепатотропные и лимфотропные свойства HAV, HBV, HCV и ВИЧ



Актуальность проблемы

Факт лимфотропизма HBV имеет огромное диагностическое значение при ИФА. В республике Узбекистан в диагностических лабораториях, в том числе в донорских пунктах, тестирование больных и доноров на инфицированность HBV осуществляется методом ИФА путем определения HBsAg в сыворотке крови. Дальнейший анализ на инфицированность методом ПЦР осуществляется при положительном результате ИФА на HBsAg.

В результате сероконверсии, либо по другим причинам, временное уменьшение или исчезновение титра HBsAg в сыворотке крови обследуемых приводит к ложно-отрицательным результатам ИФА, что является основной причиной заражения людей при инфузиях крови и ее препаратов.

С учетом лимфотропизма HBV не трудно предположить, что антигены HBV (HBsAg), независимо от их титра в сыворотке, могут постоянно и в существенно больших концентрациях персистировать в цитоплазме лимфоидных элементов. Именно это явление мы использовали для исключения ложноотрицательных результатов при ИФА.

Сравнительный анализ результатов ИФА сыворотки крови и содержимого лимфоцитов на предмет присутствия HBsAg у доноров в крови

Объект исследования	Результаты ИФА (n=309)			
	Отрицательно		Положительно	
	Абс.	%	Абс.	%
Сыворотка крови	303	98,05	6	1,94
Содержимое лимфоцитов	292	94,498	17	5,50

**Сравнительный анализ результатов ИФА сыворотки крови и
содержимого лимфоцитов на предмет обнаружения маркеров HBV
и HIV у доноров крови**

Результаты ИФА (n=73)				
	HBV		HIV	
	Сыворотка	Лимфоциты	Сыворотка	Лимфоциты
Отрицательно	72	64	73	72
Положительно	1	9	0	<u>1</u>
В %	1,39%	14,07%	0	<u>1,39%</u>

ООО «NEW MEDICAL TECHNOLOGIES», НИИ эпидемиологии, микробиологии и инфекционных заболеваний и Республиканский центр переливания крови провели исследования по сравнительному изучению результатов ИФА сыворотки в РЦПК, ПЦР исследованию плазмы и содержимого лимфоцитов.

Сравнительный анализ результатов ИФА сыворотки крови на предмет присутствия HBsAg, ПЦР сыворотки крови и ПЦР содержимого цитоплазмы лимфоцитов на предмет присутствия ДНК HBV у доноров в крови:

Метод и объект исследования	Положительные результаты (n=101)	
	Абс.	В %
ИФА сыворотки крови (РЦПК)	5	4,95%
ПЦР сыворотки крови	10	9,99%
ПЦР содержимого лимфоцитов	23	<u>22,77%</u>
Разница между ИФА сыворотки и ПЦР лимфоцитов	18	<u>17,82%</u>

Это свидетельствует, что при ИФА сыворотки крови доноров в РЦПК в 17,82% были получены ложно-отрицательные результаты, **что несомненно служит причиной заражения реципиентов вирусными инфекциями при переливании донорской крови и её компонентов.**

Разработанный способ позволяет обнаружить вирусы, обладающие лимфотропизмом, в биологических субстратах с низким содержанием вирусных частиц, оценивать их жизнеспособность и исключить ложноотрицательные результаты, свойственные ИФА и ПЦР-тестированию. Данный способ основан на способности вирусов HBV, HCV и HIV проникать и персистировать внутриклеточно в лимфоцитах здорового человека при их совместной инкубации в системе *in vitro*.

Представленный способ состоит из следующих этапов:

- получение взвеси лимфоцитов из крови здорового человека;
- инкубация лимфоцитов с исследуемым биологическим материалом (плазма, сыворотка крови и др.);
- осаждение лимфоцитов путем центрифугирования;
- отмывание лимфоцитов в физиологическом растворе;
- осаждение лимфоцитов и растворение в малом объеме (в 500,0 мкл физиологического раствора);
- разрушение лимфоцитов путем замораживания, размораживание.

Содержимое разрушенных лимфоцитов подвергается ИФА или ПЦР исследованию. Обнаружение в содержимом лимфоцитов вирусов методом ИФА или ПЦР свидетельствует о наличии и жизнеспособности вирусов в исследуемом биологическом материале.

Практическое применение способа

Способ обнаружения и оценки жизнеспособности лимфотропных вирусов рекомендуется для использования:

- в медицинских диагностических лабораториях различного уровня;
- на станциях по заготовке донорской крови и её компонентов;
- при контроле противовирусного эффекта химических и физических факторов;
- в производстве гемопрепаратов в качестве способа контроля.

Внедрение способа на станциях переливания донорской крови позволяет значительно снизить частоту перезаражения реципиентов особо

опасными гемоконтактными инфекциями при переливании донорской крови и её компонентов.

Способ позволяет исключить ошибки при диагностике на предмет заражения гемоконтактными инфекциями, а также при тестировании донорской крови и её компонентов на предмет зараженности особо опасными инфекциями.

Разработанный способ не имеет аналогов и признан изобретением. В настоящее время выданы патенты на изобретения со стороны Агентства по интеллектуальной собственности Республики Узбекистан, также выданы патенты патентными ведомствами:

- **Евразии** (*Азербайджан, Кыргызстан, Армения, Беларусь, Казахстан, Таджикистан, Россия, Туркменистан*),
- **Европы** (*Албания, Австрия, Бельгия, Болгария, Швейцария, Кипр, Чешская Республика, Германия, Дания, Эстония, Испания, Финляндия, Франция, Великобритания, Греция, Хорватия, Венгрия, Ирландия, Исландия, Италия, Лихтенштейн, Литва, Люксембург, Латвия, Монако, Северная Македония, Мальта, Нидерланды, Норвегия, Польша, Португалия, Румыния, Сербия, Швеция, Словения, Словакия, Сан-Марино, Турция*)
- **США,**
- **Израиля,**
- **ЮАР,**
- **Африканской региональной организацией по интеллектуальной собственности (ARIPO)** (*Ботсвана, Гана, Гамбия, Кения, Либерия, Лесото, Малави, Мозамбик, Намибия, Руанда, Судан, Сьерра-Леоне, Королевство Свазиленд, Танзания, Уганда, Замбия, Зимбабве*)

Ожидается получение патентов по разработанному способу от патентных ведомств **Индии и ОАЭ.**

Агентство по интеллектуальной собственности Республики Узбекистан



O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI INTELLEKTUAL MULK AGENTLIGI
АГЕНТСТВО ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

IXTIROGA PATENT № IAP 04903
ПАТЕНТ НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

Ushbu patent O'zbekiston Respublikasining "Inventorlar, loyihalash va patent bo'yida qatnashgan to'g'risida"gi Qonuniga asosan quyidagi ixtiroga berildi:

Настоящий патент выдан на основании Закона Республики Узбекистан «Об изобретениях, промышленных моделях и промышленных образцах», на следующее изобретение:

Лимфотропизм хусуситига эга бўлган HBV, HCV ва HIV вирусларининг биологик материалда илашчиллигини баҳолаш усули; шунинг вирусларни биологик материалда ажратиб устури, биологик материални шундай вируслар билан зарарланган ва/ёо зарарланмагангигина текшириш усули
Способ оценки жизнеспособности вирусов HBV, HCV или HIV, обладающих лимфотропизмом, и биологическом материале, способ обнаружения указанных вирусов в биологическом материале и способ тестирования биологического материала на зараженность указанными вирусами

Talabnoma kelib tushgan sana: **18.06.2012** Talabnoma gazanti: **IAP 2012 0233**
 Дата поступления заявки: Номер заявки:

Ustavorki sanasi: **18.06.2012**
 Дата приоритета:

Patent egasi (egallari): **«NEW MEDICAL TECHNOLOGIES» mas'uliylikli chalg'igan jamiyati, UZ**
 Патентообладатель(и): Общество с ограниченной ответственностью «NEW MEDICAL TECHNOLOGIES», UZ

Intro muallifi(lari): **Гулямов Нариман, UZ**
 Автор(ы) изобретения:

Patent O'zbekiston Respublikasining boshqa hududida, 18.06.2012 yilidan patentni kiritish uchun tilmochi tomonidan taqdim etilganligiga 20 yil o'tkazilganligi haqida O'zbekiston Respublikasi tomonidan qaror qilinmagan. 20.09.2014 yilgi Tashkent vaiznisi kuchida qolmoqda.

Patent davlatimiz va boshqa davlatlarning Respublika Uzbekiston va "tashqi" 20 yil 18.06.2012 yildan boshlab qabul qilinayotgan ushbu qonunga asoslanib taqdim etilganligi haqida O'zbekiston Respublikasi tomonidan qaror qilinmagan. 20.09.2014 yilgi Tashkent vaiznisi kuchida qolmoqda.

Bosh direktor v.b.
И.о. Генерального директора *З. Гиссов* **З. Гиссов**

Евразийская патентная организация



ЕВРАЗИЙСКАЯ ПАТЕНТНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ЕВРАЗИЙСКОЕ ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

ЕВРАЗИЙСКИЙ ПАТЕНТ



ЕВРАЗИЙСКИЙ ПАТЕНТ
 № 032036

Название изобретения:
«СПОСОБ ОЦЕНКИ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ВИРУСОВ, ОБЛАДАЮЩИХ ЛИМФОТРОПИЗМОМ»

Патентообладатель (лицы):
МКРТЧЯН ОВИК ЛЕОНАРДОВИЧ (UZ)

Изобретатель (и):
Гулямов Нариман (UZ)

Заявка №: **201401997**
 Дата подачи заявки: **21 мая 2013 г.**
 Дата выдачи патента: **29 марта 2019 г.**

Настоящим удостоверяется, что евразийский патент выдан на изобретение с фирменной, опубликованной в Ведомстве Евразийского патентного ведомства «Изобретение (сверхмалое ядро и патент)» № 3 / 2019 год.

При условии установления годовой пошлины патент действует на территории государств – участников Евразийской патентной организации – Кыргызской Республики, Республики Армения, Республики Беларусь, Республики Казахстан, Республики Таджикистан, Российской Федерации, Туркменистана.

Тлевесова

ТЛЕВЕСОВА Сауле Январбековна
 Президент Евразийского патентного ведомства

Европейское патентное ведомство

Албания, Австрия, Бельгия, Болгария, Швейцария, Кипр, Чешская Республика, Германия, Дания, Эстония, Испания, Финляндия, Франция, Великобритания, Греция, Хорватия, Венгрия, Ирландия, Исландия, Италия, Лихтенштейн, Литва, Люксембург, Латвия, Монако, Северная Македония, Мальта, Нидерланды, Норвегия, Польша, Португалия, Румыния, Сербия, Швеция, Словения, Словакия, Сан-Марино, Турция



URKUNDE

Europäisches Patent

Es wird hiermit bescheinigt, dass für die in der Patentschrift beschriebene Erfindung ein europäisches Patent für die in der Patentschrift bezeichneten Vertragsstaaten erteilt worden ist.

Europäisches Patent-Nr.
European patent No.
Brevet européen n°

CERTIFICATE

European patent

It is hereby certified that a European patent has been granted in respect of the invention described in the patent specification for the Contracting States designated in the specification.

2818558

Patentinhaber
Titulaire(s) du brevet

Mirzohiy, Ovk Leonardovich
Olin Tepa street, 470-472-474
Miro-Ulugbek district
Tashkent 100187/UZ

CERTIFICAT

Brevet européen

Il est certifié qu'un brevet européen a été délivré pour l'invention décrite dans le fascicule de brevet, pour les États contractants désignés dans le fascicule de brevet.

Antonio Campinos
Antonio Campinos
President des Europäischen Patentämter
President of the European Patent Office
Président de l'Office européen des brevets

München, den 17.07.19
Munich, the 17.07.19
München, le 17.07.19

(19) (11) EP 2 818 558 B1

EUROPEAN PATENT SPECIFICATION

(45) Date of publication and mention of the grant of the patent:
17.07.2019 Bulletin 2019/29

(51) Int. Cl.
C12Q 1/6696 (2018.01) C12Q 1/70 (2018.01)

(21) Application number: 13807284.9

(73) Inventor:
S. PALMER ET AL.; "New Real-Time Reverse Transcriptase-Initiated PCR Assay with Single-Copy Sensitivity for Human Immunodeficiency Virus Type 1 RNA in Plasma", JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, vol. 41, no. 10, 1 October 2003 (2003-10-01), pages 4531-4536, XP05307469, ISBN: 0958-1537, DOI: 10.1128/JCM.41.10.4531-4536.2003

(72) Inventor:
C. BACUTTI ET AL.; "Detection of adenoviral (HIV-1) contaminations on laboratory surfaces as a tool for the surveillance of biosafety standards", JOURNAL OF APPLIED MICROBIOLOGY, vol. 111, no. 1, 20 May 2011 (2011-05-20), pages 70-82, XP05307470, ISBN: 1554-4072, DOI: 10.1111/j.1554-4072.2011.02642.x

(71) Applicant:
Diabi & Partner GmbH
Patentanwälte
Erik-Mann-Strasse 9
80536 München (DE)

(74) Representative:
Diabi & Partner GmbH
Patentanwälte
Erik-Mann-Strasse 9
80536 München (DE)

(54) Title:
METHOD FOR ASSESSING THE VIABILITY OF VIRUSES WITH LYMPHOTROPISM
VERFAHREN ZUR BEURTEILUNG DER LEBENSFÄHIGKEIT VON VIREN MIT LYMPHOTROPISMUS
PROCÉDÉ POUR ÉVALUER LA VITALITÉ DE VIRUS PRÉSENTANT UN LYMPHOTROPISME

(56) References cited:
US-A1-2009 176 292

(57) Summary of the invention:
KOVA ARYOUSHI ET AL.; "Development of a rapid quantitative assay for HIV-1 plasma infectious viraemia-culture-PCR (CPID)", JOURNAL OF MEDICAL VIROLOGY, vol. 43, no. 1, 1 May 1994 (1994-05-01), pages 23-32, XP05307266, ISBN: 0146-6615, DOI: 10.1002/jmv.109430100

(58) Classifications:
C12Q 1/6696 (2018.01)
C12Q 1/70 (2018.01)

(54) METHOD FOR ASSESSING THE VIABILITY OF VIRUSES WITH LYMPHOTROPISM
VERFAHREN ZUR BEURTEILUNG DER LEBENSFÄHIGKEIT VON VIREN MIT LYMPHOTROPISMUS
PROCÉDÉ POUR ÉVALUER LA VITALITÉ DE VIRUS PRÉSENTANT UN LYMPHOTROPISME

(56) References cited:
US-A1-2009 176 292

(57) Summary of the invention:
KOVA ARYOUSHI ET AL.; "Development of a rapid quantitative assay for HIV-1 plasma infectious viraemia-culture-PCR (CPID)", JOURNAL OF MEDICAL VIROLOGY, vol. 43, no. 1, 1 May 1994 (1994-05-01), pages 23-32, XP05307266, ISBN: 0146-6615, DOI: 10.1002/jmv.109430100

Note: Within nine months of the publication of the mention of the grant of the European patent in the European Patent Bulletin, any person may give notice to the European Patent Office of opposition to that patent, in accordance with the implementing Regulations. Notice of opposition shall not be deemed to have been filed until the opposition fee has been paid. (Art. 99) (E) European Patent Convention.

Printed by Jouve 7302 FRANCE (7C)

(Cont. next page)

Патентное ведомство США

The United States of America



The Director of the United States Patent and Trademark Office

Has received an application for a patent for a new and useful invention. The title and description of the invention are enclosed. The requirements of law have been complied with, and it has been determined that a patent on the invention shall be granted under the law.

Therefore, this

United States Patent

Grants to the person(s) having title to this patent the right to exclude others from making, using, offering for sale, or selling the invention throughout the United States of America or importing the invention into the United States of America, and if the invention is a process, of the right to exclude others from using, offering for sale or selling throughout the United States of America, or importing into the United States of America, products made by that process, for the term set forth in 35 U.S.C. 154(a)(2) or (c)(1), subject to the payment of maintenance fees as provided by 35 U.S.C. 41(b). See the Maintenance Fee Notice on the inside of the cover.

Joseph Matol

Performing the Functions and Duties of the Under Secretary of Commerce for Intellectual Property and Director of the United States Patent and Trademark Office

The United States of America



The Director of the United States Patent and Trademark Office

Has received an application for a patent for a new and useful invention. The title and description of the invention are enclosed. The requirements of law have been complied with, and it has been determined that a patent on the invention shall be granted under the law.

Therefore, this

United States Patent

Grants to the person(s) having title to this patent the right to exclude others from making, using, offering for sale, or selling the invention throughout the United States of America or importing the invention into the United States of America, and if the invention is a process, of the right to exclude others from using, offering for sale or selling throughout the United States of America, or importing into the United States of America, products made by that process, for the term set forth in 35 U.S.C. 154(a)(2) or (c)(1), subject to the payment of maintenance fees as provided by 35 U.S.C. 41(b). See the Maintenance Fee Notice on the inside of the cover.

Andrei Ivanov

Director of the United States Patent and Trademark Office



US009879329B2

United States Patent

(11) Patent No.: US 9,879,329 B2
(45) Date of Patent: Jan. 30, 2018

- (54) METHOD FOR EVALUATION OF VIABILITY OF VIRUSES WITH LYMPHOTROPISM PROPERTIES
- (71) Applicant: Oshk Lomardovich Mirkhlyan, Yashkoni (UZ)
- (72) Inventor: Nurmaton Guliyonov, Tashkent (UZ)
- (73) Assignee: Oshk Lomardovich Mirkhlyan, Yashkoni (UZ)
- (*) Notice: Subject to any disclaimer, the term of this patent is extended or adjusted under 35 U.S.C. 156(a) by 58 days.
- (21) Appl. No.: 14/597,680
- (22) PCT Filed: May 21, 2013
- (60) PCT No.: PCT/RU2013/000001
- § 371 (c)(1)
- (2) Date: Oct. 29, 2014
- (87) PCT Pub. No.: WO2014/094256
- PCT Pub. Date: Dec. 27, 2013
- 605 Prior Publication Data
- US 2015/012552 A1 May 7, 2015
- Int. Class. (IPC) 2012/0233
- Jun. 18, 2012 (U2)
- (51) Int. Cl. (2006.01)
- A61K 31/0706 (2006.01)
- G07B 1/0007 (2006.01)
- A61K 31/0702 (2006.01)
- G12B 1/00 (2006.01)
- C12Q 1/08 (2006.01)
- (52) U.S. CL. (2013.01)
- C12Q 1/0866 (2013.01); C12Q 1/0796 (2013.01); C12Q 1/0797 (2013.01)
- (53) U.S. CL. (2013.01)
- C12Q 1/0866 (2013.01); C12Q 1/0796 (2013.01); C12Q 1/0797 (2013.01)
- (57) Abstract
- Methods and techniques to increase the reliability of detecting virus infections, particularly lymphotropic, or eliminate false negative reactions in testing blood for the presence of lymphotropic viruses during enzyme immunoassay (EIA) and polymerase chain reaction (PCR) testing, and to better detect viruses with lymphotropism in biological materials having a concentration of virus particles lower than the sensitivity threshold of existing EIA and PCR methods, thereby making the techniques of the present invention more reliable.
- 19 Claims, No Drawings



US009957579B2

United States Patent

(11) Patent No.: US 9,957,579 B2
(45) Date of Patent: May 1, 2018

- (54) METHOD FOR THE DETECTION IN BIOLOGICAL MATERIALS OF VIRUSES WITH LYMPHOTROPISM PROPERTIES IN LOW CONCENTRATIONS
- (71) Applicant: Oshk Lomardovich Mirkhlyan, Tashkent (UZ)
- (72) Inventor: Nurmaton Guliyonov, Tashkent (UZ)
- (73) Assignee: Oshk Lomardovich Mirkhlyan, Tashkent (UZ)
- (*) Notice: Subject to any disclaimer, the term of this patent is extended or adjusted under 35 U.S.C. 156(a) by 31 days.
- (21) Appl. No.: 15/257,663
- (22) Filed: Sep. 6, 2016
- 605 Prior Publication Data
- US 2016/030923 A1 Dec. 22, 2016
- Related U.S. Application Data
- (62) Division of application No. 14/597,680, filed as application No. PCT/RU2013/000001 on May 21, 2013, now Pat. No. 9,879,329.
- (80) Foreign Application Priority Data
- Jun. 18, 2012 (U2) 2012/0233
- (51) Int. Cl. (2006.01)
- C12Q 1/08 (2006.01)
- C12Q 1/0796 (2006.01)
- (52) U.S. CL. (2013.01)
- C12Q 1/0866 (2013.01); C12Q 1/0796 (2013.01); C12Q 1/0797 (2013.01)
- (57) Abstract
- Methods and techniques to increase the reliability of detecting virus infections, particularly lymphotropic, or eliminate false negative reactions in testing blood for the presence of lymphotropic viruses during enzyme immunoassay (EIA) and polymerase chain reaction (PCR) testing, and to better detect viruses with lymphotropism in biological materials having a concentration of virus particles lower than the sensitivity threshold of existing EIA and PCR methods, thereby making the techniques of the present invention more reliable.
- 22 Claims, No Drawings

The
United
States
of
America

The Director of the United States
Patent and Trademark Office

Has received an application for a patent for a new and useful invention. The title and description of the invention are enclosed. The requirements of law have been complied with, and it has been determined that a patent on the invention shall be granted under the law.

Therefore, this

United States Patent

Grants to the person(s) having title to this patent the right to exclude others from making, using, offering for sale, or selling the invention throughout the United States of America, or importing the invention into the United States of America, and if the invention is a process, of the right to exclude others from using, offering for sale or selling throughout the United States of America, or importing into the United States of America, products made by that process, for the term set forth in 35 U.S.C. 154(a)(2) or (c)(1), subject to the payment of maintenance fees as provided by 35 U.S.C. 41(b). See the Maintenance Fee Notice on the inside of the cover.

Joseph Mataf

Performing the Functions and Duties of the
Under Secretary of Commerce for Intellectual Property and
Director of the United States Patent and Trademark Office



(12) **United States Patent** (110) Patent No.: **US 9,873,922 B2**
Gulyamov (45) Date of Patent: ***Jan. 23, 2018**

(54) **METHOD FOR REDUCTION OR ELIMINATION OF FALSE-NEGATIVE ENZYME IMMUNOASSAY AND POLYMERASE CHAIN REACTION TESTING RESULTS** (52) **CTDQ 1776** (2006.01)
CTDQ 1688 (2006.01)
U.S. CL.
CPC: **CTDQ 1768** (2013.01); **CTDQ 1686** (2013.01); **CTDQ 1776** (2013.01); **CTDQ 1776** (2013.01); **CTDQ 1767** (2013.01)

(71) Applicant: **Osk Leonardovich Mkrtychyan**, Tashkent (UZ)

(72) Inventor: **Nariman Gulyamov**, Tashkent (UZ)

(73) Assignee: **Leonardovich Mkrtychyan**, Tashkent (UZ)

(*) Notice: Subject to any disclaimer, the term of this patent is extended or adjusted under 35 U.S.C. 154(b) by 0 days.
This patent is subject to a terminal disclaimer.

(21) Appl. No. **15042471**

(22) Filed: **Nov. 3, 2016**

(65) **Prior Publication Data**
US 20120073779 A1 **Mar. 16, 2017**

Related U.S. Application Data

(62) Division of application No. 14797480, filed as application No. PCT/UZ2013/000001 on May 21, 2013.

(60) **Foreign Application Priority Data**
Jan. 18, 2012 (UZ) _____ 20120233

(51) **Int. Cl.** (2006.01)
CTDQ F386 (2006.01)
CPC F386 (2006.01)

(56) **Field of Classification Search**
None
See application file for complete search history.

(58) **References Cited**
U.S. PATENT DOCUMENTS
5,076,680 A * 10/1997 Sokols _____ CTDQ 1703 4709

OTHER PUBLICATIONS
Baughman et al. (Journal of General Virology, 2003, vol. 84, p. 3177-3189).
Culhane et al. (Journal of Virology, 2004, vol. 78, p. 9805-9813).
* cited by examiner

Primary Examiner — Agnieszka Bosen
(74) **Attorney, Agent, or Firm** — Raymond Van Dyke, Van Dyke Law

(57) **ABSTRACT**
Methods and techniques to increase the reliability of detecting virus infections, particularly lymphocytosis, to eliminate false negative reactions in testing blood for the presence of lymphocytic viruses during enzyme immunoassay (EIA) and polymerase chain reaction (PCR) testing, and to better detect viruses with lymphocytosis in biological materials having a concentration of virus particles lower than the sensitivity threshold of existing EIA and PCR methods, thereby making the techniques of the present invention more reliable.

28 Claims, No Drawings

Государственное патентное ведомство Израила

State of Israel
Patent Office



חוק הפטנטים, תשנ"ז-1967
Patents Law, 5727 - 1967

מדינת ישראל
רשות הפטנטים



אוריאל אלון
רעם הפטנטים
המרכזים לימינה הפטנטים
Commissioner of Patents
Designs and Trademarks



העדות זו מוכיח אישור כי דבר פתח
הפטנט ירשום בפנקס הפטנטים
This Certificate certifies that
the grant of the Patent¹ has
been recorded in the Register
of Patents.

המסמך

מסמך זה מוכיח את תוקף ההגדרה כפטנט לפי חוק הפטנטים, תשנ"ז-1967. ההגדרה נרשמה
בפנקס הפטנטים. המסמך ירשום בפנקס הפטנטים אם יישלח אגרת הידועה כפטנטים ובמסמכים
הקשורים בהתאמה עם אל מרכז הפטנט בירושלים.

מסמך זה יחול תוקף כל עוד הפטנט יחייב בתוקפו. במקרים שבהם ירשום בפנקס הפטנטים על שם אחר
שמו בדמות הפטנט יחייב בהגדרה הפטנטים על שמו יחול תוקף לידו על שמו
הפטנט יחייב בתוקפו. המסמך ירשום בפנקס הפטנטים על שמו של הפטנטים. המסמך יחול תוקף
הפטנטים על אגרת ההגדרה והפטנטים יחול תוקף על שמו של הפטנטים. המסמך יחול תוקף

לאחר שם, יחול הפטנטים המכונים לפרטוקל של אגרת ההגדרה.
לפי חוק הפטנטים
לפי חוק הפטנטים
לפי חוק הפטנטים
לפי חוק הפטנטים

החוק הפטנטים

החוק הפטנטים יחול תוקף כל עוד הפטנט יחייב בתוקפו. במקרים שבהם ירשום בפנקס הפטנטים על שם אחר
שמו בדמות הפטנט יחייב בהגדרה הפטנטים על שמו יחול תוקף לידו על שמו
הפטנט יחייב בתוקפו. המסמך ירשום בפנקס הפטנטים על שמו של הפטנטים. המסמך יחול תוקף
הפטנטים על אגרת ההגדרה והפטנטים יחול תוקף על שמו של הפטנטים. המסמך יחול תוקף

CONDITIONS OF THE PATENT

The grant of the Patent and rights of the patentee are subject to the provisions of the Patents Law, 5727-1967 and the provisions of any other law.
The Patent shall remain in force for a period of twenty years from the date of the Patent application provided that the renewal fees are paid at the rates and times prescribed by the regulations and provided that the Patent does not become otherwise invalid.

A Patent of Addition shall remain in force as long as the main Patent is in force and no renewal fees are payable in respect thereof.
Any change in the ownership of a Patent must be recorded in the Register of Patents, in order to become effective with regard to a third party.
The Patent will remain in force without payment of any renewal fee for three months following the date of grant.
The first renewal fee will fall due for payment prior to expiration of three months from the date of grant.

Thereafter, renewal fees will be payable as follows:

- Prior to the end of the sixth year
- Prior to the end of the tenth year
- Prior to the end of the fourteenth year
- Prior to the end of the eighteenth year

Calculated, in every case, from the date of the Patent Application

Particulars of the fees may be obtained from the Patent Office prior to each renewal date.
Prior to the expiration of three months from the date, of grant, it is possible to pay the renewal fee for the whole of the twenty-year period.

רשות אגרות פטנטים ומסמכים, י. גן הטכנולוגיה מילתא,
בניין מס' 3, ירושלים, תלפקד 9491303
טל' 972-2-5651641, פקס 972-2-5651644
www.patents.gov.il



* See reverse of certificate for patent validity *
ראו תוקף הפטנט ראה בצד ההעברה *

**Африканская региональная
организация по
интеллектуальной собственности
(ARIPO)**

*(Ботсвана, Гана, Гамбия, Кения,
Либерия, Лесото, Малави, Мозамбик,
Намибия, Руанда, Судан, Сьерра-
Леоне, Королевство Свазиленд,
Танзания, Уганда, Замбия, Зимбабве)*

**Государственное патентное
ведомство ЮАР**


 REPUBLIC OF SOUTH AFRICA REPUBLIEK VAN SUID AFRIKA

PATENTS ACT, 1978

CERTIFICATE

In accordance with section 44 (1) of the Patents Act, No. 57 of 1978, it is hereby certified that:

OBSCHESTVO S OGRANICHENNOI OTVETSTVENNOSTYU "NEW MEDICAL TECHNOLOGIES"

Has been granted a patent in respect of an invention described and claimed in complete specification deposited at the Patent Office under the number

2014/05954

A copy of the complete specification is annexed, together with the relevant Form P2.


In testimony thereof, the seal of the Patent Office has been affixed at Pretoria with effect from the **25** day of **November 2015**



 Registrar of Patents



FORM 25 (12) PATENT granted by (19) AP


 AFRICAN REGIONAL INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION (ARIPO)

(11) 4816 (A)

(21) Application No. : AP/17(2014)000852	(73) Applicant(s) HEALTHCARE LABORATORY DMB, 0106 Teyateya Street, 470-472-474, Phiso- tlogole District, Teyateya, 100027, Botswana	
(22) Filing Date : 21.05.2013		
(24) Date of Grant & (45) Publication : 06.06.2019		
(30) Priority Data	(31) Number	(32) Date
(33) Country	20120239	28.06.2012
(34) Designated States:		
BW GH GN KE LR LS MW		
MZ NA RW SD SL SZ TZ		
US ZM ZW		
(54) International Classification :	G06N 33/488 (2006.01) C13Q 1/04 (2006.01)	C12Q 1/08 (2006.01) G01N 33/569 (2006.01)
(54) Title	Method for assessing the viability of viruses with lymphotropism	
(57) Abstract	<p>Use: medicine and biotechnology.</p> <p>Aim: to increase the reliability of determining infection by viruses with lymphotropism; to eliminate false-negative reactions in testing blood for the presence of lymphotropic viruses during EIA and PCR testing; and to detect viruses with lymphotropism in biological material having a concentration of virus particles lower than the sensitivity threshold of EIA or PCR methods.</p> <p>Essence of the invention: the method for assessing the viability of viruses with lymphotropism comprises collecting biological material and determining whether said material contains virus RNA or DNA by means of conducting a polymerase-chain reaction (PCR reaction). In addition, a lymphocyte suspension is taken from the blood of healthy people, to which lymphotropism an equal volume of biological material is added. This combination is then mixed, incubated at a temperature of 37°C for a period of 6-8 hours, and the lymphocytes are washed of plasma and broken down. The lymphocyte cytoplasm is then subjected to PCR testing. The detection of virus RNA or DNA in the lymphocyte cytoplasm indicates that the viruses have retained their viability. The absence of virus RNA or DNA in the lymphocyte cytoplasm indicates the inactivation of the viruses.</p>	
(56) Documents Cited :	US 2009/176202 A1 M. Cabreno et al Walker-Pfeifer et al Bergman C. S. H.	KOYA ADEYOSIN et al Robert E. Larkfield et al US 5 676 980 A S. PALMER et al MORRIS T et al Cockroone et al