



(19) INSTITUTO NACIONAL  
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL  
PORTUGAL

(11) *Número de Publicação*: PT 706346 E

(51) *Classificação Internacional*: (Ed. 6 )  
A61B010/00 A G01N033/76 -  
G01N033/74 -

(12) *FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO*

<p>(22) <i>Data de depósito</i>: 1994.06.24</p> <p>(30) <i>Prioridade</i>: 1993.07.02 EP 93305220</p> <p>(43) <i>Data de publicação do pedido</i>: 1996.04.17</p> <p>(45) <i>Data e BPI da concessão</i>: 2000.05.31</p>	<p>(73) <i>Titular(es)</i>: UNILEVER N.V. 455, WEENA 3013 AL ROTTERDAM NL</p> <p>(72) <i>Inventor(es)</i>: MICHAEL CATT PAUL HENRY CHARLES MUNDILL ZHI GANG ZHANG GB GB GB</p> <p>(74) <i>Mandatário(s)</i>: JOSÉ LUÍS FAZENDA ARNAUT DUARTE RUA DO PATROCÍNIO, 94 1350 LISBOA PT</p>
--	---

(54) *Epígrafe*: MÉTODO DE MONITORIZAÇÃO DO ESTADO DE FERTILIDADE

(57) *Resumo*:

RESUMO

Este documento descreve um método de monitorização do estado de fertilidade de um organismo, compreendendo a determinação da concentração de um ou mais marcadores de fertilidade no organismo, a comparação da concentração determinada com um valor de referência e a determinação do estado de fertilidade do organismo com base na comparação.

O método compreende a determinação da concentração de um ou mais marcadores de fertilidade no organismo, a comparação da concentração determinada com um valor de referência e a determinação do estado de fertilidade do organismo com base na comparação.

O método compreende a determinação da concentração de um ou mais marcadores de fertilidade no organismo, a comparação da concentração determinada com um valor de referência e a determinação do estado de fertilidade do organismo com base na comparação.

## DESCRIÇÃO

### "MÉTODOS DE MONITORIZAÇÃO DO ESTADO DE FERTILIDADE"

Esta invenção refere-se a métodos, dispositivos e "kits" de teste para utilização na monitorização do estado de fertilidade em fêmeas de mamíferos, especialmente humanos.

A invenção diz respeito particularmente, mas não apenas, a procedimentos simples, práticos, que podem ser prontamente aplicados por pessoas sem formação, p. ex. no lar, para proporcionar informação fiável respeitante ao estado de fertilidade, como um auxílio para a contracepção. Um objectivo importante da invenção é proporcionar tal informação enquanto se evita a necessidade de realizar testes numa base frequente (p. ex. diária) ao longo de cada ciclo de ovulação. A necessidade de testes regulares, p. ex. diários, ao longo do ciclo tem caracterizado muitos sistemas de monitorização do ciclo de ovulação previamente propostos.

A invenção pode também ser utilizada por pessoas que desejam aumentar a probabilidade de concepção, proporcionando uma indicação do tempo durante o ciclo de ovulação em que a fertilização é mais provável de ocorrer.

Para proporcionar informação fiável referente ao estado de fertilidade, deve ser dado ao utilizador aviso adequado do início da fase fértil do ciclo. Têm sido propostas uma variedade de técnicas na arte, algumas baseadas na monitorização de um ou mais parâmetros que se alteram à medida que o evento da ovulação se aproxima. Parâmetros típicos que têm sido invocados são a concentração de um analito de fluido corporal, tal como estradiol e metabolitos deste, por exemplo estrona-3-glucorónido (E3G). Outros parâmetros que têm sido utilizados são a

f l a

temperatura corporal basal (que pode proporcionar apenas informação de previsão para utilização em ciclos subsequentes) e várias alterações fisiológicas tais como as características de mucos vaginais.

Muitos estudos acadêmicos excelentes foram desenvolvidos utilizando tais parâmetros. Estes estudos estabeleceram como podem estes parâmetros estar correlacionados com o estado de fertilidade de um número médio de uma amostra grande da população. Um exemplo é Collins et al. (1981), *Proc. Xth International Congress on Fertility and Sterility*, Publ MTP Ltd, p. 19-33. Um objectivo subjacente em muitos estudos é promover a concepção em indivíduos previamente considerados como sendo inférteis.

Contudo, quando se tenta desenvolver um sistema prático de monitorização adequado para utilização por indivíduos, verifica-se que muitos sujeitos individuais não estão em conformidade com a média em termos de extensão do ciclo e/ou duração e altura da fase fértil. A extensão da variação de um indivíduo para outro e, na realidade, de um ciclo para outro no mesmo indivíduo, faz com que os resultados da média da população não sejam fiáveis para utilização prática consistente.

É compreensível que, dado que a consequência severa de aconselhamento imperfeito em relação ao estado da fertilidade possa ser uma gravidez indesejada, a tendência tenha sido aplicar um cuidado extremo e requerer testes do parâmetro ou parâmetros relevantes ao longo do ciclo, e particularmente desde o início do ciclo (início do fluxo menstrual). Do ponto de vista do indivíduo utilizador seria vantajoso se a necessidade de tais testes constantes pudesse ser evitada e, em alternativa, que os testes pudessem ser realizados ao longo de uma porção comparativamente curta de cada ciclo. Isto poderá não apenas

beneficiar o utilizador em termos de conveniência, mas o custo do método pode também ser reduzido se o método utilizar dispositivos de teste descartáveis e forem apenas requeridos poucos desses dispositivos de teste descartáveis em cada mês.

Um exemplo de um sistema para detectar o início da ovulação, utilizando condensados de um polímero que incha com água para "medir" o conteúdo em água do muco vaginal, que aparentemente aumenta no momento da ovulação, é descrito em US 4151833 (Polishuk). É referido que a variação do pico no tamanho dos condensados, como um resultado da absorção de água do muco cervical, está intimamente relacionado com o surgimento de LH e com a variação da temperatura corporal basal. A partir dos resultados experimentais fornecidos em US 4151833 (Figura 8), parece que o diâmetro do condensado está na verdade relacionado muito intimamente com o momento do surgimento de LH, e como consequência o sistema proposto não pode proporcionar na prática um aviso fiável do início da ovulação mais cedo do que o obtido a partir do conhecimento da concentração de LH.

Em EP-A-385621 (Coley *et al.*/Unilever) são descritos os defeitos dos sistemas de monitorização do ciclo de ovulação que se baseiam primeiramente na alteração de BBT para estimar o momento da ovulação, e nós propomos aqui um sistema que utiliza a medição regular de BBT em combinação com o conhecimento de outros parâmetros, particularmente a medição dos níveis urinários de certas hormonas. Uma proposta particular é que BBT seja medido diariamente ao longo de cada ciclo e seja utilizado para estimar os tempos da variação do estado de fertilidade num ciclo seguinte. Durante o curso deste ciclo seguinte (previsto), os níveis urinários de hormona são verificados a certos tempos para confirmar que o progresso do ciclo, como previsto a partir do conhecimento prévio de BBT, é consistente. Hormonas particulares seleccionadas são E3G, P3G e LH. É sugerido que o

nível de E3G urinário seja medido em pelo menos um dia durante o intervalo dos dias 5 a 7 do ciclo previsto, e novamente em pelo menos um dia durante o intervalo do dia 10 ao dia 15 do ciclo previsto. De acordo com o exemplo em EP 385621, é suficiente que o nível hormonal seja "alto" ou "baixo" em relação ao valor limiar. O ênfase ao longo de EP 385621 é que as medições ocasionais de nível hormonal são utilizadas para suplementar um sistema de monitorização que se baseia na medição de BBT. Não há sugestão de que as medições da hormona isoladamente possam proporcionar a base para um sistema personalizado de monitorização de fertilidade fiável, para um sujeito individual.

WO-A-9404926 (Catt et al./Unilever) citado no Artigo 54(3) EPC revela um método de monitorização do estado de um ciclo de ovulação corrente de um sujeito fêmea humana individual, envolvendo testes da concentração no fluido corporal de um analito significativo em relação ao estado do ciclo de ovulação, tal como a E3G urinária, durante pelo menos parte da fase de pré-ovulação do corrente ciclo de ovulação do sujeito individual, e identificação a partir dos resultados de tais testes da carga de concentração de um analito indicadora de ovulação iminente, relativa a um valor de concentração de referência de analito que tem sido adaptada a um sujeito individual humano com base nos resultados de testes da concentração do analito obtidos a partir do sujeito individual humano durante um ou mais ciclos de ovulação prévios.

Um objectivo da presente invenção é proporcionar um sistema para monitorizar o estado de fertilidade de um sujeito individual, que proporcione aviso suficiente do início da fase fértil para permitir que seja fornecido aconselhamento contraceptivo e que possa ser personalizado para o sujeito individual, enquanto seja baseado apenas nas medições do analito no fluido corporal. A falta de fiabilidade ou utilidade limitada inerentes a outros

sistemas de medição (tais como BBT) podem, por isso, ser evitadas. Um outro objectivo é evitar a utilização de resultados de médias obtidas a partir de estudos de populações, com o seu risco inerente de, num sujeito individual, o parâmetro em teste poder flutuar consideravelmente em relação à norma da população.

Outro objectivo é proporcionar a opção de basear um sistema de monitorização eficaz apenas na medição de um único analito do fluido corporal, tal como o estradiol ou um metabolito deste. Outras vantagens da invenção serão evidentes a partir da seguinte descrição.

Outro objectivo da invenção é proporcionar um regime de teste que seja um bom equilíbrio entre o desejo de minimizar a carga de testes no utilizador e a necessidade de fornecer ao utilizador conselho vantajoso sobre o estado de fertilidade.

A invenção proporciona um método de monitorizar o estado de fertilidade de um sujeito fêmea de mamífero individual, em que a concentração de um analito no fluido corporal possível de obter do sujeito seja testada pelo menos uma vez durante o intervalo que se estende entre os dias 1 e 7 inclusivamente, do corrente ciclo e também mais tarde no corrente ciclo, para determinar se a alteração da concentração indicadora de ovulação iminente está a ocorrer ou ocorreu, caracterizada por:

- a) é determinado o dia numérico médio no qual a própria ovulação ocorreu durante um ou mais ciclos de ovulação prévios no sujeito;
- b) o teste de pelo menos um dia realizado durante o intervalo que se estende entre os dias 1 e 7 é utilizado para estabelecer um valor de concentração de referência ou sinal de teste para o referido analito para o corrente ciclo; e

c) este último teste no corrente ciclo compreende uma série de testes para o referido analito, realizados durante um período de dias, começando pelo menos 5 dias numéricos antes do referido dia numérico médio da ovulação e o valor da concentração ou sinal de teste dos referidos testes anteriores é comparado com o valor de concentração de referência ou sinal de teste.

Apenas com o objectivo de ilustração, a invenção será descrita em relação à medição de analitos urinários e especialmente "E3G" (estrone-3-glucoronido) e "LH" (hormona de luteinização).

Adicionalmente à estrone-3-glucoronido já mencionada, os metabolitos de estradiol que também podem ser ensaiados para os objectivos da invenção incluem estradiol-3-glucoronido, estradiol-17-glucoronido, estriol-3-glucoronido, estriol-16-glucoronido e (principalmente para sujeitos não humanos) estrone-3-sulfato. Como será entendido a partir da seguinte descrição, a invenção pode ser aplicada prontamente aos resultados derivados da medição das concentrações no fluido corporal de outros analitos significativos em relação ao estado do ciclo de ovulação. Geralmente, os analitos mais adequados são hormonas e seus metabolitos. A hormona de estimulação dos folículos (FSH) é um exemplo. Exemplos de fluidos corporais alternativos, que são relativamente acessíveis, são saliva, fluido crevicular, suor, sebo, lágrimas e fluido vaginal. Em princípio podem ser utilizados fluidos internos, tais como sangue, mas geralmente não são preferidos porque apenas podem ser alcançados através de técnicas invasivas.

O leitor especialista também entenderá que a "concentração" no fluido corporal do analito ou analitos escolhidos não necessita ser medida em termos absolutos, embora isso possa, obviamente, ser realizado se desejável. Geralmente, será suficiente ensaiar

f. L. A.

um analito de um modo que produza um sinal, convertível em resultado numérico, relacionado com a própria concentração, de modo a que tais resultados possam ser comparados com resultados semelhantes obtidos num estágio diferente do ciclo, para determinar se ocorreu ou não uma alteração significativa na concentração. De acordo com o exposto, quando a especificação e as reivindicações se referem a "concentração" de um analito, esta expressão deve ser interpretada num sentido lato.

Um aspecto importante da invenção é um método de monitorização do corrente estado de fertilidade de uma fêmea humana individual, envolvendo testar a concentração de estradiol ou um metabolito deste no fluido corporal, e comparar o resultado do teste com um valor ou sinal de referência, para avaliar se está presente uma concentração elevada indicadora de ovulação iminente, em que o valor ou sinal de referência para o corrente ciclo de ovulação é estabelecido através de teste da concentração do fluido corporal no mesmo indivíduo pelo menos uma vez durante o intervalo que se estende entre os dias 1 e 7, inclusivé, do ciclo corrente.

A invenção refere-se por isso a um método de monitorização do estado de fertilidade de um sujeito fêmea de mamífero individual, envolvendo testes da concentração no fluido corporal de pelo menos um analito significativo em relação ao estado do ciclo de ovulação durante a fase de pré-ovulação, em que os testes do referido analito são realizados pelo menos uma vez durante o intervalo que se estende entre os dias 1 e 7, inclusivé, do corrente ciclo calculado a partir do início do fluxo menstrual (o dia 1 começa no dia em que primeiro se observa a menstruação), para estabelecer um valor de concentração ou sinal de referência para o referido analito no referido ciclo, e posteriormente o teste é realizado pelo menos uma vez (geralmente repetidamente, p. ex. diariamente) antes do

f l A

dia no qual é provável que a ovulação ocorra durante o ciclo, sendo os valores de concentração do analito ou os sinais, obtidos durante o último teste ou testes repetidos, sendo comparados com o valor de concentração ou sinal de referência, para determinar se a alteração da concentração indicadora de ovulação iminente está a ocorrer ou ocorreu desde o teste anterior.

Numa realização preferida a invenção proporciona um método de monitorização do estado de fertilidade de um sujeito fêmea individual, envolvendo testar a concentração no fluido corporal de pelo menos um analito significativo em relação ao estado do ciclo de ovulação durante a fase de pré-ovulação, em que os testes para o referido analito são realizados pelo menos uma vez durante o intervalo que se estende entre os dias 1 e 7 inclusivé, calculados a partir do início dos fluxos menstruais (sendo o dia 1 o dia no qual a menstruação é primeiro observada), para estabelecer um valor de concentração ou sinal de referência para o referido analito no corrente ciclo, e então os testes são realizados pelo menos uma vez (geralmente repetidamente, p. ex., diariamente) durante um período de dias começando pelo menos 5 e mais preferencialmente pelo menos 6 dias numéricos antes do dia da média numérica no qual a própria ovulação ocorreu em um ou mais ciclos prévios de ovulação no mesmo sujeito individual, sendo os valores da concentração do analito ou sinais obtidos durante o referido período de dias comparados com o valor de concentração ou sinal de referência para determinar se a alteração da concentração indicadora de ovulação iminente está a ocorrer ou ocorreu desde o teste anterior. Geralmente, os testes repetidos não necessitam ser começados anteriormente a cerca de 9 dias antes do dia médio de ovulação.

Preferencialmente, o valor de concentração de referência é estabelecido a partir do(s) teste(s) realizado(s) durante o intervalo que se estende entre os dias 4 e 7 inclusivé, mais preferencialmente a partir do(s) teste(s) realizados no dia 5 e/ou dia 6, e com preferência máxima a partir de um único teste realizado no dia 6.

Uma alteração significativa na concentração do analito indicadora de ovulação iminente, particularmente apropriado quando o analito é estradiol ou um metabolito deste, deverá ser geralmente notada quando a proporção da concentração de referência [r] para a concentração de teste [i] respeita o seguinte critério:

$$1,5 \leq \frac{[i]}{[r]} \leq 2,5$$

Em particular, especialmente quando o analito é E3G e o valor de referência é estabelecido no dia 6:

$$\frac{[i]}{[r]} \geq 2$$

Se o formato de ensaio escolhido por meio do qual os resultados das concentrações são obtidos produz um sinal que é inversamente proporcional à própria concentração, como pode ser o caso num ensaio de competição, será entendido pelo leitor especialista que a relação entre os sinais de [i] e [r] será o inverso dos fornecidos acima.

É geralmente considerado que haverá uma lacuna de pelo menos um dia, e mais usualmente vários dias, entre o estabelecimento do valor da concentração de referência e o início dos testes repetidos, durante a qual não é necessário realizar nenhum teste. Assim, numa situação ideal, o utilizador realiza um único

teste num estágio precoce do ciclo, p. ex. no dia 6, e vários dias mais tarde começa um calendário relativamente curto de testes repetidos, p. ex. diários, que termina após ter sido derivada informação suficiente para identificar a fase fértil, preferencialmente incluindo uma indicação do fim da fase fértil nesse ciclo. Tipicamente, esta determinação de testes ocorrerá no dia do surgimento de LH, ou no período de alguns dias posteriormente, de modo a que o restante do ciclo seja livre de testes.

Convenientemente, o fluido corporal pode ser urina. Um analito muito adequado é por isso estradiol ou um metabolito deste, tal como estrona-3-glucoronido.

Preferencialmente, numa realização da invenção, o dia de ovulação médio deriva dos resultados recolhidos durante pelo menos 3, e mais preferencialmente pelo menos 5, ciclos prévios consecutivos.

Idealmente, o dia de ovulação médio utilizado para calcular o tempo de intervalo para os objectivos do corrente ciclo é derivado dos resultados obtidos durante pelo menos o ciclo imediatamente precedente.

Um método particularmente conveniente envolve a determinação do dia médio de ovulação a partir de resultados obtidos de uma base de referência "progressiva" consistindo num número fixo de ciclos consecutivos imediatamente precedendo o corrente ciclo. Preferencialmente, esta base de referência progressiva consiste nos 3 a 12 ciclos imediatamente precedentes, mais preferencialmente nos 5 ou 6 ciclos imediatamente precedentes. Possuindo tal base de referência progressiva qualquer "desvio" progressivo na ocorrência de ovulação no indivíduo em questão

pode ser detectado e tido em conta na localização do próximo dia de início dos testes repetidos.

A invenção pode ser realizada utilizando um "kit" de teste compreendendo um ou mais dispositivos para determinar a concentração (em termos relativos ou absolutos) de pelo menos um analito referido no referido fluido corporal, juntamente com instruções aconselhando o utilizador a começar os referidos testes durante o referido intervalo de tempo, e meios que permitam o utilizador derivar o referido intervalo de tempo e/ou um dia preciso de início dos testes a partir do conhecimento do dia numérico no qual ocorre a ovulação durante pelo menos um ciclo prévio de ovulação do utilizador.

Outro aspecto da invenção, que pode ser combinado vantajosamente com qualquer método como apresentado acima, envolve:

a) fornecer ao utilizador uma pluralidade de dispositivos descartáveis de testes do fluido corporal, sendo a referida pluralidade preferencialmente pelo menos 7, mas preferencialmente não mais do que 12; e

b) orientar o utilizador para utilizar todos os referidos dispositivos de teste fornecidos durante um único ciclo de ovulação, de acordo com um calendário de testes pré-determinado, independentemente de ter sido obtida ou não uma indicação de ovulação iminente antes de todos os referidos dispositivos de teste fornecidos terem sido utilizados.

Preferencialmente, o utilizador é orientado para realizar um teste no dia 6, e utilizar todos os dispositivos de testes restantes numa base diária durante o período de testes repetidos.

A invenção pode ser realizada utilizando um "kit" compreendendo uma pluralidade de dispositivos de testes de fluido corporal, juntamente com meios para leitura e interpretação dos resultados dos testes realizados utilizando os referidos dispositivos de testes.

Opcionalmente, é fornecido um conjunto de recarga de dispositivos descartáveis de testes de fluido corporal, para utilização em qualquer dos métodos apresentados acima, com instruções para o utilizador utilizar todos os referidos dispositivos de teste descartáveis contidos, durante o curso de um único ciclo de ovulação. Preferencialmente, o conjunto contém não mais do que 12 dispositivos de teste, mais preferencialmente pelo menos 7, mas não mais do que 10 dispositivos.

Ao requerer que o utilizador utilize todos os dispositivos de um único conjunto numericamente pequeno ou conjunto de dispositivos de teste descartáveis por ciclo, há vantagens tanto para o utilizador como para o fabricante dos dispositivos. O utilizador beneficia porque o horário de testes "mensal" é simplificado - não há necessidade de tomar uma decisão sobre quando parar os testes repetidos, ou sobre utilizar, durante ciclos subsequentes, restos de dispositivos de testes de ciclos anteriores. Para o fabricante, há uma segurança de que os resultados para cada ciclo derivam de um único conjunto de dispositivos de testes, eliminando assim problemas de padronização, que podem surgir de outra forma, e reduzir a complexidade de qualquer monitor requerido para interpretar os resultados do teste. Não é necessária nenhuma actividade do utilizador para assegurar a calibração dos ensaios. Os dispositivos descartáveis de testes podem ser fornecidos em conjuntos de recarga "mensal" padrão, optimizando a operação de empacotamento. Dado que o problema dos "restos" dos dispositivos

dos testes é eliminado, uma possível causa de dúvidas do cliente é também evitada.

Uma vantagem dos métodos da presente invenção é que a monitorização eficaz do ciclo de ovulação pode ser alcançada utilizando resultados derivados unicamente da medição da(s) concentração(ões) do analito no fluido corporal. É desnecessário combinar estes resultados com outros parâmetros. Em particular, não há necessidade de suplementar estes resultados com medições de rotina da temperatura corporal basal.

Adoptando um valor de concentração de referência a partir dos resultados na parte inicial do corrente ciclo, os métodos da invenção evitam a necessidade de calibração e asseguram que a referência da linha de base é pessoal para o sujeito sob teste. Isto leva a uma clara indicação da alteração significativa da concentração pré-ovulação, comparada com métodos previamente propostos baseados em medições dia-a-dia.

O analito escolhido para proporcionar o aviso de ovulação iminente não é crítico para a invenção, desde que o analito exiba uma alteração detectável de concentração dentro do intervalo de tempo entre o início dos testes (como aqui determinado) e um tempo com segurança antes da própria ovulação no corrente ciclo.

A invenção pode ser aplicada em qualquer método de monitorização do estado de um ciclo de ovulação de um sujeito fêmea humana individual, envolvendo a medição de um analito no fluido corporal, significativo em relação ao estado do ciclo de ovulação e que exibe uma alteração detectável durante a fase de pré-ovulação do ciclo ocorrendo pelo menos 2 e mais preferencialmente pelo menos 3 dias antes do dia da própria ovulação.

A seguinte descrição é fornecida apenas como um modo de exemplo, em relação às hormonas urinárias E3G, hormona de luteinização (LH), e pregnanediol-3-glucoronido (P3G), embora seja prontamente compreendido que os princípios do método podem ser utilizados em relação a outros marcadores bioquímicos, por exemplo as hormonas estradiol e progesterona, presente por exemplo no sangue e na saliva. O método da invenção pode ser utilizado em combinação com observações de outros sinais fisiológicos do nível de fertilidade numa fêmea, dos quais ela tem consciência, ou de que pode prontamente tomar consciência, p. ex. marcadores noutros fluidos corporais.

O dia da ovulação pode ser determinado por qualquer dos parâmetros químicos ou fisiológicos conhecidos, embora um método preferido seja através da medição do nível de LH. Uma vez que a onda de LH tenha sido detectada, pode dizer-se que a ovulação está iminente. Também, o dia do ciclo no qual a ovulação ocorreu pode ser tido em conta para futura referência. Se o surgimento de LH é detectado, e portanto o dia da ovulação é detectado com precisão, pode ser indicado ao utilizador com um grau muito elevado de certeza que o sujeito já não será fértil daí a quatro dias (3 dias após ovulação). Para efeitos práticos, uma concentração de LH urinária de 20 mIU/ml pode ser encarada como um limiar universal indicador do surgimento de LH em virtualmente todas as circunstâncias.

A expressão "surgimento de LH" é aqui utilizada para significar a subida dramática na concentração de LH que precede o evento da ovulação. Na arte, faz-se referência a "LH max", i.e. o pico da concentração de LH. Na maioria dos indivíduos, estes são simultâneos para todos os efeitos práticos, quando o ciclo é monitorizado numa base dia a dia. Contudo, nalguns indivíduos, talvez 20% da população, o próprio pico de concentração de LH não é observado até ao dia a seguir à principal subida de

concentração. Para os objectivos da invenção, preferimos utilizar a subida observável como o parâmetro crítico.

Alternativamente, ou adicionalmente, o fim da fase fértil pode ser declarado com base no conhecimento da concentração de estradiol (ou de um metabolito deste) no ciclo corrente. Convenientemente, isto pode ser declarado num dia marcado após o valor do pico de concentração. Dado que o pico de concentração de E3G urinária, por exemplo, parece ser um acontecimento menos prontamente detectável do que o surgimento de LH, o "pico" de E3G pode ser definido por referência a um valor limiar, determinado por exemplo pela relação:

$$\frac{[i]}{[r]} > 2,5, \text{ preferencialmente } \geq 3$$

sendo o "pico" considerado ocorrer no dia em que esta relação é primeiro satisfeita durante o regime de testes adoptado no corrente ciclo. A relação inversa aplicar-se-á se o sinal de E3G for inversamente proporcional à própria concentração. Nalguns casos, este pode ser o mesmo dia dado que a subida significativa de E3G indicadora de ovulação iminente é detectada. Quando o "pico" de E3G tiver sido detectado, a fase fértil pode ser assumida para terminar no sexto, ou mais seguramente no sétimo ou oitavo dia posterior. Nesta realização, a invenção proporciona a opção de um método de monitorização da fertilidade no corrente ciclo baseado unicamente nos resultados dos ensaios de estradiol/metabolito.

Outro método para prever o fim do período fértil (embora não com tanta precisão o dia de ovulação) é medir os níveis da hormona urinária P3G. P3G tem um nível relativamente baixo na urina até ao início da fase lútea, em cujo ponto o seu nível sobe de uma forma razoavelmente acentuada. Por isso, assim que seja

detectado um nível elevado de P3G, pode ser indicado ao utilizador que a fase lútea do ciclo - i.e. o período terminal de infertilidade - começou. Um nível elevado de P3G urinária pode basear-se em resultados obtidos durante o corrente e/ou um ou mais ciclos precedentes. Pode ser registado um nível "elevado" de P3G, por exemplo, quando o nível de P3G detectado for superior à soma dos quatro níveis prévios de P3G registados no mesmo ciclo menstrual, ou superior a 3500 ng/ml, qualquer deste dois limiares seja o mais baixo e o primeiro a ser alcançado. Uma vez que se registre um nível de P3G "elevado", o sujeito pode ser avisado que está infértil durante o resto do ciclo.

Se desejável, a detecção quer de LH ou de P3G pode ser utilizada como um disparador para indicar que o sujeito já não estará fértil até ao fim do ciclo, com uma hormona actuando como um "suporte" da outra. Contudo, é preferível que a detecção de LH seja utilizada como um primeiro indicador sobre se a ovulação ocorreu ou está em vias de ocorrer, uma vez que a detecção de LH presta-se a uma determinação mais precisa do dia exacto de ovulação do que a utilização de P3G.

São bem conhecidos dos especialistas na técnica métodos para detectar analitos de fluido corporal, tais como metabolitos de hormona urinária adequados para os objectivos deste método. Numa realização preferida, o analito é detectado através de métodos de ensaio e dispositivos como descritos na nossa Patente do Reino Unido GB 2204398 e no nosso pedido de patente Europeia EP-A-383619, cujos conteúdos são aqui incorporados por referência.

Sempre que o método da invenção se baseia na medição de um componente da urina, este deve ser realizado numa amostra de urina. Estão disponíveis uma variedade de técnicas de imunensaio que permitem que sejam medidos componentes da urina.

Têm sido descritos na literatura uma vasta variedade de dispositivos de teste em fase sólida, tais como paus de imersão e tiras de cromatografia, e podem ser rapidamente adaptadas para utilização na determinação de analitos urinários. O dispositivo deve pelo menos ser capaz de indicar níveis relativos de analito, p. ex. E3G, em bandas da região limiar. Exemplos de tecnologia de ensaio simples que pode ser rapidamente adaptada para utilização no lar são descritos, por exemplo, em EP 0225054, EP 0183442, EP 0186799 e GB 2204398, sendo as revelações destas especificações aqui incorporadas por referência. Podem ser utilizadas tiras de ensaio descartáveis, tais como as descritas em GB 2204398 que requerem apenas ser colocadas em contacto com a urina e que proporcionam um resultado de ensaio numa forma semi-qualitativa, p. ex. por meio de uma série de zonas de teste na tira que são progressivamente positivas a níveis de analito urinários mais elevados. Podem ser utilizadas tiras múltiplas que respondem a diferentes limiares de analitos, em vez de uma tira única. Alternativamente, um ensaio quantitativo de leitura visual pode ser baseado na progressão de uma região visível, p. ex. colorida, ou "frente" sobre a superfície (p. ex. difusão radial), utilizando por exemplo um ensaio com enzima marcada.

Numa realização mais sofisticada da invenção, é fornecido um dispositivo de registo que incorpora meios para a leitura do resultado do ensaio da urina, p.ex. através da medição da absorvância por ou da fluorescência a partir de uma tira de ensaio. Isto pode permitir que seja fornecida uma indicação numérica mais precisa do nível do analito e aumentar ainda a precisão do método.

Numa realização da invenção na qual são medidos dois ou mais analitos em simultâneo, tais medições podem ser realizados, se desejável, utilizando um único dispositivo de testes de fluido

corporal, p. ex., um dispositivo incorporando múltiplas tiras de ensaio, ou uma única tira capaz de detectar independentemente o nível dos diferentes analitos.

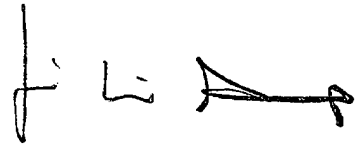
O sistema electrónico detalhado de um dispositivo de registo capaz de assimilar, memorizar e processar resultados da concentração de analito, bem como fornecer as características electrónicas preferidas do dispositivo aqui discutido, e prever futuros ciclos com base em tais resultados, pode ser rapidamente proporcionado pelos especialistas na arte da electrónica, uma vez que tenham sido avisados sobre os factores que um tal dispositivo deve ter em consideração, e sobre a informação que o dispositivo deve fornecer ao utilizador. Tais detalhes sobre o sistema electrónico não fazem parte da invenção. Contudo, apenas a título de exemplo, as funções básicas que podem ser requeridas num tal dispositivo são salientadas na Figura 3 das figuras acompanhantes e descritas brevemente abaixo.

Apenas a título de exemplo, os aspectos práticos da invenção são descritos abaixo com referência às figuras acompanhantes, das quais:

A Fig. 1 das figuras acompanhantes ilustra um dispositivo de monitorização do ciclo de ovulação, para utilização de acordo com a invenção, juntamente com um dispositivo de teste de amostra de urina associado.

A Fig. 2 apresenta um dispositivo de teste de urina em maior detalhe.

A Fig. 3 apresenta, numa forma esquemática as funções básicas que podem ser requeridas num monitor electrónico para utilização de acordo com a invenção.



Em referência à Figura 1, o dispositivo de teste da amostra de urina compreende uma cobertura achatada alongada 100 possuindo um meio de colocação, representado pelo sulco 101 na sua superfície inferior 102. Projectado a partir de uma extremidade da cobertura está um membro absorvente 103 para a recepção da amostra.

O monitor compreende uma cobertura 110 possuindo uma reentrância 111 na sua superfície superior 112 para alojar a cobertura 100 do dispositivo de teste. A reentrância 111 incorpora uma ranhura de colocação 113 na qual o sulco de colocação 101 na cobertura do dispositivo de teste pode ser inserido para colocar o dispositivo de teste positivamente em relação a uma janela de leitura 114, na reentrância. A cobertura 110 contém meios (não apresentados) tais como um leitor de fluorescência ou leitor de densidade óptica para medir o resultado de um ensaio de concentração de um analito urinário, realizado utilizando um sistema escolhido para revelar o resultado do ensaio.

A face da frente inclinada 115 da cobertura do monitor incorpora uma janela grande 116 através da qual a informação pode ser fornecida ao utilizador, p. ex., por meio de um mostrador de LED ou outra forma de apresentação visual. Esta informação pode ser fornecida numa variedade de formas, tais como uma indicação de um calendário e a necessidade de realizar testes de urina, e uma indicação do estado corrente do ciclo de ovulação. A face inclinada 115 da cobertura também incorpora um botão 117 que o utilizador pode pressionar para indicar o começo de um ciclo de ovulação e para iniciar a informação de processamento do monitor relativa a esse ciclo.

A informação pode ser transmitida ao utilizador por meio de um cristal líquido ou mostrador de LED, por exemplo. Se desejável, a informação sobre o estado de fertilidade pode ser transmitida

através de uma simples indicação visual, p. ex. uma combinação de cores apresentando, por exemplo, verde para infértil e vermelho para fértil. Opcionalmente, pode ser apresentado outro sinal, p. ex. amarelo para qualquer estágio intermédio em que a concepção é menos provável mas ainda possível. Especialmente se o dispositivo for pretendido primeiramente como um auxílio para a contracepção, deverá "ser isento de falhas" apresentando um sinal "fértil".

A invenção pode ser realizada utilizando um "kit" para monitorização do ciclo de ovulação de uma fêmea de mamífero, compreendendo um dispositivo de monitorização como apresentado acima, juntamente com pelo menos um dispositivo de teste capaz de ser utilizado para medição do nível de um ou mais componentes da urina. É considerado que o dispositivo de monitorização seja geralmente de uma natureza relativamente durável e capaz de ser utilizado num número considerável de ciclos. Os dispositivos de teste para medir os componentes da urina são preferencialmente descartáveis após utilização individual, e é por isso considerado que o utilizador do dispositivo de monitorização necessitará de recarregar os dispositivos de teste.

Geralmente, o monitor será carregado por bateria e incorporará no lado 118 da cobertura um ponto de acesso tal como uma cobertura removível 119 para permitir que as baterias sejam inseridas e alteradas.

Em referência à Figura 2, o dispositivo de testes é apresentado invertido em relação ao aspecto apresentado na Figura 1. O sulco de colocação 101 está agora na superfície superior 200. Também na superfície 200, agora a mais alta, está uma janela de resultados 201. O corpo do dispositivo de testes pode incorporar uma tira imunocromatográfica (não apresentada) incorporando todos os reagentes necessários para permitir um imunoensaio a

ser realizado, que detecta a presença e concentração do analito numa amostra de urina aplicada ao membro de recolha de amostras 103. O resultado do ensaio pode ser efectuado através da imobilização de um componente marcado, através de uma reacção em "sanduíche" ou de competição, na presença de analitos numa amostra de urina aplicada, ficando o reagente marcado concentrado numa zona revelada através da janela de resultados. Quando o dispositivo de teste é invertido e localizado na reentrância 111 da caixa do monitor, a janela de resultados está imediatamente adjacente à janela de leitura 114 do monitor e o resultado do ensaio pode ser determinado. Por exemplo, se o marcador é um reagente fluorescente, os meios de leitura do monitor podem detectar e medir a emissão de luz fluorescente do marcador acumulado na zona de detecção da tira para proporcionar um valor numérico de concentração preciso para o analito na amostra de urina. Esta informação pode ser processada pelo monitor conjuntamente com informação do calendário resultante da iniciação do processo de ciclo pelo utilizador e dados históricos que o monitor pode reter de ciclos anteriores.

Em relação à Figura 3, são apresentados alguns dos elementos básicos que podem ser necessários num dispositivo electrónico de monitorização. As características individuais podem ser completamente convencionais, e os especialistas da técnica da electrónica considerarão que podem ser empregues outras combinações e arranjos de tais características para atingir os objectivos da invenção. Por exemplo, os sistemas denominados "hard-wired" e "rede neural", podem ser utilizados em vez de microprocessadores baseados na tecnologia de "chips". Como apresentado na Figura 3, a combinação compreende essencialmente:

Uma unidade de leitura 300 para derivar informação a partir de um dispositivo de teste tal como uma barra de teste, compreendendo a unidade de leitura um iluminador 301 e um leitor

302 (representado aqui por um foto-díodo). A unidade de leitura alimenta uma unidade de conversão 303 para converter o sinal óptico numa forma utilizável por um microprocessador 304. Como uma característica opcional, é proporcionado um sistema de calibração 305 para converter o sinal derivado da unidade de leitura em dados correspondentes, por exemplo, a um valor absoluto de concentração. Um temporizador, tal como um relógio 306 é necessário para regular as medições num ciclo. O microprocessador 304 processa, memoriza e interpreta os resultados à luz de acontecimentos prévios, particularmente registados em ciclos anteriores. A interface de utilizador 307 compreenderá geralmente pelo menos meios, tal como um botão de pressão, que o utilizador pode manipular no início de um ciclo para iniciar a operação do dispositivo como um todo. A fonte de alimentação 308 pode incluir meios, tal como um condensador de memórias registadas 309, para evitar a perda de dados históricos se se tornar necessário substituir as baterias.

Aspectos da invenção são ilustrados nos seguintes Exemplos. Estes relacionam a monitorização do ciclo de ovulação humano.

### EXEMPLO 1

Este exemplo estabelece um algoritmo conveniente em que o método de monitorização de acordo com a invenção pode ser baseado. O "kit" proporcionado ao utilizador compreende uma pluralidade de dispositivos de teste de urina de analito duplo, capazes de ensaiar E3G urinário e LH urinário numa forma legível por um monitor também fornecido. O monitor pode receber cada dispositivo de teste utilizado e determinar a concentração urinária de cada analito. Esta informação é armazenada no monitor e comparada com dados semelhantes obtidos em dias subsequentes no mesmo ciclo. O monitor possui um botão de menstruação que o utilizador pode pressionar no início do ciclo, e um painel de apresentação ou afim para transmitir a informação acerca do estado do ciclo, e indicar ao utilizador quando o teste deve ser efectuado.

#### a) Estrutura tipo do algoritmo

O objectivo é:

- i) identificar a posição do surgimento de LH num ciclo individual;
- ii) identificar um aumento significativo na concentração de E3G num ciclo individual em relação à concentração de E3G no dia 6 desse ciclo.

O número de testes disponíveis em cada rotina do mês é limitado a 8, e é adoptada uma estratégia de teste que maximizará a probabilidade de atingir i) ou ii).

#### b) Ciclos iniciais

De modo a estabelecer uma base de dados inicial adequada, durante o primeiro ciclo de utilização o monitor requer dezasseis testes. Isto é para estabelecer uma linha de base para o indivíduo. O utilizador pressiona o botão de menstruação no monitor na manhã após a sua menstruação ter começado. Este dia é registado como dia 1 pelo monitor. O teste começa no dia 8 e continua diariamente até ao dia 23. Este teste é orientado para maximizar a probabilidade de observar o surgimento de LH.

No início do ciclo 2 e no início de todos os ciclos seguintes, o botão da menstruação é pressionado como acima. Do ciclo 2 em diante, somente são utilizados oito testes para cada ciclo. Todos os oito testes devem ser da mesma série e todos devem ser completados. Em todos os ciclos a partir do ciclo 2 em diante, os testes começam no dia 6. Para os ciclos 2 e 3, os testes dois a oito são conduzidos em dias consecutivos a começar no dia do surgimento típico de LH menos quatro dias. Do ciclo 4 em diante, considerado como o primeiro ciclo de rotina, os testes dois a oito são conduzidos em sequência a partir do surgimento típico de LH menos cinco dias. O dia típico de surgimento de LH é definido como o dia médio do surgimento de LH até aos seis meses anteriores.

c) Início da fase fértil

No ciclo 1, o monitor declara a mulher fértil desde o dia 6 em diante, se nenhuma informação sobre o ciclo foi recolhida. Nos ciclos 2 e 3, o monitor pode utilizar a posição típica do surgimento de LH a partir do(s) ciclo(s) anteriores para determinar o início da fase fértil. No entanto, devido à quantidade limitada de dados disponíveis sobre o ciclo, o monitor declarará a mulher fértil ainda durante os ciclos 2 e 3 no dia 6 ou no surgimento típico de LH menos 7 dias, seja qual for o anterior.

Em ciclos subsequentes de rotina, o início da fase fértil é estabelecido por detecção de uma alteração significativa no sinal de E3G em relação ao dia 6. Quando a proporção entre o sinal do dia corrente para E3G (Si) e o sinal do dia 6 (S6) alcançar um determinado limiar como estabelecido acima, a mulher é declarada fértil.

d) Fim da fase fértil

Numa operação normal, o fim da fase fértil é definido como a quarta manhã após a detecção do surgimento de LH. Na ausência de um surgimento de LH detectável durante a sequência do teste, o sistema declara o fim da fase fértil como sendo seis dias após o último teste. A razão para este cálculo é a seguinte. O regime de testes é concebido para cobrir a posição típica do surgimento de LH mais um dia. Resultados de estudos WHO publicados mostraram que a variabilidade do surgimento de LH entre mulheres era de 1,8 dia. Adicionando cinco dias ao declarado período fértil após ter terminado o teste permite uma confiança de dois desvios padrão em que o surgimento de LH ocorrerá dentro do período fértil atribuído.

Numa operação não normal (ciclo 1), em que o monitor não possui informação acerca da posição típica do surgimento de LH se este parâmetro não é detectado, o fim da fase fértil é declarado no dia 28 do ciclo.

EXEMPLO 2

Este exemplo utiliza perfis representativos de E3G de duas mulheres - uma que se sabia ter baixos níveis de E3G urinário e outra que se sabia ter níveis relativamente altos. Nas primeiras

duas colunas de cada tabela, estão representados 30 dias de cada ciclo em termos da sua fertilidade. A primeira fase é denominada infértil e consiste na porção da fase folicular durante a qual não se espera que a relação sem protecção não resulte em concepção, seguida por uma fase de transição durante a qual ocorrem alterações que levam a um estado fértil e durante a qual é necessário um sinal positivo para indicar o início da fase fértil. A fase fértil é a fase antes e após a ovulação durante a qual a relação sem protecção deverá provavelmente resultar em concepção. A sua duração antes da ovulação é imposta inteiramente pelo tempo de vida do esperma, e isto, por sua vez é influenciado por factores controlados pelas hormonas femininas, especialmente mucos. A fase lútea pós-fértil é aquele tempo após o qual o ovo deixou o útero e a concepção no ciclo corrente já não é possível.

Os valores de E3G são dados na terceira coluna. Estes foram derivados por imunoensaio em amostras de urina matinal colhida a cada dia. O imunoensaio foi um ensaio competitivo enzima marcada-antigénio convencional. Os valores dados são em ng/ml.

A própria ovulação é considerada como ocorrendo 24 horas após o surgimento de LH. Estes valores de LH foram determinados por imunoensaio em sanduíche com enzima marcada convencional nas mesmas amostras, mas os valores não são incluídos na tabela uma vez que a data de ovulação é o resultado essencial.

O algoritmo do exemplo 1 foi aplicado a cada ciclo, tomando o ponto de disparo para E3G como:

$$\frac{[i]}{[\text{dia } 6]} \geq 2$$

f l a

INDIVÍDUO A

CICLO A 1: CICLO DE INICIAÇÃO

Dia	Teste	Fase	Valor EG3	Estado "Vermelho"	Ovulação
1		Infértil			
2		"			
3		"			
4		"			
5		"			
6		"		***	
7		"		***	
8	*	"	1,9	***	
9	*	"	3,1	***	
10	*	"	5,4	***	
11	*	"	2,1	***	
12	*	"	5,3	***	
13	*	"	10,5	***	
14	*	"	7,7	***	
15	*	fértil	5,2	***	
16	*	"	8,3	***	
17	*	"	6,8	***	
18	*	"	4,3	***	LHS + 1
19	*	"	4,9	***	
20	*	"	5,3	***	
21	*	pós-fértil	3,3		
22	*	"	4,9		
23	*	"	6,2		
24		"			
25		"			
26		"			
27		"			
28		"			
29		"			
30		"			

O surgimento de LH foi no dia 17, deste modo repete-se o teste a começar no dia 13 do próximo ciclo.

CICLO A 2

Dia	Teste	Fase	Valor EG3	Estado "Vermelho"	Ovulação
1		Infértil			
2		"			
3		"			
4		"			
5		"			
6	*	"	3,5		
7		"			
8		"			
9		"		***	
10		"		***	
11		"		***	
12		"		***	
13	*	"	8,9	***	
14	*	fértil	14,6	***	
15	*	"	12,6	***	
16	*	"	8,8	***	
17	*	"	15,8	***	LHS + 1
18	*	"	6,9	***	
19	*	"	6,5	***	
20		pós-fértil			
21		"			
22		"			
23		"			
24		"			
25		"			
26		"			
27		"			
28		"			
29		"			
30		"			

A média LHS dos ciclos A1 e A2 foi o dia "16,5", deste modo repete-se o teste a começar no dia 12 do próximo ciclo.

f l A

CICLO A 3

Dia	Teste	Fase	Valor EG3	Estado "Vermelho"	Ovulação
1		Infértil			
2		"			
3		"			
4		"			
5		"			
6	*	"	1,6		
7		"			
8		"		***	
9		"		***	
10		"		***	
11		"		***	
12	*	fértil	6,2	***	
13	*	"	23,6	***	
14	*	"	21,3	***	
15	*	"	8,3	***	LHS + 1
16	*	"	4,5	***	
17	*	"	3,7	***	
18	*	pós-fértil	3,4		
19		"			
20		"			
21		"			
22		"			
23		"			
24		"			
25		"			
26		"			
27		"			
28		"			
29		"			
30		"			

Média de LHS dos ciclos A1 a A3: dia "15,7". Dia de início da repetição do teste para o primeiro ciclo de rotina: dia 10.

f L A

CICLO A 4

Primeiro ciclo de rotina

Dia	Teste	Fase	Valor EG3	Estado "Vermelho"	Ovulação
1		Infértil			
2		"			
3		"			
4		"			
5		"			
6	*	"	3,1		
7		"			
8		"			
9		"			
10	*	"	6,1		
11	*	fértil	16,7	***	
12	*	"	10,8	***	
13	*	"	22,8	***	
14	*	"	21,3	***	LHS + 1
15	*	"	9,4	***	
16	*	"	12,2	***	
17		pós-fértil			
18		"			
19		"			
20		"			
21		"			
22		"			
23		"			
24		"			
25		"			
26		"			
27		"			
28		"			
29		"			
30		"			

Dias de aviso de ovulação: 3

Média de LHS dos ciclos A1 a A4: dia "15,3".

Dia de início de repetição do teste para o próximo ciclo: dia 10.

f l A

CICLO A 5

Segundo ciclo de rotina

Dia	Teste	Fase	Valor EG3	Estado "Vermelho"	Ovulação
1		Infértil			
2		"			
3		"			
4		"			
5		"			
6	*	"	4,8		
7		"			
8		"			
9		"			
10	*	"	8,5		
11	*	"	7,3		
12	*	"	6,3		
13	*	"	7,0		
14	*	fértil	11,8	***	
15	*	"	19,3	***	
16	*	"	18,5	***	
17		"		***	LHS + 1
18		"		***	
19		"		***	
20		pós-fértil			
21		"			
22		"			
23		"			
24		"			
25		"			
26		"			
27		"			
28		"			
29		"			
30		"			

Dias de aviso de ovulação: 3

Média de LHS dos ciclos A1 a A5: dia "15,4".

Dia de início de repetição do teste para o próximo ciclo: dia 10.

INDIVÍDUO B

CICLO B1: CICLO DE INICIAÇÃO

Dia	Teste	Fase	Valor EG3	Estado "Vermelho"	Ovulação
1		Infértil			
2		"			
3		"			
4		"			
5		"			
6		"		***	
7		"		***	
8	*	"	25,1	***	
9	*	"	10,1	***	
10	*	"	16,8	***	
11	*	"	28,2	***	
12	*	"	24,6	***	
13	*	"	28,7	***	
14	*	"	27,7	***	
15	*	"	62,6	***	
16	*	"	68,5	***	
17	*	fértil	61,9	***	
18	*	"	103,4	***	
19	*	"	85,4	***	
20	*	"	45,4	***	LHS + 1
21	*	"	14,9	***	
22	*	"	46,6	***	
23	*	pós-fértil	49,3		
24		"			
25		"			
26		"			
27		"			
28		"			
29		"			
30		"			

O surgimento de LH foi no dia 19, deste modo repetição do teste a começar no dia 15 do próximo ciclo.

CICLO B 2

Dia	Teste	Fase	Valor EG3	Estado "Vermelho"	Ovulação
1		Infértil			
2		"			
3		"			
4		"			
5		"			
6	*	"	28,9		
7		"			
8		"			
9		"			
10		"			
11		"			
12		"		***	
13		"		***	
14		"		***	
15	*	fértil	62,0	***	
16	*	"	94,6	***	
17	*	"	58,4	***	LHS + 1
18	*	"	42,4	***	
19	*	"	60,4	***	
20	*	"	56,0	***	
21	*	pós-fértil	35,0		
22		"			
23		"			
24		"			
25		"			
26		"			
27		"			
28		"			
29		"			
30		"			

A média LHS dos ciclos B1 e B2 foi o dia "17,5", deste modo repetição do teste a começar no dia 13 do próximo ciclo.

CICLO B 3

Dia	Teste	Fase	Valor EG3	Estado "Vermelho"	Ovulação
1		Infértil			
2		"			
3		"			
4		"			
5		"			
6	*	"	17,2		
7		"			
8		"			
9		"			
10		"		***	
11		"		***	
12		"		***	
13	*	"	23,9	***	
14	*	fértil	63,8	***	
15	*	"	22,1	***	
16	*	"	65,9	***	
17	*	"	41,2	***	LHS + 1
18	*	"	7,6	***	
19	*	"	35,3	***	
20		pós-fértil			
21		"			
22		"			
23		"			
24		"			
25		"			
26		"			
27		"			
28		"			
29		"			
30		"			

Média de LHS dos ciclos B1 a B3: dia "17".

Dia de início da repetição do teste para o primeiro ciclo de rotina: dia 12.

f. L. A.

CICLO B 4

Primeiro ciclo de rotina

Dia	Teste	Fase	Valor EG3	Estado "Vermelho"	Ovulação
1		Infértil			
2		"			
3		"			
4		"			
5		"			
6	*	"	12,9		
7		"			
8		"			
9		"			
10		"			
11		"			
12	*	"	38,3	***	
13	*	fértil	70,6	***	
14	*	"	74,6	***	
15	*	"	70,6	***	
16	*	"	49,7	***	LHS + 1
17	*	"	23,5	***	
18	*	"	29,8	***	
19		pós-fértil			
20		"			
21		"			
22		"			
23		"			
24		"			
25		"			
26		"			
27		"			
28		"			
29		"			
30		"			

Dias de aviso de ovulação: 4

Média de LHS dos ciclos B1 a B4: dia "16,5".

Dia de início de repetição do teste para o próximo ciclo: dia 11.

CICLO B 5

Segundo ciclo de rotina

Dia	Teste	Fase	Valor EG3	Estado "Vermelho"	Ovulação
1		Infértil			
2		"			
3		"			
4		"			
5		"			
6	*	"	7,2		
7		"			
8		"			
9		"			
10		"			
11	*	"	14,1		
12	*	"	17,4	***	
13	*	"	41,3	***	
14	*	"	57,5	***	
15	*	fértil	42,0	***	
16	*	"	55,4	***	
17	*	"	60,1	***	LHS + 1
18		"		***	
19		"		***	
20		pós-fértil			
21		"			
22		"			
23		"			
24		"			
25		"			
26		"			
27		"			
28		"			
29		"			
30		"			

Dias de aviso de ovulação: 5

LHS detectada no último dia de teste. Média de LHS dos ciclos B1 a B5: dia "16,6".

Dia de início de repetição do teste para o próximo ciclo: dia 11.

Lisboa, 21 de Agosto de 2000  
O AGENTE OFICIAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

## REIVINDICAÇÕES

1. Método de monitorizar o estado de fertilidade de um sujeito fêmea de mamífero individual, em que a concentração de um analito no fluido corporal possível de obter do sujeito é testada pelo menos uma vez durante o intervalo que se estende entre os dias 1 e 7 inclusivé, do corrente ciclo e também mais tarde no corrente ciclo, para determinar se a alteração da concentração indicadora de ovulação iminente está a ocorrer ou ocorreu, caracterizado por:

a) é determinado o dia numérico médio no qual a própria ovulação ocorreu durante um ou mais ciclos de ovulação prévios no sujeito;

b) o teste de pelo menos um dia realizado durante o intervalo que se estende entre os dias 1 e 7 é utilizado para estabelecer um valor de concentração de referência ou sinal de teste para o referido analito para o corrente ciclo; e

c) os testes posteriores no corrente ciclo compreendem uma série de testes para o referido analito, realizados durante um período de dias, começando pelo menos 5 dias numéricos antes do referido dia numérico médio da ovulação e o valor da concentração ou sinal de teste dos referidos testes anteriores é comparado com o valor de concentração de referência ou sinal de teste.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por os referidos testes posteriores serem conduzidos após a

cessação dos testes após o estabelecimento do referido valor ou sinal da concentração de referência.

3. Método de acordo com a reivindicação 1 ou reivindicação 2, caracterizado por serem conduzidos no corrente ciclo 16 testes de fluidos corporais.
4. Método de acordo com a reivindicação 1 ou reivindicação 2, caracterizado por o teste ser conduzido num máximo de 16 dias no corrente ciclo.
5. Método de acordo com qualquer das reivindicações anteriores, caracterizado por o referido sujeito ser humano e o referido analito ser estradiol ou um metabolito deste.
6. Método de acordo com a reivindicação 5, caracterizada por o referido analito ser estrona-3-glucurónido, E3G.
7. Método de acordo com qualquer das reivindicações anteriores, caracterizado por os referidos testes posteriores serem conduzidos durante um período de dias a começar pelo menos 6 dias numéricos antes da média numérica do dia de ovulação.
8. Método de acordo com qualquer das reivindicações anteriores, caracterizado por o referido valor da concentração de referência ou sinal teste ser estabelecido por um único teste.
9. Método de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 7 caracterizado por o referido valor da concentração de referência ou sinal teste ser estabelecido por teste(s) conduzido(s) durante o intervalo que separa os dias 4 a 7, inclusive.

10. Método de acordo com a reivindicação 9, caracterizado por o referido valor da concentração de referência ser estabelecido por teste(s) conduzido(s) no dia 5 e/ou dia 6.
11. Método de acordo com a reivindicação 8, caracterizado por o teste único ser realizado no dia 6.
12. Método de acordo com qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado por o fluido corporal ser urina.
13. Método de acordo com a reivindicação 5 ou reivindicação 6, caracterizado por uma diferença significativa entre o valor de concentração de referência do analito [r] e o valor do teste [i], indicador de ovulação iminente, ser considerada como:

$$1,5 \leq \frac{[i]}{[r]} \leq 2,5$$

no caso de proporcionalidade directa entre o sinal de teste e a concentração de analito, ou o inverso no caso de proporcionalidade inversa entre o sinal de teste e a concentração de analito.

14. Método de acordo com a reivindicação 13, caracterizado por o analito ser estrona-3-glucorónido, e a diferença significativa na concentração de estrona-3-glucorónido [i] indicadora de ovulação iminente ser considerada como:

$$\frac{[i]}{[r]} \geq 2$$

no caso de proporcionalidade directa entre o sinal de teste e a concentração de estrona-3-glucorónido, ou o inverso no

caso de proporcionalidade inversa entre o sinal de teste e a concentração de estrona-3-glucoronido.

15. Método de acordo com qualquer das reivindicações anteriores, caracterizado por a concentração do fluido corporal da hormona de leutinização ser determinada para identificar o próprio dia de ovulação no ciclo corrente.
16. Método de acordo com qualquer das reivindicações anteriores, caracterizado por o dia de ovulação médio ser derivado dos resultados recolhidos durante pelo menos 3 ciclos prévios consecutivos.
17. Método de acordo com qualquer das reivindicações anteriores, caracterizado por o dia de ovulação médio ser derivado a partir dos resultados recolhidos durante pelo menos 5 ciclos prévios consecutivos.
18. Método de acordo com qualquer das reivindicações anteriores, caracterizado por o dia de ovulação médio ser derivado a partir dos resultados obtidos durante pelo menos o ciclo imediatamente precedente.
19. Método de acordo com a reivindicação 18, caracterizado por o dia de ovulação médio ser derivado a partir dos resultados obtidos de uma base de referência progressiva consistindo de um número fixo de ciclos consecutivos imediatamente precedentes do corrente ciclo.
20. Método de acordo com a reivindicação 19, caracterizado por a base de referência progressiva consistir nos 3 a 12 ciclos imediatamente precedentes.

21. Método de acordo com a reivindicação 19, caracterizado por a base de referência progressiva consistir nos 5 ou 6 ciclos imediatamente precedentes.
22. Método de acordo com qualquer das reivindicações anteriores, caracterizado por o fim da fase fértil ser declarado a partir do conhecimento do surgimento de LH no corrente ciclo.
23. Método de acordo com a reivindicação 22, caracterizado por o fim da fase fértil ser considerado ocorrer no quarto dia após a detecção do surgimento de LH.
24. Método de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 21, caracterizado por o fim da fase fértil ser declarado a partir do conhecimento da concentração de estradiol ou um metabolito deste no corrente ciclo.
25. Método de acordo com a reivindicação 24 caracterizado por o fim da fase fértil ser declarado a partir do conhecimento da concentração de pico de estradiol ou de um metabolito deste no ciclo corrente, sendo este pico definido como a primeira ocasião no ciclo quando

$$\frac{[i]}{[r]} > 2,5, \text{ preferencialmente } \geq 3$$

é detectado no caso de proporcionalidade directa entre o sinal teste e a concentração de estradiol/metabolito, ou o inverso no caso de proporcionalidade inversa entre o sinal teste e a concentração de estradiol/metabolito.

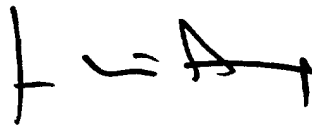
26. Método de acordo com a reivindicação 24, caracterizado por o fim da fase fértil ser considerado ocorrer no oitavo dia após a detecção do pico de estradiol/metabolito.

27. Método de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 21, caracterizado por ser medida a concentração de pregnanediol-3-glucoronido, P3G, no fluido corporal.
28. Método de acordo com a reivindicação 27, caracterizado por o fim da fase fértil ser declarado após a detecção de uma concentração elevada de P3G.
29. Método de acordo com qualquer das reivindicações anteriores, caracterizado por utilizar somente analito de fluido corporal.
30. Método de acordo com qualquer das reivindicações anteriores, caracterizado por as referidas séries de testes para o referido analito serem conduzidas em pelo menos uma base diária.
31. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por:
  - a) o utilizador ser apetrechado com uma pluralidade de dispositivos de teste de fluidos corporais descartáveis para o teste do referido analito, sendo a referida pluralidade de pelo menos 7 e não maior do que 12; e
  - b) o utilizador utilizar todos os referidos dispositivos de teste fornecidos durante um único ciclo de ovulação, independentemente de ter sido obtida uma indicação de ovulação iminente antes dos referidos dispositivos de teste terem sido utilizados.
32. Método de acordo com a reivindicação 31, caracterizado por o utilizador realizar um teste no dia 6, e utilizar todos

os restantes dispositivos de teste numa base diária,  
durante um período de repetição do teste.

Lisboa, 21 de Agosto de 2000

O AGENTE OFICIAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

A handwritten signature in black ink, consisting of a vertical line on the left, a horizontal line extending to the right, and a stylized, looped flourish at the end.

f l a

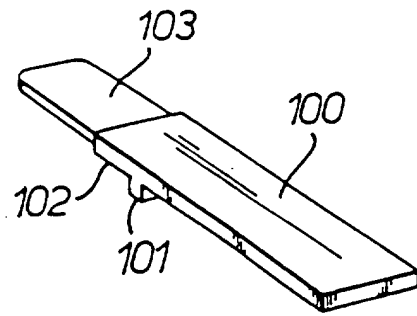


Fig. 1.

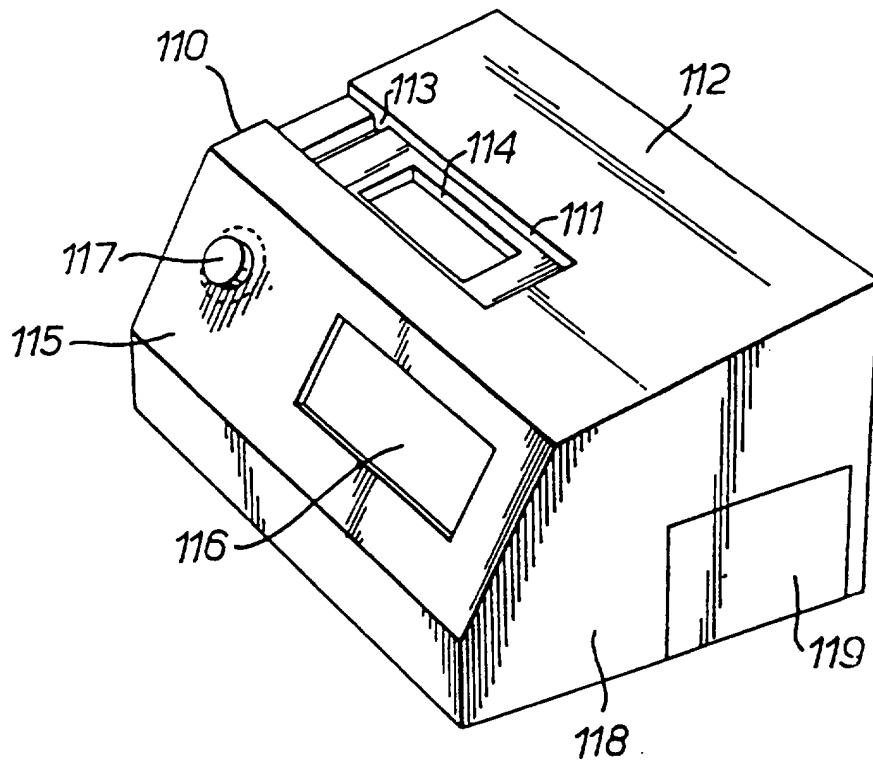


Fig. 2.

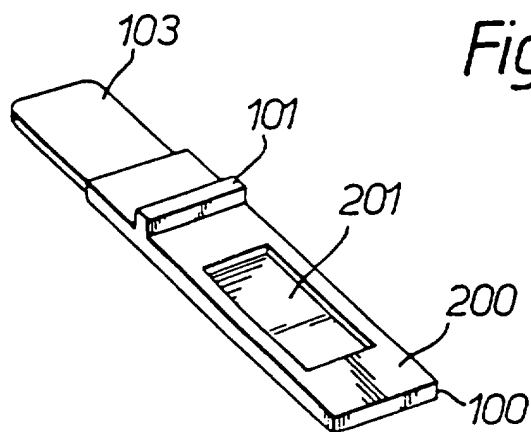


Fig. 3

