

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 751163 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 751163

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
G01N

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **18.04.1975**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **18.04.1975**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **22.10.1975**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **12.06.2019**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

21.04.1974 IL 44675

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •Rafa Laboratories Ltd., Ezor Hatassya Romena Jerusalem, Israel, ISRAEL, (IL)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Grundman, Lea, Israel, ISRAEL, (IL)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Leitzinger Oy, High Tech Center, Tammasaarenkatu 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Serodiagnostinen seos

Serodiagnostisk blandning

Rafa Laboratories Ltd.
Ezor Hatasyaa Romema
Jerusalem
Israel

Serodiagnostinen seos. - Serodiagnostisk blandning.

Oheisen keksinnön kohteena on luteinisoivan hormonin (josta seuraa-
vassa käytetään merkintää "LH") konsentraation määrittämiseksi tar-
koitettu serodiagnostinen seos.

Naisten kehonesteissä löydetään ovulaation aikana suurempia LH-kon-
sentraatioita. Ennen ovulaatiota virtsan LH-konsentraatio on noin
25-100 I.U./l. Tämä nousee ovulaation aikaiseen huippuarvoon noin
150-500 I.U./l. Testaamalla virtsanäytteet päivittäin kahden kuukau-
tisjakson välillä on mahdollista määrittää päivä, jolloin LH-konsen-
traatio nousee huippuarvoonsa ja siten ovulaatiopäivä, so. päivä,
jolloin nainen on hedelmällinen. LH-konsentraatio voidaan määrittää
immunomäärityksen avulla käyttämällä standardina ihmissikiön suoni-
kalvon gonadotropiinihormoonia (josta seuraavassa käytetään merkintää
"HCG"), koska molemmat hormonit reagoivat keskenään serologisesti
(1 I U HCG:a = 2,5 I.U. LH:a). Oheisessa keksinnössä käytetään hyö-
dyksi tätä ristikkäisreaktiivisuutta. HCG-hormoonilla herkistetyt
erytrosyytit agglutinoidaan anti-HCG-seerumilla. Hemagglutinaatio
inhiboidaan vapaan HCG-hormoonin läsnäollessa, kun sitä on kehonesteessä
ennalta määrätty konsentraatio tai kun mukana on yhtä suuri
konsentraatio LH-hormoonia.

Mainittu ennalta määrätty konsentraatio on testin herkkyyden funktio. Mainittu herkkyys voidaan säätää mihin tahansa haluttuun arvoon muuttamalla reaktioaineen konsentraatiota. Oheisen keksinnön päämäärän kannalta on havaittu, että reaktioaineet tulisi säätää siten, että hemagglutinaatio inhiboidaan käyttämällä aluksi kehonesteessä vapaan HCG-hormoonin konsentraationa 50 I U /l tai yhtä suurta konsentraatiota LH-hormoonia.

Vireillä olevassa hakemuksessa n:o 34.960, jonka lisähakemus tämä hakemus on, on kuvattu ja esitetty vaatimus seoksesta, jolla määritetään, onko jokin henkilö raskaana vai ei, jolloin seos muodostuu oleellisesti HCG-hormoonista, joka on kytketty punaisiin verisoluihin käyttämällä niiden välisenä kytkentäaineena glutaaraldehydiä.

Nyttemmin on havaittu, että mainittua seosta voidaan käyttää myös LH-hormoonin konsentraation määrittämiseen naisen kehonesteessä.

Oheinen keksintö muodostuu siten serodiagnostisesta seoksesta, jolla määritetään luteinisoivan hormoonin (LH) konsentraatio naisen kehonesteessä, jolloin mainittu seos muodostuu oleellisesti ihmissikiön suonikalvon gonadotropiinihormoonista (HCG), joka on kytketty punaisiin verisoluihin käyttämällä niiden välisenä kytkentäaineena glutaaraldehydiä. Mainittuja soluja kutsutaan tässä yhteydessä herkistetyiksi soluiksi.

Punaiset verisolut saadaan parhaiten lampaista. Ne voidaan kuitenkin saada myös mistä tahansa muusta eläimestä, esimerkiksi hiirestä tai jopa ihmisestä.

Kun mainittu seos pestään boraatti-suolaliuoksella, sitä voidaan säilyttää melko pitkän ajan. Aikaa voidaan pidentää lisäämällä tiettyjä aineita, esimerkiksi gelatiinia. Tätä ainetta lisätään, mikäli sitä lainkaan lisätään, 1 paino/tilavuus-prosenttiin asti, parhaiten noin 0,05-0,2 %.

Oheisen keksinnön mukaisen serodiagnostisen seoksen stabiilisuuden lisäämiseksi edelleen herkistetyt verisolut voidaan, sen jälkeen kun ne on pesty boraatti-suolaliuoksella, käsitellä edelleen glutaaraldehydillä tai formaldehydillä.

On olemassa Luteonosticon-nimellä tunnettu samanlainen serodiagnostinen seos, jolla määritetään LH-hormooni. Testin, jossa käytetään mainittua tunnettua seosta, suorituskyvyllä on kuitenkin vakavia haittoja, mm. seuraavat:

- a. Siihen tarvitaan sentrifugoitua virtsaa
- b. Laimennusaine on laimennettava
- c. Esi-inkuboinnin aika on noin 2-4 tuntia
- d. Tarvitaan vielä enemmän inkubointia
- e. On suoritettava sentrifugointi
- f. Esi-inkuboitu seos on siirrettävä toiseen koeputkeen, so. jokaisessa testissä tarvitaan vähintään kaksi koeputkea.

Kuten seuraavassa on esitetty, kokeessa, joka suoritetaan oheisen keksinnön mukaisella seoksella, vältetään oleellisesti edellä olevat haitat, so.

- a. Virtsaa ei tarvitse sentrifugoida
- b. Laimenninta ei tarvitse laimentaa
- c. Esi-inkubointiin tarvittava aika on vain noin 1 tunti
- d. Mitään muuta inkubointia ei tarvita
- e. Mitään sentrifugointia ei tarvitse suorittaa
- f. Koko koe voidaan suorittaa yhdessä koeputkessa.

Oheinen keksintö käsittää myös menetelmän, jolla määritetään LH-hormoonin konsentraatio naisen kehonesteessä, jossa menetelmässä sekoitetaan mainittua kehonestettä anti-HCG-seerumin kanssa ja sekoitetaan saatu seos oheisen keksinnön mukaisen serodiagnostisen seoksen kanssa. Kehonesteen ja anti-HCG-seerumin seoksen annetaan edullisesti seistä noin 1 tunti ennen serodiagnostisen seoksen lisäämistä.

Kehonesteenä voidaan käyttää seerumia tai virtsaa. Parhaiten käytetään juuri suodatettua aamuvirtsaa.

Kuukautisjakson alussa ja lopussa virtsan LH-konsentraatio on alhainen, so. pienempi kuin arvo, joka on asetettu testin herkkyydelle. Siten tapahtuu hemagglutinaatiota. Hetkellä, jolloin saavutetaan ennalta määrätty konsentraatio, esimerkiksi noin 11 päivän jälkeen (siinä tapauksessa, että mainittu konsentraatio on 50 I U HCG/litra virtsaa), ei tapahdu enää hemagglutinaatiota, ja havaitaan muodostuvan "napin" tai renkaan. Tätä tapahtuu noin 20 päivään asti syklin alkamisen jälkeen.

Jokainen kokeen suorittamiseen perehtynyt henkilö voi renkaan vahvuudesta päätellä kvalitatiivisesti LH-konsentraation. Mainittu konsentraatio voidaan kuitenkin määrittää kvantitatiivisesti laimentamalla virtsa ja toistamalla koe. Päivä, jona LH-konsentraatio virtsassa on korkein, merkitsee ovulaatiopäivää, so. päivää, jona nainen on hedelmällinen. Toistamalla testi usean kuukauden ajan, voidaan saada varmuus siitä, minä syklin päivänä nainen on hedelmällinen. Tämä hedelmällisyyspäivän määrittäminen on eräs oheisen keksinnön osa.

Vaikkakin oheisen keksinnön suositellussa suoritusmuodossa menetelmä suoritetaan liuoksessa, edullisesti puskuriliuoksessa, jonka pH on 5-8,5, se voidaan tehdä myös muussa muodossa. Siten keksinnön mukainen serodiagnostinen seos voidaan puristaa tabletiksi, kyllästää paperiliuskalle tai vastaavalle. Näin säilytetty seos saatetaan sen jälkeen sopivalla tavalla kosketukseen anti-HCG-seerumin ja naisen kehonesteen kanssa.

On helppo ymmärtää, että serodiagnostisen seoksen eri osien määrät on valittava siten, että HCG on kunnolla yhtynyt päällystettyihin punaisiin verisoluihin. Ei ole toivottavaa käyttää liian suurta ylimäärää mitään seoksen eri osista.

Tietyissä olosuhteissa, so. kun sekä herkistetyt solut että anti-HCG-seerumi ovat lyofilisoidut, ne voidaan sekoittaa yhteen ja säilyttää tässä muodossa. Myös tämä seos sisältyy oheisen keksinnön piiriin.

Siinä tapauksessa, että käytetään seosta, menetelmä suoritetaan sekoittamalla virtsa tämän seoksen kanssa.

Oheisen keksinnön mukaisen menetelmän suorittamiseksi voidaan käyttää mitä tahansa tunnettua anti-HCG-seerumia, mikäli se on riittävän spesifinen käytetyn HCG-hormoonin suhteen. Edullista on kuitenkin käyttää anti-HCG-seerumia, joka on valmistettu seuraavassa esitetyllä menetelmällä ja kehitetty oheisen keksinnön yhteydessä. Käytettävä anti-HCG-seerumin määrä varmistetaan jokaiselle seerumille myöhemmin esitetyllä tavalla.

Oheista keksintöä havainnollistetaan viitaten seuraaviin esimerkkeihin, jotka eivät kuitenkaan rajoita keksintöä.

Esimerkki 1Absorboidun anti-HCG-seerumin valmistaminen

a. 5 mg HCG-valmistetta, jonka teho oli 2500-3500 I.U./mg, liuotettiin 5 ml:aan 0,15 M fosfaattipuskuria, pH 7,2. Saatu liuos homogenisoitiin yhtä suuren tilavuuden kanssa täydellistä Freund-apuainetta.

Fosfaattipuskuri sisälsi:

NaH_2PO_4 0,15 M liuosta	56 ml
Na_2HPO_4 0,15 m liuosta	147,5 ml

HCG-valmisteen edellä mainittu teho ei ole millään tavoin kriittinen immunisoinnin onnistumiselle. Sama koskee kaikkia seuraavia esimerkejä.

On ymmärrettävää, että voidaan käyttää jotakin muuta puskurisliuosta, mikäli se täyttää vaatimukset. pH-alue voi vaihdella välillä noin 5-8,5.

b. 0,1 ml ja 0,5 ml edellä olevaa homogenaattia injektoidiin vastavasti kaniinin, jonka paino oli 2,5-3,0 kg, jalkapohjaan ja ihon alle kerran viikossa kolmen peräkkäisen viikon aikana.

c. Viikon kuluttua ensimmäisistä injektioista kaniinista vuodatettiin veri ja seerumi erotettiin sentrifugoimalla ja säilytettiin jääkaappiin.

d. Epäspesifiset vasta-aineet absorboitiin seerumista sekoittamalla yhtä suuret tilavuudet seerumia ja normaalia ihmisen seerumia (ei sisällä HCG-hormoonia, inaktivoituu lämpötilassa 56°C 30 minuutin aikana ja absorboitu yhtä suureen tilavuuteen lampaan "pakattuja" ja pestyjä punaisia verisoluja). Saatua seosta kutsutaan "absorboiduksi anti-HCG-seerumiksi".

Esimerkki 2Erittäin spesifisen, absorboidun anti-HCG-seerumin valmistaminen

a. Homogenaatti valmistettiin samalla tavoin kuin esimerkin 1 vaiheessa a.

b. 0,1 ml ja 0,5 vaiheessa a. saatua homogenaattia injektoitiin vastaavasti kaniinin, jonka paino oli 2,5-3,0 kg jalkapohjaan ja ihon alaisesti kerran kuukaudessa kolmen peräkkäisen kuukauden aikana.

c. Viikon kuluttua ensimmäisistä injektioista kaniinin veri vuodatettiin ja seerumi erotettiin sentrifugoimalla ja säilytettiin jääkaapissa.

d. Epäspesifiset vasta-aineet absorboitiin seerumista samalla tavoin kuin esimerkin 1 vaiheessa d.

e. Muut epäspesifiset vasta-aineet absorboitiin sekoittamalla "absorboitua anti-HCG-seerumia" ja 20-50 % ei-spesifisiä virtsan proteiineja ja poistamalla nämä inkuboinnin jälkeen. Saatua seerumia kutsutaan "erittäin spesifiseksi, absorboiduksi anti-HCG-seerumiksi".

Anti-HCG-seerumi, joka oli valmistettu joko esimerkissä 1 tai esimerkissä 2, laimennettiin 0,15 M P.B.S.-liuoksella sopivaan konsentraatioon ja lopuksi lyofilisoitiin.

P.B.S.-liuos sisälsi:

NaH_2PO_4 0,15 M liuos	33,2 ml
Na_2HPO_4 0,15 M liuos	60,8 ml
NaCl	8,5 g
Tislattu vesi	900,0 ml

Esimerkki 3

Serodiagnostisen seoksen valmistaminen

1 ml 2,5-prosenttista glutaraldehydiliuosta fosfaattipuskurissa, jonka pH oli 7,2, lisättiin koko ajan sekoittaen seuraavaan seokseen:

0,15 M-0,5 M fosfaattipuskuri, pH 7,2	10 ml
"pakatus" punaiset verisolut	0,4 ml
HCG, jonka teho on sama kuin esimerkissä 1, fosfaattipuskurissa, pH 2, jonka konsentraatio 12 mg/ml	0,5 ml

Sekoittamista jatkettiin 1 tunti. Sen jälkeen valmiste pestiin kolme kertaa boraatti-suolaliuoksella (valmistettu seuraavassa kuvatul-

la tavalla) ja säilytettiin sen jälkeen jääkaapissa. Herkistettyjen solujen suspensioon lisätään joskus gelatiinia, edullisesti noin 0,1 % (w/v/).

Valmistusmenetelmää voidaan vaihdella suuresti. Puskurin pH voi vaihdella välillä 5-8,5; HCG-liuoksen konsentraatio voi olla 4-12 mg/ml ja glutaraldehydin 1-5 %. Tässä suhteessa viitataan myös patenttijulkaisuun n:o 34.960 esimerkkiin 3.

Boraattiliuos valmistettiin seuraavasti:

a. Natriumkloridia	0,85 %
b. H_3BO_3	12,37 g
NaOH	0,52 g
NaCl	8,00 g
H_2O	1000,00 ml:aan

Jokaiseen 97 ml:aan liuosta a. sekoitettiin 3 ml liuosta b.

Natriumatsidia lisättiin niin paljon, että lopulliseksi konsentraatioksi saatiin 0,1 %.

Esimerkki 4

Anti-HCG-seerumin standardisointi

Anti-HCG-seerumista valmistettiin kaksinkertaiset laimennukset (boraatti-suolavesi) sopiviin koeputkiin, joiden tilavuus oli 0,1 ml. Jokaiseen koeputkeen lisättiin 0,1 ml esimerkissä 3 valmistettua serodiagnostista seosta. Punaisten verisolujen konsentraatio oli 0,8 %. Putkia ravisteltiin ja niiden annettiin seistä huoneen lämpötilassa min 2 tuntia. Tämän jälkeen tulokset luettiin ja määritettiin sen seerumin suurimman laimennuksen konsentraatio, joka yhä agglutinoi punaisissa verisoluissa. Tämä konsentraatio on titrauksen päätepiste ja se määritellään yhdeksi hemagglutinaatioyksiköksi (hu). Oheisen keksinnön mukaisesti käytetään ovulaatiotestiin sopivaan konsentraatiota, joka voi vaihdella välillä 1,0-8,0 hu, ja on parhaiten noin 1,6 hu.

Esimerkki 5

Ovulaatiotestien suorittaminen

a. Naisilta kerättiin näytteet aamuvirtsasta kuukautisjakson jokaisena päivänä.

- b. Lyofilisoitu anti-HCG-seerumi liuotettiin lisäämällä 0,5 ml boraatti-suolaliuosta.
- c. Anti-HCG-seerumiliuoksesta laitettiin 0,1 ml:n suuruiset tasaosat yhteen vertailuputkeen ja koeputkeen, jotka oli merkitty numerolla, joka tarkoitti sitä päivien määrää, joka oli kulunut viimeisistä kuumekautisista virtsanäytteiden ottamiseen.
- d. Jokaiseen vastaavaan koeputkeen lisättiin 0,2 ml suodatettua aamuvirtsaa.
- e. Vertailuputkeen, joka sisälsi 0,1 ml anti-HCG-seerumia, lisättiin 0,2 ml boraatti-suolaliuosta, ja toiseen, tyhjään koeputkeen lisättiin 0,3 ml boraatti-suolaliuosta.
- f. Telinettä, joka sisälsi koeputket, ravisteltiin varovasti, annettiin seistä 1 tunti ulkoisen lämmön, esimerkiksi kuumentamisen, säteilyn, jne. vaikuttamatta.
- g. Yhden tunnin kuluttua vastaavaan putkeen ja jokaiseen vertailuputkeen lisättiin 0,1 ml herkistettyjä soluja, 0,8 %, jotka oli valmistettu esimerkin 3 mukaisesti.
- h. Koeputkia sisältävää telinettä ravisteltiin 1 minuutti ja annettiin sen jälkeen seistä 2 tuntia tärisyttämättä ja ulkoisen lämmön vaikuttamatta.
- i. Lopuksi tarkastettiin, oliko tapahtunut hemagglutinaatiota tai "napin" tai renkaan muodostumista.

Reagenssien jakaminen suoritettiin seuraavassa taulukossa esitetyllä tavalla.

Taulukko

Päiviä kahden kuukautisjakson välillä													Seerumi- kontrolli	Erytro- syytti- kontrolli
	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
Anti-HCG (ml)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		0,1	
Testatta- va virtsa (ml)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2		
Laimennin (ml)													0,2	0,3

Tulosten arviointi

Hemagglutinaatio, joka oli samanlainen kuin seerumikontrolliputkissa havaittu, osoittaa, että kyseinen koeputki sisältää HCG-hormoonia alle 50 I U HCG/litra virtsaa.

"Napin" tai renkaan muodostuminen (samanlainen kuin erytrosyyttiver-tailuputkessa) osoittaa, että testattu virtsa sisältää HCG-hormoonia vähintään 50 I U HCG/litra virtsaa tai enemmän.

Hormoonin määrä kasvaa vähitellen ensimmäisien päivien aikana menstruaation jälkeen tasolta 10-40 I U HCG (=25-100 I U LH)/litra virtsaa, saavuttaa maksimitason 60-240 I U HCG (=150-600 I U LH)/litra virtsaa ja pienenee alkutasoon ennen seuraavaa menstuaatiota.

Siinä tapauksessa, että useammassa kuin yhdessä koeputkessa HCG-hormoonia on enemmän kuin 50 I U HCG/litra virtsaa, suoritetaan edullisesti kvantitatiivinen testi, jolloin ovulaatiopäivä voidaan tarkemmin määrittää. Koe suoritetaan laimentamalla virtsa.

Kokeen herkkyyttä voidaan nostaa arvoon 25 I U HCG/litra virtsaa lisäämällä 0,4 ml virtsaa koeputkeen, joka sisältää 0,1 ml anti-HCG-seerumia (edellä käytetyn 0,2 ml:n asemesta) ja lisäämällä laimenninta vielä 0,2 ml jokaiseen vertailukoeputkeen.

Mukaanliitettyssä piirustuksessa on havainnollistettu kokeen tulokset kahden naisen kuukautisjakson keskellä. Oikealla puolella olevat käyrät ovat tuloksia kvalitatiivisista havainnoista, kun taas vasemmalla puolella olevat käyrät ovat tuloksia kvantitatiivista mittauksista. Ensimmäisen naisen ovulaatiopäivä on ilmeisesti 14. päivä menstruaation jälkeen ja toisen naisen 16. menstruaation jälkeen.

Patenttivaatimukset

1. Serodiagnostinen seos, jolla määritetään luteinisoivan hormonin (LH) konsentraatio naisen kehonesteessä, t u n n e t t u siitä, että seos muodostuu oleellisesti ihmissikiön suonikalvon gonadotropiinihormoonista (HCG), joka on kytketty punaisiin verisoluihin käyttämällä niiden välisenä kytkentäaineena glutaraldehydiä.
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen seos, t u n n e t t u siitä, että punaiset verisolut ovat lampaan verisoluja.
3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen seos, t u n n e t t u siitä, että se on suspendoitu liuokseen, joka on puskuroitu pH-arvoon välille 5-8,5.
4. Patenttivaatimuksen 3 mukainen seos, t u n n e t t u siitä, että puskuriliuos on boorihappo-suolaliuos.
5. Jonkin patenttivaatimuksen 1-4 mukainen seos, t u n n e t t u siitä, että mainittu liuos sisältää myös gelatiinia.
6. Serodiagnostinen seos, jolla määritetään luteinisoivan hormonin (LH) konsentraatio naisen kehonesteessä, t u n n e t t u siitä, että se on oleellisesti samanlainen kuin edellä on kuvattu esimerkkeihin viitaten.
7. Menetelmä patenttivaatimuksen 1, 2 tai 6 mukaisen seoksen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että sekoitetaan punaisia verisoluja ja HCG-hormoonia glutaraldehydiliuokseen, jolloin glutaraldehydi saa HCG-hormoonin kytkeytymään punaisiin verisoluihin.
8. Patenttivaatimuksen 7 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että liuos on puskuroitu pH-arvoon välille noin 5 ja 8,5.
9. Patenttivaatimuksen 10 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että puskuriliuos on boorihappo-suolaliuos.
10. Patenttivaatimuksen 9 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että seos käsitellään edelleen glutaraldehydi- tai formaldehydiliuoksella.

11. Patenttivaatimuksen 9 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että glutaraldehydi- tai formaldehydiliuos sisältää gelatiinia.
12. Menetelmä jonkin patenttivaatimuksen 1-6 mukaisen seoksen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että se on oleellisesti samanlainen kuin edellä on kuvattu esimerkkeihin viitaten.
13. Menetelmä LH-hormoonin konsentraation määrittämiseksi naisen kehonesteessä, t u n n e t t u siitä, että mainittua kehonestettä sekoitetaan anti-HCG-seerumin kanssa ja saatu seos sekoitetaan jonkin patenttivaatimuksen 1-6 mukaisen serodiagnostisen seoksen kanssa.
14. Patenttivaatimuksen 13 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että kehoneste on virtsa.
15. Patenttivaatimuksen 13 tai 14 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että kehonesteen ja anti-HCG-seerumin seoksen annetaan seistä 1 tunti ennen serodiagnostisen seoksen lisäämistä.
16. Patenttivaatimuksen 13 tai 14 mukaisen menetelmän muunnelma, t u n n e t t u siitä, että lyofilisoidun, jonkin patenttivaatimuksen 1-6 mukaisen serodiagnostisen seoksen ja anti-HCG-seerumin seos sekoitetaan kehonesteen kanssa.
17. Menetelmä LH-hormoonin konsentraation määrittämiseksi naisen kehonesteessä, t u n n e t t u siitä, että se on oleellisesti samanlainen kuin edellä on kuvattu esimerkkeihin viitaten.
18. Menetelmä ovulaatiopäivän määrittämiseksi, t u n n e t t u siitä, että ainakin yhden kuukautisjakson aikana suoritetaan päivittäin koheet jonkin patenttivaatimuksen 13-17 mukaisella menetelmällä, määritetään kvalitatiivisesti ja/tai kvantitatiivisesti päivä, jona LH-konsentraatio on suurin, so. ovulaatiopäivä.

Patentkrav

1. Serodiagnostisk komposition, varmed bestämmes koncentrationen av luteiniserande hormon (LH) i kvinnans kroppsvätska, k ä n n e t e c k n a d därav, att kompositionen består väsentligt av gonadotropin-hormon (HCG) från människofostrets ådermembran, som är kopplad med röda blodceller under användning av mellanliggande glutaraldehyd som kopplingssubstans.
2. Komposition enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a d därav, att de röda blodcellerna är blodceller från får.
3. Komposition enligt patentkravet 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a d därav, att den är suspenderad i en lösning, som är bufferterad till ett pH-värde mellan 5-8,5.
4. Komposition enligt patentkravet 3, k ä n n e t e c k n a d därav, att buffertlösningen är en borsyra-saltlösning.
5. Komposition enligt ett av patentkraven 1-4, k ä n n e t e c k n a d därav, att sagda lösning innehåller också gelatin.
6. Serodiagnostisk komposition, varmed bestämmes koncentrationen av luteiniserande hormon (LH) i kvinnans kroppsvätska, k ä n n e t e c k n a d därav, att den är väsentligt sådan som beskrivits i det föregående med hänvisning till exemplen.
7. Förfarande för framställning av kompositionen enligt patentkravet 1, 2 eller 6, k ä n n e t e c k n a t därav, att röda blodceller och HCG-hormon blandas i glutaraldehydlösningen, varvid glutaraldehyd får HCG-hormonen att kopplas med de röda blodcellerna.
8. Förfarande enligt patentkravet 7, k ä n n e t e c k n a t därav, att lösningen är bufferterad till ett pH-värde mellan c:a 5 och 8,5.
9. Förfarande enligt patentkravet 10, k ä n n e t e c k n a t därav, att buffertlösningen är borsyra-saltlösning.
10. Förfarande enligt patentkravet 9, k ä n n e t e c k n a t därav, att kompositionen behandlas vidare med glutaraldehyd- eller formaldehydlösning.

11. Förfarande enligt patentkravet 9, k ä n n e t e c k n a t därav, att glutaraldehyd- eller formaldehydlösningen innehåller gelatin.
12. Förfarande för framställning av kompositionen enligt något av patentkraven 1 - 6, k ä n n e t e c k n a t därav, att det är väsentligt sådant som beskrivits i det föregående med hänvisning till exemplen.
13. Förfarande för bestämmande av LH-hormonkoncentrationen i kvinnans kroppsvätska, k ä n n e t e c k n a t därav, att sagda kroppsvätska blandas med anti-HCG-serum och sagda komposition blandas med en serodiagnostisk kompositon enligt ett av patentkraven 1 - 6.
14. Förfarande enligt patentkravet 13, k ä n n e t e c k n a t därav, att kroppsvätskan är urin.
15. Förfarande enligt patentkraven 13 eller 14, k ä n n e t e c k n a t därav, att blandningen av kroppsvätska och anti-HCG-serum får stå 1 timme före tillsatsen av serodiagnostisk komposition.
16. Variation av förfarandet enligt patentkravet 13 eller 14, k ä n n e t e c k n a t därav, att en blandning av lyofiliserad serodiagnostisk komposition enligt patentkravet 13 eller 14 och anti-HCG-serum blandas med kroppsvätska.
17. Förfarande för bestämmande av LH-hormonkoncentrationen i kvinnans kroppsvätska, k ä n n e t e c k n a t därav, att det är väsentligt sådant som i det föregående beskrivits med hänvisning till exemplen.
18. Förfarande för bestämmande av ovulationsdagen, k ä n n e t e c k n a t därav, att åtminstone under en menstruationsperiod utförs dagligen proven med förfarandet enligt ett av patentkraven 13 - 17 och kvalitativt och/eller kvantitativt bestämmas den dag då LH-koncentrationen är störst, d.v.s. ovulationsdagen.

Ovulaatiokäyrät

