

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

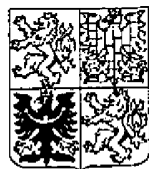
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

896-97

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **22. 09. 95**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **23.09.94,**
26.09.94, 31.01.95

(31) Číslo prioritní přihlášky: **94/9419264, 94/9419382,**
95/9501863

(33) Země priority: **GB, GB, GB**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **15. 10. 97**
(Věstník č. 10/97)

(86) PCT číslo: **PCT/EP95/03747**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 96/09553**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

G 01 N 33/76
A 61 B 10/00

(71) Přihlášovatel:

UNIPATH LIMITED, Basingstoke, GB;

(72) Původce:

Catt Michael, Wellingborough, GB;
Cunningham Carole Robinson, Bedford, GB;
Mundill Paul Henry Charles, Rushden, GB;
Prior Michael Evans, Rushden, GB;
Wilson Stewart John, Irthlingborough, GB;
Zhang Zhi Gang, Putnoe, GB;

(74) Zástupce:

Korejzová Zdeňka JUDr., Břehová 1, Praha
1, 11000;

nou se začátkem plodné fáze ovulačního
cyklu.

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Způsoby, zařízení a testovací souprava
pro monitorování ovulačního cyklu**

(57) Anotace:

Způsoby zahrnují testování koncentrace jednoho nebo více analyzátorů v tělní tekutině, například moči. Výhodně je měřen jak estron-3-glukoronid tak i luteinizační hormon a referenční koncentrace pro E3G se stanoví v přibližně 6 dnu ovulačního cyklu. Průměrný den ovulace se odvodí z údajů, shromážděných v průběhu alespoň tří po sobě jdoucích předcházejících cyklů. Zařízení obsahuje uvnitř ochranného pouzdra: pásek z porézního materiálu, alespoň dvě prostorově oddělené detekční zony a alespoň jeden soubor částic umístěných před detekčními zónami, přičemž první zóna je sdružena s analyzátem, např. luteinizačním hormonem (LH) a druhá zóna obsahuje nehybný haptén nebo jeho analog. Signál v první detekční zóně indikuje změnu koncentrace např. LH, těsně spojenou s časem vlastní ovulace, signál v druhé detekční zóně je indikací změny koncentrace např. estradiolu nebo jeho metabolitu, spoje-

CZ 896-97 A3

Způsoby, zařízení a testovací ~~kity~~ pro monitorování
ovulačního cyklu

Pril.

URAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

27 VI 9

00810

Č. j.
148669

Scopra

Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká způsobů, zařízení a testovacích kitů pro použití při monitorování ovulačního cyklu u samic savců zejména u žen.

Dosavadní stav techniky

Předkládaný vynález se zabývá zejména, ačkoliv ne výhradně, jednoduchými praktickými postupy, které mohou být snadno aplikovány nezkušenými osobami, například doma, pro zajištění spolehlivé informace stavu plodnosti ženy v rámci antikoncepce. Důležitým cílem předkládaného vynálezu je zajištění této informace bez nutnosti častého, například denního, provádění testování v průběhu každého ovulačního cyklu. Právě tato nezbytnost pravidelného, například denního, testování v průběhu cyklu je charakteristická pro mnoho již dříve navržených způsobů monitorování ovulačního cyklu.

Předkládaný vynález může být rovněž použit osobami, které si přejí zvýšit pravděpodobnost početí prostřednictvím zjištění doby v průběhu ovulačního cyklu, ve které je největší pravděpodobnost početí.

Pro zajištění spolehlivé informace o stavu plodnosti musí být uživatelka pomocí určitého způsobu monitorování informována o začátku plodné fáze cyklu. Obecně doposud navržené techniky spočívají ve sledování jednoho nebo více parametrů, které se mění v průběhu ovulačního cyklu. Typickými příklady těchto parametrů, které již byly použity, mohou být koncentrace analyzátů v tělní tekutině, jako je

estradiol nebo jeho metabolity, například estron-3-glukoronid (E3G). Jinými používanými parametry jsou měření bazální tělesné teploty (která může zajistit pouze předpovědní informaci pro použití v následujících cyklech) a sledování různých fyziologických změn, jako jsou například vlastnosti vaginálního hlenu.

Mnoho vynikajících akademických studií bylo provedeno s využitím těchto parametrů. Z těchto studií vyplynulo, jak používané parametry mohou být uváděny do vztahu se stavem plodnosti u průměrného člena velkého populačního vzorku. Příkladem je studie provedená Colinsem a kol. (1981), Proc. Xth International Congress on Fertility and Sterility, Publ MTP Ltd, strany 19 - 33. Původním cílem mnoha těchto studií je dosáhnout početí u žen, které byly dříve označeny za neplodné.

Avšak při pokusu vypracovat skutečně praktický způsob monitorování cyklu vhodný pro jednotlivce vychází najevo skutečnost, že mnoho individuálních subjektů se od průměru liší délkou cyklu a nebo trváním a načasováním plodné fáze. Rozsah rozdílů mezi jednotlivci, a dokonce rozdíly mezi jednotlivými cykly u téhož jedince, vedou k tomu, že průměrná data z populace jsou nespolehlivá pro konzistentní praktické použití.

Pochopitelně, protože nevhodným důsledkem nedokonalé informace týkající se stavu plodnosti může být nechtěné početí, byla tendence dosahovat extrémní opatrnosti a vyžadovat testování relevantního parametru nebo parametrů v průběhu cyklu a zejména hned od začátku cyklu (začátek měsíčků). Z hlediska jednotlivého uživatele by bylo výhodné, kdyby mohla být vypuštěna tato nezbytnost konstantního

testování a namísto toho, kdyby testování mohlo být prováděno ve srovnatelně krátké části každého cyklu. Nejenže to může být výhodné pro uživatele, ale náklady na postup mohou být rovněž sníženy, jestliže postup používá testovací zařízení na jedno použití a pouze několik těchto jednorázových testovacích zařízení je nutno použít každý měsíc.

Příklad systému pro zjišťování začátku ovulace, využívající vodou bobtnající polymerové tablety pro "měření" obsahu vody ve vaginálním hlenu, který se zřetelně zvětšuje v době ovulace, je popsán v US patentovém spisu č. 4151833 (Plishuk). V tomto spisu je uvedeno, že špičková změna ve velikosti tablet, v důsledku absorpce vody z cervikálního hlenu, je v blízkém vztahu s nárůstem LH a změnou bazální tělesné teploty. Z experimentálních údajů zajištěných v US patentovém spisu č. 4151833 (obr. 8) je zřejmé, že průměr tablet je ve velmi blízkém vztahu s časováním vlny LH, tudíž následně takto navržený systém v praxi nemůže zajistit spolehlivé upozornění na začátek ovulace dříve, než je toho možné dosáhnout ze znalosti koncentrace LH.

V patentovém spisu EP-A-385621 (Coley a kol/Unilever) jsou popsány defekty monitorovacích systémů ovulačního cyklu, které se primárně týkají změny v BBT pro odhad doby ovulace, přičemž v tomto spisu je navržen systém, který používá pravidelné měření BBT v kombinaci se znalostí dalších parametrů, zejména s měřením množství některých hormonů v moči. Důležitým návrhem je to, že BBT je měřeno denně v průběhu každého cyklu a toto měření je použito pro odhad časování změn stavu plodnosti v následujícím cyklu. V průběhu tohoto následujícího (předpovídaného) cyklu jsou kontrolovány úrovně hormonů v moči v určitých obdobích pro ujištění, že

postup cyklu, jak byl předpovězen z předcházející znalosti BBT, je konzistentní. Vybranými hormony jsou zejména E3G, P3G a LH. Je navrženo, aby úroveň E3G v moči byla měřena v alespoň jednom dnu v průběhu intervalu od 5 dne do 7 dne předpovídaného cyklu, a opět v alespoň jednom dnu v průběhu intervalu od 10 dne do 15 dne předpovídaného cyklu. Podle příkladu v patentovém spisu EP 385621 je pro úroveň hormonu dostatečné, aby byla buď "vysoká" nebo "nízká" vzhledem k prahové hodnotě. Důraz v celém patentovém spisu EP 385621 je kladen na to, že občasná měření úrovně hormonu jsou použita jako doplněk monitorovacího systému, který se zabývá měřením BBT. V tomto spisu není žádný návrh, aby měření úrovní hormonů samostatně mohla zajistit základ pro spolehlivý monitorovací systém plodnosti určený pro jednotlivou osobu.

Cíle předkládaného vynálezu

Cílem předkládaného vynálezu je navrhnout systém pro monitorování stavu plodnosti jednotlivce, který zajistí dostatečné upozornění na začátek plodné fáze pro umožnění poskytnutí antikoncepčního doporučení, a který může být osobně upraven pro daného jednotlivce, přičemž je založen pouze na měřeních analyzátů v tělních tekutinách. Značná nespolehlivost, nebo omezená použitelnost, ostatních měřících systému (jako je na bázi BBT) může být tímto odstraněna. Dalším cílem je vyhnout se použití průměrných údajů získaných z populačních studií, se kterým je spojeno značné riziko, že u jednotlivce se může testovaný parametr značně odchylovat od průměru populace.

Dalším cílem předkládaného vynálezu je navrhnout monitorovací systém, který "nemůže selhat" ve smyslu upozornění uživatele na začátek plodné fáze, aniž by uživatel

byl připraven o výhody jednoduché celkové procedury a omezeného testovacího režimu.

Ještě dalším cílem předkládaného vynálezu je zajistit možnost založení účinného monitorovacího systému pouze, nebo alespoň primárně, na měření jednoho analyzátu tělní tekutiny, jako je estradiol nebo jeho metabolit. Další výhody předkládaného vynálezu budou zřejmé z následujícího popisu.

Dalším cílem předkládaného vynálezu je zajistit testovací režim, který má dobré vyvážení mezi požadavkem na minimalizaci testovacích nároků kladených na uživatele a potřebou poskytnout hodnotnou informaci o stavu plodnosti.

Dalším cílem předkládaného vynálezu je navrhnout způsob a zařízení pro stanovení přítomnosti a/nebo koncentrace dvou nebo více analyzátů v jenom vzorku tekutiny, když alespoň jeden z analyzátů je mnohoznačný analyzát, který se snadno stanoví prostřednictvím dvou různých specifických vazebních činidel v celku "sendvičového formátu", zatímco další z analyzátů je jednoznačný analyzát, jako je haptén, který není přístupný stanovení prostřednictvím sendvičové reakce.

Ještě dalším cílem předkládaného vynálezu je vytvoření takového duálního vzorkovacího způsobu/zařízení analyzátu, ve kterém je použito přímé značky pro vyhodnocení výsledku obou vzorků.

Použití částicových přímých značek je již známé v jednodušších vzorkovacích systémech. Někdy toto použití částicových přímých značek umožňuje, aby vzorkovací výsledek byl vyhodnocen jednoduše pouhým okem. To může být také případ při vzorkování podle předkládaného vynálezu, ačkoliv se

předpokládá, že obecně budou výsledky vzorků mnohem výhodněji a účinněji vyhodnocovány strojně.

Ještě dalším cílem předkládaného vynálezu je vytvořit vzorkovací způsob/zařízení, ve kterém více analyzátů v jenom vzorku tekutiny může být stanoveno přesně ve vzorkovacím zařízení formátu pásku, které je interpretováno strojně s použitím elektromagnetického záření (například světlo) procházejícího skrz tloušťku vzorkovacího pásku. Míra vázání částicových značek v detekční zóně v pásku může zajistit kvantitativní vzorkovací výsledek, protože částice mohou blokovat světlo nebo jiné záření a tudíž mohou snížit přenos záření skrz pásek.

Dalším cílem předkládaného vynálezu je vytvořit zlepšené kombinace zařízení pro čtení vzorkovacích výsledků a přidružených vzorkovacích testovacích zařízení, které mohou zajistit přesnou kvantitativní vzorkovací informaci jednoduchým, rychlým a levným způsobem.

Podstata vynálezu

Pouze pro účely ilustrace bude předkládaný vynález popsán ve spojení s měřením analyzátů v oči, zejména "E3G" (estron-3-glukoronid) a "LH" (luteinizační hormon).

Vedle již zmíněného estron-3-glukuronidu může být pro účely tohoto vynálezu testován také estradiol-3-glukuronid, estradiol-17-glukuronid, estriol-3-glukuronid, estriol-16-glukuronid a (principiálně u subjektů nehumánního původu) estron-3-sulfát. Jak vyplývá z dalšího popisu, tento vynález může být snadno aplikován na data odvozená z měření koncentrací jiných látek analyzovaných v tělní tekutině v souvislosti se stavem ovulačního cyklu. Obecně nejvhodnějšími

látkami k analyzování jsou hormony a jejich metabolity, například folikuly stimulující hormon (FSH). Příkladem relativně dostupných alternativních tělních tekutin mohou být sliny, cervikální hlen, pot, kožní maz, slzy nebo poševní hlen. Samozřejmě je možné použít také vnitřní tělní tekutiny, například krev, jejichž nevýhodou ale je, že jsou odebírány invazivními metodami.

Zkušený čtenář ocení výhodu tohoto způsobu monitorování, že měření "koncentrace" vybrané látky nebo látek v tělní tekutině nemusí být absolutní. Obecně stačí testovat analyzovanou látku takovým způsobem, aby byl získán určitý signál, který má vztah k aktuální koncentraci a který lze převést na číselnou hodnotu, takže tyto údaje mohou být porovnány s podobnými údaji získanými v různých stádiích cyklu, čímž lze určit, zda došlo k signifikantní změně aktuální koncentrace nebo ne. Termín "koncentrace" analyzované látky užívaný v této patentové přihlášce a v nárocích má tedy přenesený význam a měl by být interpretován v širším smyslu.

Podle jednoho aspektu navrhuje předkládaný vynález testovací kit pro použití při monitorování ovulačního cyklu samičky savce, zejména ženy, zahrnující množství jednorázových testovacích zařízení pro vzorkování a testování tělní tekutiny, jako je moč, a zajištění čitelných signálů indikujících koncentrace alespoň dvou analyzátů v tělní tekutině, přičemž tyto analyzáty mají podstatný vztah ke stavu plodnosti v ovulačním cyklu, společně s elektronickým čtecím zařízením/monitorem pro čtení a interpretaci uvedených čitelných signálů pro poskytnutí uživateli indikací o stavu plodnosti, přičemž:

a) uvedené čitelné signály jsou čteny, zatímco jedno z testovacích zařízení je umístěno uvnitř přijímacích prostředků uvedeného čtecího zařízení/monitoru;

5 b) uvedené čitelné signály jsou vytvářeny prostřednictvím koncentrování prvního detekovatelného materiálu, výhodně značkováného reakčního činidla, v první detekční zóně porézního nosiče, jako je testovací pásek, uvnitř testovacího zařízení a prostřednictvím koncentrování druhého detekovatelného materiálu, výhodně značkováného reakčního činidla, v druhé detekční zóně uvedeného porézního nosiče, zatímco vzorkovaná tělní tekutina proudí, například prostřednictvím vztlínání, skrz tento porézní nosič, uvedená druhá detekční zóna je výhodně umístěna směrem za první detekční zónou vzhledem k přijímací části testovacího
10 zařízení, které je v kontaktu s tělní tekutinou, aby iniciovalo test;

c) signál v první detekční zóně je indikací koncentrace v tělní tekutině prvního analyzátu, výhodně luteinizačního hormonu (LH), který vykazuje zřetelnou změnu koncentrace těsně spojenou s časem vlastní ovulace; a
20

d) signál v druhé detekční zóně je indikací koncentrace v tělní tekutině druhého analyzátu, výhodně estradiolu nebo jeho metabolitu, jako je estron-3-glukoronid (E3G), který vykazuje zřetelnou změnu koncentrace spojenou se začátkem plodné fáze daného ovulačního cyklu.
25

Výhodně jsou uvedené čitelné signály čteny prostřednictvím optického přenosu skrz testovací zařízení. Aby to bylo možné v ideálním případě čtecího zařízení/monitor zahrnuje:
30

a) zdroj rozptýleného světla o vlnové délce, která je silně pohlcována uvedenými detekovatelnými materiály;

b) snímací prostředky pro snímání dopadajícího světla z uvedeného zdroje;

5 c) prostředky pro přijetí a držení testovacího zařízení s každou z detekčních zón ve světelné cestě mezi zdrojem a snímacími prostředky; a

10 d) elektronické prostředky spojené se snímacími prostředky, přičemž tyto elektronické prostředky jsou naprogramovány, aby odvodily ze snímaného dopadajícího světla míru rozsahu, do kterého byl detekovatelný materiál koncentrován v každé z detekčních zón.

15 Výhodně jsou uvedené čitelné signály tvořeny prostřednictvím koncentrování částicových značkových reakčních činidel v odpovídajících detekčních zónách.

20 Výhodně testovací kit obsahuje dostatečné množství jednorázových testovacích zařízení pro umožnění uživateli provádět testování na bázi jednou za den po dobu maximálně 16 dnů v jakémkoliv jednom ovulačním cyklu. Důležitým provedením předkládaného vynálezu je náhradní balení obsahující množství, výhodně ne více než 12 a v optimálním případě 7 až 10, jednorázových testovacích zařízení pro doplnění testovacího kitu, výhodně s instrukcí pro uživatele, aby 25 použil všechny z těchto testovacích zařízení v průběhu trvání jednoho ovulačního cyklu.

30 Předkládaný vynález rovněž navrhuje způsob monitorování lidského ovulačního cyklu s použitím testovacího kitu popsaného výše, přičemž testování se provádí alespoň jednou v průběhu intervalu dnů 1 až 7 včetně, vypočítaného od

začátku měsíčku, pro stanovení hodnoty nebo signálu referenční koncentrace pro druhý analyzát v současném cyklu, uvedené testování se dočasně pozastaví, a potom se testování provádí alespoň jednou (výhodně denně) v průběhu periody dnů, která začíná pořadovým dnem 5, výhodně pořadovým dnem 6, před průměrným pořadovým dnem, ve kterém nastala vlastní ovulace v jednom nebo více předcházejících ovulačních cyklech u stejného individuálního subjektu, druhé hodnoty nebo signály koncentrace analyzátu, získané v průběhu uvedené periody dnů, se porovnají s referenční hodnotou nebo signálem koncentrace pro stanovení, zda vzhledem k předcházejícímu testu probíhá nebo proběhla změna koncentrace indikující bezprostřední ovulaci. Jako výhodný znak pro zajištění ochrany proti selhání je začátek plodné fáze deklarován, pokud očekávaná zřetelná změna v druhé koncentraci analyzátu nebyla zjištěna před alespoň 2, výhodně alespoň 3, dny před pořadovým dnem v současném cyklu, na který je předpovídána vlastní ovulace na základě znalosti odvozené z měření první koncentrace analyzátu, získaných z jednoho nebo více předcházejících cyklů.

Obecněji předkládaný vynález navrhuje způsob monitorování stavu plodnosti jednotlivého samičího savčího subjektu, který zahrnuje testování koncentrace analyzátu v tělní tekutině, zejména estradiolu nebo jeho metabolitu, přičemž podle tohoto způsobu se testování provádí alespoň jednou v průběhu intervalu dnů 1 až 7 včetně v současném cyklu pro stanovení referenční hodnoty nebo signálu koncentrace pro současný cyklus, a toto testování se rovněž provádí později v tomto současném cyklu, po dočasném

pozastavení, a hodnota nebo signál koncentrace potom získaná se porovnává s referenční hodnotou nebo signálem.

Jedním důležitým aspektem předkládaného vynálezu je způsob monitorování současného stavu plodnosti jednotlivé ženy, který zahrnuje testování koncentrace estradiolu nebo jeho metabolitu v tělní tekutině a porovnání testovacího výsledku s referenční hodnotou nebo signálem pro zjištění, zda je přítomna zvýšená koncentrace indikující bezprostřední ovulaci, přičemž referenční hodnota nebo signál pro současný ovulační cyklus se stanoví testováním koncentrace v tělní tekutině u stejné jednotlivé ženy alespoň jednou v průběhu intervalu dnů 1 až 7 včetně v současném cyklu.

V jednom výhodném provedení předkládaný vynález navrhuje způsob monitorování současného stavu plodnosti jednotlivé samice savce, který zahrnuje detekci změny parametru indikujícího bezprostřední vstup do plodné fáze, přičemž začátek plodné fáze je deklarován, pokud parametr očekávané změny nebyl zjištěn před alespoň 2, výhodně alespoň 3, dny před pořadovým dnem v současném cyklu, na který je předpovídána vlastní ovulace na základě znalosti získané v předcházejících cyklech u stejné jednotlivé samice savce. Pro účely předpovídání dne ovulace může být použita procedura "průměrného dne ovulace", jak je popsáno níže. Toto proti selhání zajištěné deklarování plodné fáze může být kombinováno s výhodou s jakýmkoliv technikami pro monitorování cyklu, popsanými níže.

Předkládaný vynález navrhuje zejména způsob monitorování současného stavu plodnosti jednotlivé ženy, který zahrnuje testování koncentrace estradiolu nebo jeho metabolitu v tělní tekutině a porovnání testovacího výsledku

s referenční hodnotou nebo signálem pro zjištění, zda je přítomna zvýšená koncentrace indikující bezprostřední ovulaci, přičemž referenční hodnota nebo signál pro současný cyklus se stanoví prostřednictvím testování koncentrace v tělní tekutině u stejné jednotlivé ženy alespoň jednou v průběhu intervalu dnů 4 až 7 včetně, výhodně ve dnech 5 a/nebo 6, v současném cyklu, testování se opětovně začne provádět v dnu 9 v současném cyklu a pokračuje potom alespoň denně alespoň dokud není zjištěna podstatně zvýšená koncentrace, přičemž stav současného cyklu je deklarován jako "plodný" pro interval začínající dnem zjištění podstatně zvýšené koncentrace a pokračující po alespoň bezprostředně následujících 12 dnů nebo do jednoznačného ukončení cyklu (například začátek měsíčku), podle toho co proběhne dříve.

Jako případné zjemnění tohoto postupu, pokud podstatně zvýšená koncentrace není zjištěna v nebo před dnem 15, je cyklus deklarován jako "plodný" pro interval trvající alespoň 14, výhodně 15, dnů bezprostředně následujících po dnu 15, nebo do jednoznačného ukončení cyklu, pokud toto nastane dříve.

Jedním dalším důležitým aspektem předkládaného vynálezu je způsob antikoncepce u lidí, který zahrnuje:

a) testování estradiolu nebo jeho metabolitu v moči u ženy alespoň jednou v průběhu intervalu dnů 4 až 7 včetně, výhodně ve dnech 5 a/nebo 6, v současném cyklu pro stanovení referenční hodnoty nebo signálu pro současný cyklus;

b) testování koncentrace v moči opět na alespoň denním základě, které začíná ve dnu 9 současného cyklu a pokračuje do dne 15 (výhodně dne 14) současného cyklu; a

c) zabrání nechráněnému styku v průběhu intervalu trvajícího alespoň 12 dnů bezprostředně následujících po dnu, ve kterém je zjištěna podstatně zvýšená koncentrace v moči nebo, pokud podstatně zvýšená koncentrace v moči není zjištěna ve dnu 15 (výhodně dnu 14), zabránění nechráněnému styku v průběhu intervalu trvajícího alespoň 14, výhodně 15, dnů bezprostředně následujících po dnu 15 (výhodně dnu 14), přičemž v každém případě je tento interval případně ukončen dříve, pokud došlo k jednoznačnému ukončení cyklu (například začátek měsíčků).

V prvním provedení navrhuje předkládaný vynález způsob monitorování stavu plodnosti jednotlivého samičího savčího subjektu, který zahrnuje testování v tělní tekutině koncentrace alespoň jednoho analyzátu s významným vztahem ke stavu ovulačního cyklu v průběhu preovulační fáze, přičemž testování tohoto analyzátu se provádí alespoň jednou v průběhu intervalu dnů 1 až 7 včetně v současném cyklu počítáno od začátku měsíčků (den 1 je den, ve kterém je poprvé sledována menstruace), pro stanovení referenční hodnoty nebo signálu koncentrace uvedeného analyzátu v současném cyklu, a potom se testování provádí alespoň jednou (obecně opakovaně, například denně) před dnem, ve kterém pravděpodobně nastane ovulace v průběhu tohoto cyklu, přičemž hodnoty nebo signály koncentrace uvedeného analyzátu, získané v průběhu uvedeného pozdějšího nebo opakovaného testování se porovnávají s referenční hodnotou nebo signálem pro stanovení, zda vzhledem k předcházejícímu testu nastává nebo již nastala změna koncentrace, indikující bezprostřední ovulaci.

V jednom výhodném provedení předkládaný vynález navrhuje způsob monitorování stavu plodnosti jednotlivého ženského subjektu, který zahrnuje testování v tělní tekutině koncentrace alespoň jednoho analyzátu s významným vztahem ke stavu ovulačního cyklu v průběhu preovulační fáze, přičemž testování tohoto analyzátu se provádí alespoň jednou v průběhu intervalu dnů 1 až 7 včetně v současném cyklu počítáno od začátku měsíčku (den 1 je den, ve kterém je poprvé sledována menstruace), pro stanovení referenční hodnoty nebo signálu koncentrace uvedeného analyzátu v současném cyklu, a potom se testování provádí alespoň jednou (obecně opakovaně, například denně) v průběhu periody dnů, která začíná alespoň 5, a výhodněji alespoň 6, pořadovým dnem před průměrným pořadovým dnem, ve kterém vlastní ovulace nastala v jednom nebo ve více předcházejících ovulačních cyklech u stejného jednotlivého subjektu, hodnoty nebo signály koncentrace analyzátu, získané v průběhu uvedené periody dnů se porovnají s referenční hodnotou nebo signálem koncentrace pro stanovení, zda vzhledem k předcházejícímu testu nastává nebo již nastala změna koncentrace indikující bezprostřední ovulaci. Obecně nemusí být opakované testování započato dříve než přibližně 9 dnů před průměrným dnem ovulace.

Výhodně se referenční hodnota koncentrace stanoví z testu (testů) provedených v průběhu intervalu dnů 4 až 7 včetně, zvláště výhodně z testu (testů) provedených ve dnu 5 a/nebo dnu 6, a zvláště výhodně z jednoho testu provedeného ve dnu 6.

Podstatná změna koncentrace analyzátu, indikující bezprostřední ovulaci, zejména vhodná pokud analyzátem je

estradiol nebo jeho metabolit, bude obecně zaznamenána, když poměr referenční koncentrace [r] ku testovací koncentraci [i] splňuje následující kritéria:

$$1,5 \leq [i]/[r] \leq 2,5$$

5 Přesněji, zejména pokud analyzátem je E3G a referenční hodnota je stanovena ve dnu 6:

$$[i]/[r] \geq 2$$

10 Pokud vybraný vzorkovací formát, prostřednictvím kterého je získáván údaj o koncentraci, poskytuje signál, který je nepřímě úměrný k vlastní koncentraci, jako tomu může být v případě konkurenčního vzorkování, měla by osoba v oboru znalá snadno nahlédnout, že vztah mezi signály [i] a [r] bude obrácený než je uvedeno výše.

15 Obecně se předpokládá, že bude mezera alespoň jednoho dne, a obvykle spíše několika dnů, mezi stanovením referenční hodnoty koncentrace a započítáním opakovaného testování, přičemž v průběhu této mezery nemusí být prováděno žádné testování. Tak tedy v ideální situaci uživatelka provede 20 jeden test v počáteční fázi cyklu, například ve dnu 6, a o několik dnů později začne relativně krátký program opakovaného, například denního, testování, které je ukončeno po obdržení dostatečné informace pro identifikaci plodné fáze, výhodně včetně indikace konce plodné fáze v tomto 25 cyklu. Typicky případně toto ukončení testování na den vlny (nárůstu) LH, nebo v intervalu několika dnů potom, takže zbytek cyklu probíhá bez testů.

30 Výhodně může být tělní tekutinou moč. Velmi vhodným analyzátem je tedy estradiol nebo jeho metabolit, jako je estron-3-glukoronid.

Výhodně, v jednom provedení předkládaného vynálezu, je průměrný den ovulace odvozen od údaje zjištěného v průběhu alespoň 3, a zvláště výhodně alespoň 5, po sobě jdoucích předcházejících cyklů.

5 V ideálním případě je průměrný den ovulace, použitý pro vypočítání časového intervalu pro účely současného cyklu odvozen z údaje získaného v průběhu alespoň bezprostředně předcházejícího cyklu.

10 Zvláště výhodný způsob podle vynálezu zahrnuje stanovení průměrného dne ovulace z údaje získaného z "klouzavé" ("rolling") referenční báze sestávající z pevného počtu po sobě jdoucích cyklů bezprostředně předcházejících současnému cyklu. Výhodně tato klouzavá referenční báze sestává z bezprostředně předcházejících 3 až 12 cyklů, 15 zvláště výhodně z bezprostředně předcházejících 5 nebo 6 cyklů. Prostřednictvím použití této klouzavé referenční báze může být jakýkoliv progresivní "posun" ve výskytu ovulace u dotyčného subjektu zachycen a započítán pro zjištění příštího počátečního dne opakovaného testování.

20 Předkládaný vynález zahrnuje testovací kit zahrnující jedno nebo více testovacích zařízení pro stanovení koncentrace (v relativním nebo absolutním smyslu) uvedeného alespoň jednoho analyzátu v tělní tekutině, společně s 25 instrukcemi doporučujícími uživatele začít s testováním v průběhu uvedeného časového intervalu, a prostředky umožňujícími uživatele odvodit uvedený časový interval a/nebo přesný den započetí testování ze znalosti pořadového dne, ve kterém vlastní ovulace nastala v průběhu alespoň 30 jednoho předcházejícího cyklu uživatelek.

Další nezávislý aspekt předkládaného vynálezu, který může být nicméně kombinován výhodně s jakýmkoliv způsobem uvedeným výše, zahrnuje:

5 a) vybavení uživatelky množstvím jednorázových testovacích zařízení tělní tekutiny, přičemž uvedené množství je alespoň 7, ale výhodně ne více než 12; a

10 b) vedení uživatelky, aby použila všechna z uvedených dodaných testovacích zařízení v průběhu jednoho ovulačního cyklu v souladu s předem stanoveným testovacím programem bez ohledu na to, zda indikace bezprostřední ovulace již byla zjištěna před použitím všech z uvedených dodaných testovacích zařízení.

15 Výhodně je uživatelka vedena, aby provedla jeden test ve dnu 6, a aby použila všechna zbývající testovací zařízení na denním základě v průběhu periody opakovaného testování.

20 Předkládaný vynález rovněž zajišťuje kit pro použití v jakémkoliv ze způsobů popsaných výše, který zahrnuje množství jednorázových testovacích zařízení tělní tekutiny, společně s prostředky pro čtení a interpretaci výsledků testů provedených s použitím uvedených testovacích zařízení.

25 Předkládaný vynález rovněž zahrnuje náhradní balení jednorázových testovacích zařízení tělní tekutiny pro použití v jakémkoliv ze způsobů popsaných výše, s instrukcemi pro uživatelku, aby použila všechna uvedená obsažená jednorázová testovací zařízení v průběhu trvání jednoho ovulačního cyklu. Výhodně toto balení obsahuje ne více než 12 testovacích zařízení, zvláště výhodně alespoň 7, ale ne více než 10 zařízení.

Požadavkem na uživatelku, aby použila všechna z početně malé jedné dávky nebo sady jednorázových testovacích zařízení na cyklus, je zajištěna výhoda jak pro uživatelku tak i pro výrobce zařízení. Uživatelka má výhodu v tom, že "měsíční" testovací program je zjednodušen - není zde nutnost rozhodování kdy zastavit opakované testování nebo zda použít v průběhu následujících cyklů testovací zařízení zbylá z dřívějších cyklů. Pro výrobce je zde jistota, že údaje pro každý cyklus jsou odvozena z jedné dávky testovacích zařízení, jsou tedy eliminovány problémy se standardizací, které by mohly jinak vznikat, a zároveň se snižuje složitost jakéhokoli monitoru požadovaného pro interpretaci testovacích údajů. Na uživatelku není kladen žádný požadavek, aby zajistila kalibraci vzorků. Jednorázová testovací zařízení mohou být dodávána ve standardních "měsíčních" náhradních baleních, což zjednodušuje operaci balení. Vzhledem k tomu, že je eliminován problém "zbývajících" testovacích zařízení, je rovněž odstraněna jedna možná příčina nejistoty uživatelky.

Výhodou způsobů podle předkládaného vynálezu je to, že může být dosaženo účinného monitorování ovulačního cyklu použitím údaje odvozeného pouze z měření koncentrace (koncentrací) analyzátu v tělní tekutině. Není nutné kombinovat tento údaj s jinými parametry. Zejména zde není nutnost doplnit tento údaj s procedurou měření bazální tělesné teploty.

Prostřednictvím použití referenční hodnoty koncentrace z údaje v počáteční části současného cyklu se způsoby podle vynálezu vyhýbají potřebě kalibrovat a zajišťují, že základní reference je osobní pro testovaný

subjekt. To vede ke zřejmější indikaci preovulační podstatné změny koncentrace ve srovnání s dříve navrženými způsoby založenými na měřeních den po dnu.

Analýzát vybraný pro zajištění upozornění bezprostřední ovulace není pro předkládaný vynález kritický, pokud je zajištěno, že tento analyzát vykazuje detekovatelnou změnu koncentrace v časovém intervalu mezi začátkem testování (jak bylo zde stanoveno) a bezpečnou dobou před vlastní ovulací v současném cyklu.

Vynález může být obecně aplikován v jakémkoliv způsobu monitorování stavu současného ovulačního cyklu individuálního lidského ženského subjektu, který zahrnuje měření analyzátu v tělní tekutině s podstatným vztahem ke stavu ovulačního cyklu a který vykazuje zaznamenanatelnou změnu v průběhu preovulační fáze tohoto cyklu, přičemž tato změna nastává nejméně 2 a s výhodou nejméně 3 dny před dnem vlastní ovulace.

Následující popis je proveden pouze prostřednictvím příkladu ve vztahu k hormonům v moči E3G, luteinizačnímu hormonu (LH) a pregnanediol-3-glukuronidu (P3G), avšak je možné snadno nahlédnout, že principy tohoto způsobu lze použít i na testování dalších biochemických znaků v jiných tělních tekutinách, například na testování hormonů estrogenu a progesteronu v krvi nebo ve slinách. Způsob podle předkládaného vynálezu je možné použít v kombinaci s pozorováním jiných fyziologických známek stavu plodnosti ženy, které žena může sledovat, a nebo jej lze na tato pozorování přímo aplikovat, příkladem je sledování znaků v jiných tělních tekutinách.

Den ovulace může být stanoven prostřednictvím jakéhokoli ze známých chemických nebo fyziologických parametrů, ačkoliv výhodným způsobem je měření koncentrace LH. Jakmile byla detekována vlna LH, lze říci, že ovulace je možno bezprostředně očekávat. Také den v cyklu, ve který ovulace již nastala může být zaznamenán pro budoucí referenci. Pokud je zjištěna vlna LH a tudíž je přesně stanoven den ovulace, může být uživatelce s velkým stupněm jistoty sděleno, že nebude plodná déle než čtyři následující dny (3 dny po ovulaci). pro praktické účely může být koncentrace LH 20 mIU/ml v moči označena jako univerzální prahová hodnota indikující vlnu LH za v podstatě všech okolností.

Výraz "vlna LH" je v tomto popisu používá pro označení dramatického nárůstu koncentrace LH, který předchází ovulaci. V oboru je používán rovněž výraz "LH max.", to jest špičková koncentrace LH. U většiny individuálních subjektů je ze všech praktických hledisek výhodné, pokud je cyklus monitorován na denním základě. U malého množství individuálních subjektů, možná u 20 % populace, ale vlastní špičková koncentrace LH není zjištěna do dne následujícího po hlavním nárůstu koncentrace. pro účely předkládaného vynálezu je výhodné používat sledovatelný nárůst, jako kritický parametr.

Alternativně, nebo navíc, může být deklarován konec plodné fáze na základě znalosti koncentrace estradiolu (nebo jeho metabolitu) v současném cyklu. Výhodně tento konec může deklarován na předem stanovený den následující po hodnotě špičkové koncentrace. Protože, například, špičková koncentrace E3G v moči se jeví být méně snadno detekovatelnou

událostí než je vlna LH, může být "špička" E3G definována prostřednictvím odkazu na prahovou hodnotu stanovenou, například vztahem:

$$[i]/[r] > 2,5, \text{ výhodně } \geq 3$$

5 pak se uvažuje, že "špička" nastala v den, kdy tento vztah je poprvé splněn v průběhu testovacího režimu použitého v současném cyklu. Obrácený vztah bude použit, pokud signál o E3G je nepřímě úměrný vlastní koncentraci. V některých
10 případech může podstatný nárůst E3G nastat ve stejný den jako byla detekována bezprostřední ovulace. Pokud "špička" E3G již byla detekována, lze předpokládat, že plodná fáze skončí o šest, nebo bezpečněji o sedm nebo o osm, dnů později. U tohoto provedení předkládaný vynález navrhuje možnost způsobu monitorování plodnosti v současném cyklu pouze na základě
15 údaje odvozeného z testování estradiolu nebo jeho metabolitu. Pro účely zcela bezpečné nebo neselhávající procedury, na základě znalosti dne ovulace v předcházejících cyklech, může být použita špička E3G tak, jak typicky nastává přibližně 1
20 den před vlastní ovulací.

25 Dalším způsobem předpovídání konce plodné periody (ačkoli ne tak přesným jako je předpovídání dne ovulace) je měření koncentrací hormonu P3G v moči. Hladina P3G v moči je poměrně nízká až do začátku luteální fáze, přičemž v tomto okamžiku jeho koncentrace poměrně prudce stoupá. Jakmile je tedy detekována zvýšená hladina P3G, může být uživatelce indikováno, že v cyklu nastala luteální fáze, tj.. poslední neplodné období. Zvýšená hladina P3G v moči lze stanovit na základě údaje zjištěného v průběhu současného cyklu a/nebo v
30 jednom nebo více cyklech předchozích. Hladina P3G je například "zvýšená" jak v případě, kdy je vyšší než součet

čtyř předchozích hladin P3G v témže cyklu, tak v případě, kdy je vyšší než 3500 ng/ml, přičemž hladina P3G je zvýšená, dosáhne-li jedné z těchto dvou prahových hodnot, i když je hodnota tohoto dosaženého prahu nižší než hodnota toho druhého. Nález "zvýšené" hladiny P3G znamená, že subjektu může být sděleno, že je již do konce tohoto cyklu v neplodném období.

Pokud je to žádoucí, může být detekce buď LH nebo P3G použita jako spoušť pro indikaci toho, že subjekt již dále není plodný do konce cyklu, přičemž jeden hormon působí jako "pojistka" pro ten druhý. Je ovšem výhodně, aby detekce LH byla použita jako primární indikátor toho, zda ovulace již nastává nebo bezprostředně nastane, protože detekce LH sama o sobě vede na mnohem přesnější stanovení přesného dne ovulace než použití P3G.

Způsoby zjišťování analyzátů v tělní tekutině, jako jsou metabolity hormonů v moči, vhodné pro účely tohoto způsobu jsou velmi dobře známé osobám v daném oboru znalým. Ve výhodném provedení je analyzát detekován vzorkovacími nebo testovacími způsoby a zařízeními, které jsou popsány v UK patentu GB 2204398 a v evropské patentové přihlášce EP-A-383619.

Pokud způsob podle předkládaného vynálezu odkazuje na měření komponentu v moči, musí být toto měření provedeno na vzorku moči. Je dosažitelné množství imunologických technik, které umožňují měření komponentů v moči. V literatuře již bylo popsáno velké množství testovacích zařízení na pevné bázi, jako jsou ponorné tyčinky a chromatografické pásky, která mohou být snadno upravena pro použití při stanovení analyzátů v moči. Zařízení by mělo být schopno alespoň

indikovat relativní koncentrace analyzátu, například E3G, v pásmech prahových hodnot. Příklady jednoduché testovací technologie, která může být snadno upravena pro domácí použití, jsou popsány, například, v EP-A-225054, EP-A-183442, EP-A-186799 a EP-A-291194. Mohou být použity jednorázové vzorkovací pásy, jako jsou popsány v patentovém spisu EP-A-291194, které je nutno jednoduše pouze uvést do kontaktu s močí a které zajišťují vzorkovací výsledek v polo kvalitativní formě, například prostřednictvím řad testovacích zón na pásku, které jsou progresivně pozitivní při vyšších koncentracích analyzátu v moči. Více pásků, které odpovídají při různých prahových hodnotách analyzátu, může být použito spíše než jeden pásek. Alternativně může být okem čitelný kvantitativní test založen na progresi viditelné, například zabarvené, oblasti nebo "čele" na povrchu (například radiální difúzí), s použitím například vzorku značeného enzymem.

V mnohem složitějších provedeních vynálezu je upraveno záznamové zařízení, které obsahuje prostředky pro čtení výsledku vzorku moči, například měřením absorbce nebo fluorescence testovacího pásku. To může umožnit mnohem přesnější číselnou indikaci o koncentraci analyzátu, přičemž tak lze dále zlepšit přesnost celého způsobu.

V jednom provedení předkládaného vynálezu, ve kterém je dva nebo více analyzátu měřeno současně, může být toto měření prováděno, pokud je to žádoucí, s použitím jednoho testovacího zařízení tělní tekutiny, například prostřednictvím zařízení obsahujícího více testovacích pásků, nebo jeden pásek schopný nezávislé detekce koncentrace různých analyzátu.

Obecný popis výhodného formátu testování

V jednom provedení se tento aspekt předkládaného vynálezu týká zejména testů ve formátu pásku pro stanovení monovalentních analyzátů, jako jsou hapteny.

5 V jiném provedení se předkládaný vynález týká zejména zlepšených testů, ve kterých dva nebo více analyzátů je stanoveno současně v jednom vzorku.

10 Pokud je test určen pro detekci přítomnosti a/nebo množství právě jednoho analyzátu v tekutém vzorku, je relativně snadné uspořádat podmínky testu pro dosažení tohoto výsledku a pro eliminaci účinku dalších komponentů, které mohou být přítomny ve vzorku. Pokud je ale žádoucí použít jedno testovací zařízení pro stanovení více než jednoho
15 dalšího analyzátu ve stejném tekutém vzorku, je úloha "vyvážit" podmínky pro zajištění, aby samostatné testovací reakce proběhly účinně, mnohem obtížnější, zejména u testu ve formátu pásků.

20 V dalším provedení předkládaný vynález navrhuje test ve formátu pásků pro monovalentní analyzát (hapten), využívající částicovou přímou značku pro vyhodnocení výsledku testu, přičemž vzorek částicové přímé značky nese protilátku specifickou pro monovalentní analyzát a detekční zóna pásku obsahuje nehybný analyzát nebo jeho analog. Každá částicová
25 značka nese množství stejných molekul protilátky. Jako reakční činidlo mohou být částice nesoucí protilátku standardizovány v průběhu výroby (to jest v průběhu aplikace protilátek na částice) pro zajištění, že v dané dávce množství aktivní protilátky konstantní. Koncentrace analyzátu nebo analogu analyzátu v detekční zóně by měla překračovat
30

účinnou koncentraci (molární koncentraci) protilátky na částicích. Není podstatné, aby na každé částici bylo konstantní množství protilátky, protože počet částic se může měnit. Množství protilátky částicové značky, dostupné ve vzorku by mělo překračovat předpokládanou koncentraci analyzátu ve vzorku. Tyto koncentrace mohou být nastaveny prostřednictvím experimentování tak, že přítomnost volného analyzátu ve vzorku tekutiny vede na podstatnou hladinu vázání volného analyzátu k protilátkám na částicích a tedy do podstatné míry zabraňuje možnému vázání částicové značky na nehybný analyzát nebo jeho analog v detekční zóně. Principem tohoto testu je to, že na průměrné částici je dostatečný počet aktivních molekul protilátky pro zajištění vazby částic v detekční zóně, ale přesto má přítomnost analyzátu ve vzorku omezený účinek na toto vázání. Míra, do jaké se částice budou vázat v detekční zóně, je tedy nepřímě úměrná koncentraci analyzátu ve vzorku tekutiny. V testu ve formátu pásků je protilátka částicové značky uložena před detekční zónou, takže aplikovaný vzorek tekutiny prochází materiálem částicové značky a nese jej do detekční zóny. U tohoto uspořádání testu je nezbytné zajistit, aby potenciální reakce mezi volným analyzátem a protilátkou částicové značky byla alespoň v podstatě dokončena před tím, než tato reakční činidla dorazí do detekční zóny. Míra, do jaké se částice váží k nehybnému analyzátu nebo jeho analogu v detekční zóně, je tedy závislá na zbytkové nezreagované protilátce zbývající na částicích. Je nezbytné zajistit, aby koncentrace nehybného analyzátu nebo jeho analogu v detekční zóně byla vysoká pro zlepšení účinného zachycení částic, které procházejí skrz tuto zónu. Aby se zlepšila účinnost předcházejícího vázání

protilátky částicové značky s volným analyzátem ve vzorku tekutiny, je velmi žádoucí, aby protilátka na částicích měla velmi vysokou afinitu pro analyzát. tato afinita je výhodně alespoň 10^9 , a zvláště výhodně alespoň přibližně 10^{10} , 5 litrů/mol. Použití protilátek s takto vysokou afinitou zajišťuje účinné zachycení volného analyzátu částicemi a navíc zajišťuje, že za podmínek testu, jakmile již byly molekuly analyzátu vázány k protilátce na částicích, je velmi nepravděpodobné, že se uvolní nebo zamění s molekulami 10 nehybného analyzátu nebo jeho analogu, jak částice procházejí skrz detekční zónu.

Obecné principy předkládaného vynálezu, které byly uvedeny výše, platí rovněž pro test, který je určen pro stanovení dvou nebo více analyzátů, přičemž alespoň jeden z 15 nich je monovalentní.

V jednom provedení navrhuje předkládaný vynález způsob stanovení přítomnosti a/nebo koncentrace dvou nebo více analyzátů v jednom vzorku tekutiny, jako je vzorek moči, přičemž alespoň jeden z těchto analyzátů je zjistitelný 20 prostřednictvím reakce vázání v sendvičovém formátu, která zahrnuje dvě vazební reakční činidla specifická pro různé epitopy v uvedeném analyzátu a alespoň jeden další z uvedených analyzátů je haptén (a tudíž není zjistitelný snadno prostřednictvím reakce vázání v sendvičovém formátu), 25 přičemž tento způsob zahrnuje kroky:

a) vytvoření zařízení zahrnujícího pásek z porézního materiálu, podél kterého může migrovat vzorek tekutiny, tento pásek má dvě nebo více prostorově oddělené 30 detekční zóny (alespoň jednu na analyzát, který má být

zjištěn) umístěné za místem, kde se přivádí vzorek tekutiny k tomuto pásku, přičemž z těchto zón:

i) alespoň jedna zóna obsahuje nehybné zachycovací činidlo, které je specifickým vazebním činidlem pro uvedený první analyzát, nebo specifické vazební činidlo, které může zachytit soubor sendvičového formátu včetně uvedeného prvního analyzáta, a

ii) alespoň jedna další zóna obsahuje nehybné zachycovací činidlo, kterým je buď hapten nebo jeho analog;

b) vytvoření jednoho nebo více souborů částic schopných migrovat skrz pásek se vzorkem tekutiny, přičemž z těchto souborů:

i) alespoň jeden soubor nese vazební činidlo specifické pro uvedený první analyzát, nebo specifické pro další specifické vazební činidlo, které může participovat v reakci v sendvičovém formátu s uvedeným prvním analyzátem, a

ii) alespoň jeden další soubor nese vazební činidlo pro uvedený hapten; a

c) způsobení, že uvedené soubory částic budou suspendovány v uvedeném vzorku tekutiny a budou migrovat s tímto vzorkem tekutiny skrz uvedený pásek; přítomnost uvedeného prvního analyzáta ve vzorku tekutiny vede na vázání částic v uvedené alespoň jedné detekční zóně v množství přímo úměrném vzhledem ke koncentraci tohoto prvního analyzáta v uvedeném vzorku tekutiny, a přítomnost uvedeného haptenu ve vzorku tekutiny vede na snížení vázání částic uvedeného alespoň jednoho dalšího souboru v uvedené další detekční zóně v množství přímo úměrném vzhledem ke koncentraci tohoto haptenu v uvedeném vzorku tekutiny, detekční zóna obsahující

nehybný hapten nebo nehybný analog haptenu je výhodně umístěna za detekční zónou sdruženou s prvním analyzátem.

Příkladem prvního analyzátu je luteinizační hormon (LH). Příkladem druhého analyzátu je estradiol nebo jeho
5 metabolit, jako je estron-3-glukoronid (E3G).

Výhodně jsou částicemi latexové částice, které mohou být zabarveny.

Zvláště výhodně je afinita specifického vazebního
10 činidla proti haptenu alespoň přibližně 10^9 , výhodně přibližně 10^{10} , litrů/mol.

Výhodně je rozsah částic vázaných v každé z uvedených detekčních zón stanoven prostřednictvím měření extinkce elektromagnetického záření, jako je světlo, při jeho přenosu
15 skrz tloušťku uvažovaného pásu.

Předkládaný vynález rovněž navrhuje testovací zařízení pro použití při stanovení dvou nebo více analyzátů v jednom vzorku tekutiny, přičemž alespoň jeden z těchto analyzátů je zjištělný prostřednictvím reakce vázání v
20 sendvičovém formátu, která zahrnuje dvě vazební reakční činidla specifická pro různé epitopy v uvedeném analyzátu a alespoň jeden další z uvedených analyzátů je hapten (a tudíž není zjištělný snadno prostřednictvím reakce vázání v sendvičovém formátu), přičemž toto zařízení zahrnuje, výhodně
25 uvnitř ochranného pouzdra:

a) pásek z porézního materiálu, podél kterého může migrovat vzorek tekutiny;

b) dvě nebo více prostorově oddělené detekční
30 zóny (alespoň jednu na analyzát, který má být zjištěn) na

uvedeném pásku umístěné za místem, kde se přivádí vzorek tekutiny k tomuto pásku, přičemž z těchto zón:

i) alespoň jedna zóna obsahuje nehybné zachycovací činidlo, které je specifickým vazebním činidlem pro uvedený první analyzát, nebo specifické vazební činidlo, které může zachytit soubor sendvičového formátu včetně uvedeného prvního analyzáta, a

ii) alespoň jedna další zóna obsahuje nehybné zachycovací činidlo, kterým je buď hapten nebo jeho analog;

c) jeden nebo více souborů částic, umístěných před uvedenými detekčními zónami a schopných migrovat skrz pásek se vzorkem tekutiny, přičemž z těchto souborů:

i) alespoň jeden soubor nese vazební činidlo specifické pro uvedený první analyzát, nebo specifické pro další specifické vazební činidlo, které může participovat v reakci v sendvičovém formátu s uvedeným prvním analyzátem, a

ii) alespoň jeden další soubor nese vazební činidlo pro uvedený hapten; přičemž

přítomnost uvedeného prvního analyzáta ve vzorku tekutiny vede na vázání částic v uvedené alespoň jedné detekční zóně v množství přímo úměrném vzhledem ke koncentraci tohoto prvního analyzáta v uvedeném vzorku tekutiny, a přítomnost uvedeného haptenu ve vzorku tekutiny vede na snížení vázání částic uvedeného alespoň jednoho dalšího souboru v uvedené další detekční zóně v množství přímo-úměrném vzhledem ke koncentraci tohoto haptenu v uvedeném vzorku tekutiny, detekční zóna obsahující nehybný hapten nebo nehybný analog haptenu je výhodně umístěna za detekční zónou sdruženou s prvním analyzátem.

Výhodně je materiál pásku alespoň průsvitný skrz svojí tloušťku. Ideálním materiálem pro pásek je nitrocelulóza.

5 Vzhledem k tomu, že test pro haptén není konkurenční reakcí, ve které je možnost volné výměny mezi analyzátem ve vzorku a analyzátem upraveným jako reakční činidlo v testu (v tomto případě nehybný analyzáte nebo jeho analog na pásku), je podstatné, aby v průběhu trvání testu byla analyzáte ve vzorku zajištěna dostatečné možnost vázat se s částicemi
10 nesoucími protilátke předtím, než tyto částice dosáhnou relevantní detekční zóny na pásku. Pro zjištění tohoto znaku je žádoucí, aby zde byla poměrně dlouhá kontaktní doba mezi částicovým reakčním činidlem a vzorkem. Podle toho, v určitých hranicích přijatelné fyzikální geometrie testovacího
15 zařízení, by detekční zóna obsahující nehybný analyzáte nebo jeho analog měla být tak daleko za zdrojem částicového značkového reakčního činidla, jak jen je možné. Zejména když je testovací zařízení určeno pro stanovení dvou nebo více analyzáte ve stejném vzorku tekutiny a alespoň jeden z těchto
20 dalších analyzáte je stanoven prostřednictvím reakce v sendvičovém formátu, měla by být detekční zóna pro haptén v ideálním případě za detekční zónou nebo zónami sdruženými s testy sendvičového formátu.

25 Jedno zvláštní provedení předkládaného vynálezu je tedy test s formátem pásku pro dva analyzáte pro stanovení LH a E3G v aplikovaném vzorku moči, přičemž dva testovací výsledky jsou detekovány v prostorově oddělených detekčních zónách na pásku a zóna pro E3G je umístěna z detekční zónou pro LH vzhledem k místu, kde je aplikován vzorek tekutiny.
30

Testovací zařízení zahrnující pásek z porézního materiálu, podél kterého může tekutina, jako je aplikovaný vzorek, migrovat prostřednictvím difúze nebo vztlínání pro uvedení jednoho nebo více testovaných reakčních činidel do malé detekční zóny v pásku, jsou nyní ve velké míře používána pro kvalitativní a polo kvantitativní analýzy analyzátů, které mohou být detekovány prostřednictvím sendvičových testů s pevnou fází. Pokud jsou použity přímé značky, jako jsou soli zlata a obarvené latexové částice, mohou tyto testy odhalit výsledek ve formě snadno čitelné pouhým lidským okem. Výsledek je proveden koncentrováním detekovatelného materiálu v poměrně malé oblasti porézního nosného materiálu.

V jednom provedení předkládaný vynález zajišťuje kvantitativní test ve formátu pásku, ve kterém je testovací výsledek odhalen vázáním v detekční zóně značeným reakčním činidlem zaujímajícím více aktivních vazebních míst specifických pro testovaný analyzát. Značkou je detekovatelná mikročástice, jako je (obarvená) latexová částice, sůl kovu (například zlata), barvená sůl, nebo nekovové elementární částice (například uhlík, selen), o velikosti dostatečně malé pro umožnění migrace skrz porézní materiál pásku, ale dostatečně velké pro umožnění vytvoření detekovatelného konečného výsledku, když je značený materiál koncentrován v detekční zóně. Časticové značky typů, které již jsou používány v sendvičových testech ve formátu pásků, jsou ideální.

V typickém testu podle předkládaného vynálezu je více specifických vazebních míst ve značeném reakčním činidlu zajištěno použitím množství shodných protilátek, výhodně

monospecifických (například monoklonálních) protilátek, uchycených ke každé značené částici.

Oproti očekávání bylo překvapivě zjištěno, že zejména při testu na haptén vede použití částicových značek, 5- zaujímajících více shodných aktivních vazebních míst specifických pro analyzát, na podstatné zvýšení citlivosti. Lze předpokládat, že přebytek vazebních míst na značené částici umožňuje účinné vázání částice v detekční zóně nesoucí haptén. Ovšem, možná vzhledem ke geometrii systému, 10- která může být nahlížena jako planární povrch detekční zóny a více či méně kulová značená částice, předcházející vázání pouze relativně malého množství analyzátu, kterým je haptén, ze vzorku k zakřivenému povrchu značené částice způsobuje jistý stupeň zábrany vázání značené částice v detekční zóně, 15- což je dostatečné pro ovlivnění vázání a způsobuje detekovatelný účinek.

Lze předpokládat, že je značně žádoucí, aby, jakmile molekula analyzátu bude specificky vázána ke značené částice, 20- zůstala takto vázána v průběhu zbytku testového protokolu vedoucího na vytvoření detekovatelného testovacího výsledku v detekční zóně. Jedním způsobem dosažení tohoto znaku je použití specifického vazebního činidla ve značeném reakčním činidle, které má velmi vysokou afinitu pro daný analyzát. Je nyní výhodné použít monoklonální protilátky, které mají 25- afinitu pro analyzát 10^8 . Ve spojení s testem na haptén ve formátu pásek bylo shledáno výhodným použití značených specifických vazebních činidel majících afinitu na analyzát alespoň přibližně 10^9 a zvláště výhodně alespoň přibližně 10^{10} litrů/mol. Dobrý způsob měření afinity v roztoku je popsán v publikaci Friquet a kol., J. Immunol Methods, Vol 77 (1985), 30-

strany 305-319. Monoklonální protilátky mající takové vysoké afinity mohou být získávány běžným způsobem a identifikovány běžnými selekčními postupy. Ačkoliv je žádoucí použít protilátky, které vykazují vysokou afinitu v roztoku, není tento znak jediným způsobem dosažení tohoto aspektu předkládaného vynálezu. Je vysledováno, že protilátka, která vykazuje poměrně nízkou afinitu v roztoku může být transformována v jejích účinných vlastnostech, pokud je znehybněna na pevné fázi.

Důležitým provedením předkládaného vynálezu je kvantitativní test v páskovém formátu pro analyzáty tělních tekutin člověka, zejména pro hapteny. Zvláštním případem je takový test pro estradiol nebo jeho metabolit, jako je estron-3-glukoronid (E3G). Zvláště důležitým provedením předkládaného vynálezu je test v páskovém formátu pro E3G v moči, který je schopen kvantitativního stanovení E3G v rozsahu koncentrací 5 - 60 ng/ml moči. Takový test je zvláště vhodný pro použití v proceduře určené pro zajištění informace uživatele o stavu plodnosti v ovulačním cyklu. Koncentrace estradiolu nebo jeho metabolitu v tělní tekutině je považována za vhodný indikátor tohoto stavu.

Pokud je to žádoucí, může testovací zařízení podle předkládaného vynálezu, které bylo popsáno výše, navíc zahrnovat schopnost stanovit další analyzáty ve stejném vzorku, pokud je to vhodné prostřednictvím použití běžné sendvičové testovací technologie. Tak například je jedním provedením předkládaného vynálezu testovací zařízení v páskovém formátu, které může zajistit kvantitativní stanovení E3G v moči, jak bylo uvedeno výše, a současně kvantitativní stanovení luteinizačního hormonu (LH) v moči prostřednictvím

sendvičové testovací procedury, přičemž výsledky E3G a LH jsou vyhodnocovány ve dvou samostatných detekčních zónách. Výhodně u těchto kombinovaných testů může být značka stejná pro každý test, přestože osoba v oboru znalá snadno nahlédne, že obvykle by byly vyžadovány dva soubory částicových značek, z nichž jeden by nesl mnoho vazebních míst pro E3G a druhý by nesl specifický vazební materiál pro LH. Detekční zóna pro E3G bude obsahovat nehybný E3G, nebo jeho analog, a detekční zóna pro LH bude obsahovat nehybný specifický vazební materiál, jako je protilátka proti LH.

Obecný popis výhodného čtecího systému testovacích výsledků

Tento aspekt předkládaného vynálezu se týká zařízení pro čtení výsledků testů a testovacích zařízení pro použití ve spojení se čtecími zařízeními.

Testovací zařízení pro domácí použití, jako jsou těhotenské testy, jsou nyní velmi dobře zavedené. V případě těhotenského testu, který pouze uživatelce musí zajistit výsledek "ano/ne", umožňuje v současnosti dosažitelná technologie, aby testovací výsledek byl čten snadno pouhým okem bez nutnosti jakéhokoli pomocného vybavení.

Testy pro domácí použití jsou určeny primárně pro detekci fyziologických změn v lidském těle s cílem zlepšit zdraví, obecně dobrou životosprávu nebo životní styl jednotlivce. Spotřebitel se stává stále pozornějším ke svému zdraví a schopnost spotřebitele monitorovat jeho nebo její tělesné funkce se zlepšuje. V některých případech je tento stav usnadněn vzájemné spolupráce mezi jednotlivým spotřebitelem a profesionálním pracovníkem v medicíně (GP).

Existuje mnoho testů indikujících fyziologické změny v lidském těle, které v současnosti mohou být prováděny pouze s využitím složitých laboratorních technik. Aby se zajistila vhodná informace týkající se testovaného jednotlivce, musí
5 obecně tyto testy vyhodnotit výsledek v přesných číselných hodnotách, například koncentrace určitého analyzátu v tělní tekutině.

V oboru je tedy poptávka po testovacím systému, zejména použitelnému pro testování vzorků tělních tekutin v
10 domácím prostředí, který kombinuje výhody vzorkového testování společně s jednoduchým a levným numerickým stanovením testovacího výsledku.

V technické literatuře je popsáno mnoho testovacích zařízení s návrhem, že testovací výsledek by mohl být čten s
15 použitím optického zařízení. Často je navrhováno využití fluorescenčního vyzařování nebo světelného odrazu. Takové techniky jsou většinou vhodné pro použití ve složitých laboratořích. V patentovém spisu EP-A2-212599, který popisuje
20 mnohozónové analytické prvky mající koncentrační zónu detekovatelného signálu, je učiněn návrh, že detekovatelný signál indikující testovací výsledek v zóně by mohl být měřen prostřednictvím elektromagnetického záření, jako je světlo, přenášeného zónou. EP-A2-212599 indikuje, že analytický prvek
25 může být vyroben z porézního vláknitého materiálu, jako je papír nebo nitrocelulóza. V tomto spisu ale nejsou uvedeny žádné praktické detaily pro indikaci toho, jak by mohlo být provedeno přesné měření s použitím přenášeného světla.

Překvapivě bylo předkladateli této přihlášky
30 zjištěno, že kvantitativní informace může být odvozena prostřednictvím přenosového čtení testovacího pásku nebo

podobně, pokud dopadající elektromagnetické záření je jednotné v oblasti testovacího pásku, která obklopuje a zasahuje za testovací zónu.

V jednom provedení předkládaný vynález navrhuje způsob "čtení" výsledku testu, prováděný prostřednictvím koncentrování detekovatelného materiálu v relativně malé zóně nosného prostředku ve formě pásku, plátku nebo vrstvy, jehož tloušťkou lze přenášet elektromagnetické záření, jako je světlo, přičemž alespoň část jednoho čela uvedeného nosného prostředku je vystavena dopadajícímu elektromagnetickému záření, které je v podstatě jednotné v celé této části, uvedená část obsahuje uvedenou zónu a elektromagnetické záření vystupující z protilehlého čela nosného prostředku je měřeno pro zjištění testovacího výsledku.

Výhodně má dopadající elektromagnetické záření v podstatě jednotnou intenzitu.

Tato jednotnost může být dosažena, například, zajištěním kolimovaného zdroje elektromagnetického záření použitím běžných zaostřovacích prostředků, jako jsou čočky a světlovody, pro zajištění v paralelního dopadajícího elektromagnetického záření, které dopadá v podstatě na celou vystavenou část nosného prostředku.

Ovšem, ve výhodnějším provedení předkládaného vynálezu je dopadající elektromagnetické záření difúzní a ozařuje vystavenou část nosného prostředku jednotně s náhodným rozptylem.

V jiném provedení navrhuje předkládaný vynález testovací zařízení zahrnující porézní, pro tekutinu propustný nosný pásek nebo vrstvu, skrz jehož tloušťku může difúzně

prostupovat elektromagnetické záření, nosný prostředek je uvnitř pouzdra a zahrnuje alespoň jednu detekční zónu, ve které je vyhodnocován testovací výsledek prostřednictvím specifického vázání detekovatelného materiálu přímo nebo
 5 nepřímo k vazebnímu činidlu nehybnému v uvedené detekční zóně, přičemž detekce uvedeného materiálu se provádí jako odezva na elektromagnetické záření a pouzdro má přenosové oblasti elektromagnetického záření, umožňující elektromagnetické energii z vnějšího zdroje, aby procházela
 10 zařízením, a přičemž detekční zóna leží v cestě elektromagnetického záření mezi uvedenými přenosovými oblastmi elektromagnetického záření.

Výhodně porézní nosný pásek nebo vrstva zahrnuje papír, nitrocelulózu nebo podobně, výhodně s tloušťkou
 15 nepřekračující 1 mm.

V ještě dalším provedení navrhuje předkládaný vynález kombinaci testovacího zařízení a čtecího zařízení testovacího výsledku, přičemž:

20 a) testovací zařízení zahrnuje porézní, pro tekutinu propustný nosný pásek nebo vrstvu, skrz jehož tloušťku může difuzně prostupovat elektromagnetické záření, tento nosný prostředek je výhodně uvnitř pouzdra nebo krytu a zahrnuje alespoň jednu detekční zónu, ve které je vyhodnocován
 25 testovací výsledek prostřednictvím specifického vázání detekovatelného materiálu přímo nebo nepřímo k vazebnímu činidlu nehybnému v uvedené detekční zóně;

b) pouzdro nebo kryt, pokud je přítomno, má přenosové oblasti elektromagnetického záření, umožňující
 30 elektromagnetickému záření z vnějšího zdroje, aby procházelo

skrz zařízení, přičemž detekční zóna leží v cestě mezi přenosovými oblastmi;

c) čtecí zařízení testovacího výsledku má přijímací prostředky pro přijetí alespoň části uvedeného testovacího zařízení, přičemž tato část zahrnuje detekční zónu pro prezentaci této detekční zóny čtecím prostředkům, které zahrnují zdroj jednotného elektromagnetického záření a jeden nebo více snímačů umístěných tak, že po vložení testovacího zařízení do přijímacích prostředků může testovacím zařízením procházet elektromagnetické záření a intenzita elektromagnetického záření vystupujícího z testovacího zařízení může být detekována prostřednictvím tohoto snímače (těchto snímačů).

Výhodně přijímací prostředky zahrnují spojovací prostředky uveditelné do záběru s odpovídajícími spojovacími prostředky na testovacím zařízení pro zajištění, že po přijetí testovacího zařízení čtecím zařízením je detekční zóna (zóny) umístěna a udržována v předem stanoveném prostorovém vztahu vzhledem k čtecím prostředkům.

Výhodně přijímací prostředky zahrnují ovládací prostředky spouštěné prostřednictvím přijetí testovacího zařízení, přičemž tyto ovládací prostředky způsobují iniciaci čtení detekční zóny (zón).

Pokud je testovací zařízení opatřeno pouzdem, je výhodné, aby toto pouzdro testovacího zařízení zahrnovalo vnitřní středící prostředky, které zabírají s odpovídajícími středícími prostředky sdruženými s nosným prostředkem, takže detekční zóna je uvnitř pouzdra testovacího zařízení umístěna v předem stanoveném prostorovém vztahu vzhledem ke středícím

prostředkům na pouzdru testovacího zařízení. Výhodně tyto vnitřní středící prostředky zahrnují čep nebo podobně, uveditelný do záběru s otvorem, drážkou nebo podobně v nosném prostředku, přičemž detekční zóna je v předem stanoveném místě na nosném prostředku vzhledem k uvedenému otvoru nebo drážce.

V průběhu výroby testovacího zařízení mohou být použity odpovídající středící prostředky pro usnadnění nebo pro řízení přesného vytvoření detekční zóny na nosném prostředku, například prostřednictvím technik nanášení reakčních činidel. Navíc, nebo alternativně, může být prostřednictvím tohoto způsobu středění usnadněno nebo řízeno přesné uložení nosného prostředku dovnitř pouzdra testovacího zařízení.

V dalším provedení předkládaný vynález navrhuje čtecí zařízení testovacího výsledku pro použití ve spojení s testovacím zařízením zahrnujícím porézní, pro tekutinu propustný nosný pásek nebo vrstvu, skrz jehož tloušťku může difuzně prostupovat elektromagnetické záření, tento nosný prostředek zahrnuje detekční zónu, ve které je vyhodnocován testovací výsledek prostřednictvím specifického vázání detekovatelného materiálu přímo nebo nepřímo k vazebnímu činidlu nehybnému v uvedené detekční zóně, tato detekce materiálu se provádí jako odezva na elektromagnetické záření, přičemž toto čtecí zařízení testovacího výsledku zahrnuje:

a) přijímací prostředky pro přijetí alespoň části testovacího zařízení, přičemž tato část zahrnuje uvedenou detekční zónu;

b) čtecí prostředky sdružené s přijímacími prostředky, přičemž tyto čtecí prostředky zahrnují:

i) alespoň jeden zdroj jednotného rozptýleného, výhodně elektromagnetického záření; a

ii) jeden nebo více snímačů schopných detekce intenzity uvedeného elektromagnetického záření;

přičemž zdroj a snímač (snímače) jsou umístěny tak, že při přijetí uvedené části testovacího zařízení uvnitř přijímacích prostředků je detekční zóna umístěna v cestě mezi zdrojem a snímačem (snímači).

Tato kombinace testovacího zařízení/čtecího zařízení může být uživateli dodávána jako jeden testovací kit. Obecně ale, zatímco čtecí zařízení bude relativně trvalou jednotkou, kterou uživatel může v čase použít vícekrát (a která může být vybavena elektronickou pamětí/prostředky zpracování dat, které umožní vyhodnocení výsledků mnoha po sobě jdoucích testů), budou testovací zařízení určena pro použití pouze jednou a potom budou vyhozena. Testovací zařízení tedy mohou být dodávána uživateli samostatně od čtecího zařízení, například v baleních po více kusech.

Prostřednictvím přesného vzájemného zajištění mezi testovacím zařízením a čtecím zařízením, a také prostřednictvím zajištění přesného zarovnávání polohy detekční zóny uvnitř samotného testovacího zařízení, bude testovací zóna prezentována vzhledem ke čtecímu zařízení v konstantní předem stanovené poloze pokaždé, když je testovací zařízení vloženo do čtecího zařízení. Konstrukce optického systému uvnitř čtecího zařízení (světelný zdroj a snímače) mohou tudíž být tak jednoduché jak jen je možné, protože není

podstatné, aby snímače zahrnovaly, například, jakékoliv
snímací zařízení, které by jinak bylo vyžadováno, pokud by
přesné umístění detekční zóny nebylo známé. Vyloučením
potřeby použití složitého optického čtecího systému mohou být
5 výrazně sníženy náklady na čtecí zařízení/monitor.
Zjednodušení optického čtecího systému může rovněž umožňovat,
aby čtecí zařízení/monitor mělo malou velikost, což napomáhá
výhodnému a příjemnému použití v domácím prostředí.
Samozřejmě, že ve čtecím zařízení mohou být obsaženy snímací
10 prostředky, pokud je to žádoucí.

Přídavnou výhodou vytvoření vnitřního středícího nebo
zarovnávacího systému, který zajišťuje přesné umístění
detekční zóny uvnitř testovacího zařízení, je to, že může být
usnadněna automatická výroba a kontrola kvality testovacích
15 zařízení. Protože se předpokládá, například, v případě
monitoru ovulačního cyklu, že spotřebitel bude potřebovat
použít několik testovacích zařízení každý měsíc, může být
nutné testovací zařízení vyrábět ve velkých množstvích při
nizkých nákladech. Vnitřní systém zarovnání může usnadnit
20 automatickou výrobu a velkou výrobní rychlost.

V principu může být podle vynálezu využito
jakéhokoliv elektromagnetického záření pro provedení
přenosového měření. Elektromagnetické záření by ovšem mělo
být schopné podrobení se rozptylu. Výhodně je tímto
25 elektromagnetickým zářením světlo ve viditelném pásmu nebo v
blízkosti viditelného pásma. To zahrnuje infračervené světlo
a ultrafialové světlo. Obecně se předpokládá, že
detekovatelný materiál použitý jako značka ve vzorku je
takový materiál, který vzájemně reaguje se světlem ve
30 viditelném pásmu nebo v blízkosti viditelného pásma,

například absorpcí. Vlnová délka vybraného elektromagnetického záření je výhodně na nebo v blízkosti vlnové délky, která je silně ovlivněna, například absorbována, značkou. Například, pokud je značkou substance, která je silně zabarvena, to jest viditelná běžným lidským okem, pokud je materiál koncentrován, je optimálním elektromagnetickým zářením světlo s komplementární vlnovou délkou. Částicové přímé značky, například částice hydrosolů kovů (například zlata), hydrosolů nekovových prvků (například selenu, uhlíku), barevných hydrosolů a barveného latexu (polystyrén,) jsou optimálními příklady takových materiálů. Například v případě modře zbarvených latexových částic je optimálním elektromagnetickým zářením viditelné červené světlo, které bude silně absorbováno těmito modrými částicemi.

Ve výhodném provedení předkládaného vynálezu by přenesené elektromagnetické záření dosahující snímače (snímačů) mělo být rozptýlené. Toto rozptýlení může vzniknout jako důsledek přenosu elektromagnetického záření skrz nosný pásek nebo vrstvu, ale výhodněji je dosahováno prostřednictvím zdroje elektromagnetického záření, který emituje energii ve značně rozptýlené formě. Ve výhodném provedení předkládaného vynálezu tento zdroj produkuje značně rozptýlené záření a nosný pásek nebo vrstva, skrz který toto záření je následně přenášeno, je ve srovnatelných hodnotách mnohem slabší difuzér.

Primární výhodou použití rozptýleného světla nebo jiného záření v této souvislosti je to, že čtení vzorkovacích výsledku bude s mnohem menší pravděpodobností nepříznivě ovlivněno znečištěním nebo kontaminujícím materiálem na

vzorkovacím zařízením. Například špína nebo škrábance na vzorkovacím zařízením v oblasti, kterou musí být záření přenášeno, by mohly silně ovlivňovat přesnost zjišťovaných výsledků, pokud by bylo použito spíše zaostřené soustředěné světlo než rozptýlené světlo. Prostřednictvím použití zdroje rozptýleného světla je možné vytvořit čtecí zařízení vzorkovacích výsledků, kterým může přesně interpretovat výsledky vzorku, který je proveden dokonce na v podstatě průhledném vzorkovacím zařízením, aniž by dané vzorkovací výsledky byly nepříznivě ovlivněny drobným znečištěním nebo poškozením (například povrchové škrábance) na vzorkovacím zařízením.

Ve výhodném provedení předkládaného vynálezu je elektromagnetické záření ze zdroje pulsní. Prostřednictvím synchronizace detektorů (snímačů) tak, že pracují pouze ve fázi s pulsním zdrojem záření, je možné eliminovat jakoukoliv interferenci na pozadí, která by mohla být způsobena vnějším zářením, například okolním světlem. Předpokládá se, že vzorky budou většinou prováděné za podmínek přirozeného denního světla nebo, dokonce mnohem častěji, umělého světla. Umělé světlo má obvykle pulsní povahu (typicky 50 až 100 Hz) způsobenou střídavou povahou elektrického napájení. Upravením pulsního zdroje záření pro osvětlení vzorkovacího zařízení uvnitř čtecího zařízení může být zcela ignorováno pronikání přirozeného denního světla. Výběrem pulsní frekvence tak, že je dostatečně odlišná od nejobvyklejšího umělého světla, může být rovněž zabráněno jakékoliv interferenci způsobené umělým světlem. Výhodně by pulsní frekvence záření měla být alespoň kolem 1 kHz. Optimální pulsní frekvence je kolem 16 kHz.

Elektronika potřebná pro dosažení synchronního pulsního snímání je zcela běžná pro osoby v oboru znalé.

Použití pulsního světla je velmi výhodné také proto, že potom monitor nemusí být "světlotěsný". To nejen, že zjednodušuje konstrukci monitoru, ale čtení vzorkovacích výsledků pak může být prováděno, zatímco monitor je "otevřený", čímž se dále zjednodušuje činnost uživatele.

Zdroj světla nebo jiného elektromagnetického záření může zahrnovat zcela běžné komponenty. Optimálními příklady jsou komerčně dosažitelné LED diody, výhodně vybírané tak, aby poskytovaly vhodnou vlnovou délku světla, která je silně absorbována detekovatelným materiálem koncentrovaným v testovací zóně (zónách). Světlo z těchto LED diod by mělo procházet skrz silný rozptylovač před dosažením vzorkovacího zařízení. Pokud je to žádoucí, může být použito pole LED diod, které jsou připojené na napájení.

Vhodné rozptylovače mohou být vyrobeny, například, z plastových materiálů a jsou dosažitelné komerčně. Pokud je to nezbytné, mohou být světelné rozptylovací vlastnosti rozptylového materiálu zlepšeny zahrnutím částicových materiálů, jako je oxid titaničitý a síran barnatý. Optimální rozptylový materiál zahrnuje polyester nebo polykarbonát obsahující oxid titaničitý. Vhodné přimíchané množství částicového materiálu je alespoň přibližně 1 % hmotnostní, výhodně přibližně 2 % hmotnostní. Prostřednictvím použití rozptylovače mohou být současně měřeny všechny relevantní oblasti vzorkovacího pásu a jsou eliminovány rozdíly na světelném výstupu ze zdroje.

Snímač (snímače) pro detekci vystupujícího světla může být běžným komponentem, jako jsou fotodiody, například křemíkové fotodiody.

Výhodně je před tímto snímačem (snímači) umístěn druhý rozptylovač, který může být vyroben ze stejného materiálu jako primární rozptylovač. Toto uspořádání zajišťuje, že pohled viděný snímačem není ovlivněn přítomností nebo absencí testovacího pásku ve čtecí hlavě. Důsledkem je, že monitor může být kalibrován za nepřítomnosti testovacího pásku, a pak mohou být měřeny vzorkovací výsledky za přítomnosti vzorkovacího pásku.

Použitím jednotného světelného zdroje je možné zajistit čtecí systém pro testovací pásy a podobně, který je relativně tolerantní ke změnám v uložení testovací zóny (zón) z jednoho pásku na druhý, za nepřítomnosti snímače polohy. Pokud se ale týká přesnosti měření vzorků lze získat skutečně podstatné výhody, pokud je uložení testovací zóny řízeno, jak je zde popsáno.

Pro účely zlepšení pravděpodobnosti početí, jsou již prodávána testovací zařízení, která umožňují uživateli monitorovat v moči koncentraci luteinizačního hormonu (LH), která ostře stoupne přibližně jeden den před ovulací. Denní testování koncentrace LH v moči se provádí, například, použitím technologie "měřící tyčinky", přičemž testovací výsledky jsou zajištěny zabarveným koncovým bodem a intenzita barvy je úměrná koncentraci LH. Pokud je spotřebitel opatřen barevnou mapou, která umožňuje srovnávání denních výsledků se standardem, může být "vlna LH" zjištěna jednoduše okem. Naneštěstí je monitorování koncentrace LH velmi řídký příklad vzorkování, které se týká polo - kvantitativního údaje, který

je přístupný touto jednoduchou technologií, což je možné pouze proto, že relativní nárůst koncentrace LH vlny je takovou dramatickou událostí. Pro většinu ostatních potenciálně použitelných vzorků jsou změny koncentrace analyzátu v tělesných tekutinách mnohem subtilnější a jsou přesně zjištěitelné pouze prostřednictvím technických prostředků.

Existuje tudíž potřeba rozšířit v současnosti dosažitelnou kvalitativní testovací technologii pro domácí použití také do oblasti přesného kvantitativního testování. Výhodným příkladem, který je logickým rozšířením současného zájmu spotřebitele o testování gravidity v domácím prostředí a o testování odhadu ovulace, je rozšíření na přesné monitorování ovulačního cyklu, nejen pouze pro zvýšení pravděpodobnosti početí, ale také pro zajištění spolehlivé informace pro účely antikoncepce. Již byly provedeny návrhy pro analyzování tělesných tekutin se shora uvedeným cílem. Společným faktorem je monitorování periodických změn v koncentracích různých hormonálních metabolitů v moči.

Předkládaný vynález může být použit při stanovení jakéhokoli analyzátu v tělesné tekutině, zejména při monitorování lidského ovulačního cyklu prostřednictvím stanovení jednoho nebo více hormonů nebo jejich metabolitů v tělesné tekutině, jako je moč, například buď LH a/nebo estron-3-glukoronid (E3G).

V této souvislosti se předpokládá, že domácí testovací zařízení tekutých vzorků bude obecně zahrnovat porézní nosný materiál, jako je pásek, skrz který může pronikat nanesený vzorek tekutiny, jako je moč, přičemž vzorkovací výsledky jsou provedeny prostřednictvím specifické

vazby detekovatelného materiálu v přesně definované oblasti (detekční zóně) nosného materiálu, jako je úzká linka nebo malý bod, obsahující nepohyblivou specifickou vazební reakční látku. Předkládaný vynález se tedy týká způsobů, kterými

5 lokalizace detekovatelného materiálu v takové detekční zóně může být stanovena přesně jednoduchým a levným postupem. Domácí zařízení pro analýzu moči, například testy gravidity a testy odhadu ovulace, jsou nyní v širokém měřítku dostupné komerčně. Mnoho těchto zařízení je založeno na principech

10 imunochromatografie a typicky zahrnují duté pouzdro konstruované z plastového materiálu, které obsahuje porézní vzorkovací pásek nesoucí předem dávkovaná reakční činidla. Tato reakční činidla uvnitř zařízení mohou zahrnovat jedno nebo více reakčních činidel označených přímou značkou, jako

15 jsou mikročástice barevného hydrosolu, hydrosolu kovu (například zlata), nebo barveného latexu (například polystyrén), které jsou viditelné okem, pokud jsou koncentrovány v relativně malé testovací oblasti pásku. Uživatel pouze potřebuje nanést vzorek moči na jednu část

20 pouzdra, aby inicioval vzorkování. Vzorkovací výsledek se stane viditelný pouhým okem v průběhu několika minut bez další akce prováděné uživatelem. Příklady takových zařízení jsou popsány v patentových spisech EP-A-291194 a EP-A-383619. Sběr vzorku se výhodně provádí prostřednictvím savého prvku,

25 který tvoří část zařízení a který může snadno odebrat vzorek tekutiny, například z proudu moči. Případně může tento savý prvek vyčnívat z pouzdra zařízení, aby byla usnadněna aplikace vzorku.

30 Dalším provedením předkládaného vynálezu je elektronické zařízení pro monitorování stavu plodnosti

lidského ovulačního cyklu a pro zajištění uživateli tohoto zařízení indikace o stavu plodnosti, přičemž toto zařízení zahrnuje:

5 a) čtecí prostředky pro čtení testovacího zařízení dvou analyzátorů, jak je popsáno v tomto popisu;

b) prostředky zpracování informace pro stanovení, z uvedeného čtení testovacího zařízení, hodnot koncentrací uvedených alespoň dvou analyzátorů ve vzorku tělní tekutiny;

10 c) prostředky zpracování informace a paměťové prostředky pro odvození, ze stanovených hodnot koncentrací a z dříve stanovených hodnot koncentrací, indikace aktuálního stavu plodnosti lidského subjektu, který je testován; a

15 d) zobrazovací prostředky pro sdělení aktuálního stavu plodnosti uživateli tohoto elektronického zařízení.

Výhodně zařízení dále zahrnuje přijímací prostředky pro přijetí testovacího zařízení, přičemž čtecí prostředky jsou umístěny uvnitř těchto přijímacích prostředků. Čtení je nejlépe dosahováno prostřednictvím optického přenosu skrz 20 testovací zařízení, které je právě přijaté v přijímacích prostředcích. Výhodně zobrazovací prostředky zahrnují jeden nebo více světelných zdrojů, které zajišťují barevný signál pro uživatele, přičemž změna stavu plodnosti je indikována změnou barvy.

25 Další provedení předkládaného vynálezu, která budou zřejmá z následujícího podrobného popisu, zahrnují testovací zařízení pro použití jako součást kombinace čtecího/testovacího zařízení, způsoby výroby těchto testovacích zařízení, a způsoby použití těchto testovacích 30 zařízení a čtecích zařízení.

Pouze prostřednictvím neomezuujícího příkladu budou v následujícím popisu testovací zařízení a čtecí zařízení podle předkládaného vynálezu podrobněji popsána s odkazy na připojené výkresy.

5

Přehled obrázků na výkresech

10

Obr.1 znázorňuje obecný pohled na vrstvu porézního materiálu, například papír, v průběhu operace ukládání reakčního činidla na tuto vrstvu a operace rozdělování této vrstvy na testovací pásy;

15

Obr.2 znázorňuje "rozložený" pohled na testovací zařízení podle předkládaného vynálezu, které obsahuje testovací pásek vyrobený tak, jak je znázorněno na obr. 1;

20

Obr.3 znázorňuje ve schematickém řezu testovací zařízení podle obr. 2, které je umístěno uvnitř čtecí hlavy monitoru podle předkládaného vynálezu, pracující prostřednictvím světelného přenosu skrz testovací pásek, přičemž na ose y je pozměněné měřítko pro znázornění uspořádání komponentů;

25

Obr.4a, obr. 4b a obr. 4c znázorňují v částečně "rozložené" formě hlavní znaky celého monitoru podle předkládaného vynálezu, jmenovitě:

30

Obr.4a znázorňuje víko a horní polovinu pouzdra;

Obr.4b znázorňuje desku s elektronickými obvody, obsahující čtecí hlavu;

Obr.4c znázorňuje spodní polovinu pouzdra a přidružený zásobník na baterie;

5

Obr.5 znázorňuje ve zvětšeném měřítku čtecí hlavu patrnou na obr. 4b;

Obr.6 znázorňuje pohled na testovací zařízení přímo směrem dolů do přijímací štěrbině čtecí hlavy, která je znázorněna na obr. 5;

10

Obr.7 znázorňuje pohled v příčném řezu na jeden konec testovacího zařízení, který je konstruovaný pro vložení do přijímací štěrbině čtecí hlavy;

15

Obr.8 znázorňuje, ve schematické formě, základní funkce, které mohou být vyžadovány v elektronickém monitoru pro použití podle předkládaného vynálezu, jak je aplikován na lidský ovulační cyklus;

20

Obr.9a znázorňuje testovací pásek pro dva analyzované prvky;

Obr.9b znázorňuje v podélném řezu testovací zařízení obsahující testovací pásek znázorněný na obr. 9;

25

Obr.9a a obr. 9b jsou popsány v Příkladu 5 níže.

30

Příklady provedení vynálezu

Na obr. 1 je znázorněna vrstva 100 porézního materiálu, například nitrocelulózy, která je určena k tomu, aby byla rozdělena na množství shodných testovacích pásek 101 prostřednictvím řezání podél centrální osy A-A a příčných os B-B.

Paralelní linky (102 - 107) testovacích reakčních činidel jsou uloženy na vrstvu 100 před rozdělením. Pouze pro účely příkladu se předpokládá, že reakčními činidly jsou první nehybná protilátka v linkách 102 a 107, a druhá odlišná nehybná protilátka v linkách 103 a 106. Ukládání reakčních činidel může být prováděno prostřednictvím "pera" 108 nebo podobně, pracujícím na počítačem řízeném "x-y" vynášecím mechanismu (není znázorněn) a plněným vhodným roztokem reakčního činidla přes dávkovací pružnou trubičku 109. Pokud je materiálem vrstvy 100 nitrocelulóza, mohou být reakční činidla, jako jsou protilátky a antigeny, znehybněna prostřednictvím jednoduchého přímého nanesení na tuto nitrocelulózu, následovaným zablokováním materiálu vrstvy, například prostřednictvím albuminu nebo polyvinylalkoholu. Po uložení a zablokování reakčních činidel, mohou být nanесeny dvě linky 104 a 105 mobilního značeného reakčního činidla, jako je antigen (například E3G) nebo jiná protilátka (například anti LH) značená například částicovou přímou značkou, jako je barvený latex. Toto uložení může být provedeno, například, prostřednictvím "dalšího pera" (není znázorněno). Alternativně může být značené činidlo (značená činidla) drženo v samostatné porézní destičce nebo podobně, spíše než, aby bylo nanесeno přímo na materiál testovacího pásku.

Za účelem dosažení přesného uložení linek obsahujících reakční činidla je každý podélný okraj 110, 111 vrstvy 100 děrován množstvím malých děr 112, z nichž každá je situována uvnitř šířky označeného pásku 113. Díry 112 jsou vyrobeny ve vrstvě 100 před uložením jakéhokoliv reakčního činidla. Neupravená vrstva je umístěna na rámu (není znázorněn) nebo podobném pracovním povrchu prostřednictvím tyče 114 přitlačené směrem dolů na každý příčný okraj vrstvy. Pouze jedna z těchto tyčí je (částečně) znázorněna. Každá tyč má množství směrem dolů vystupujících čepů 115, z nichž každý zapadá přesně do jedné z děr 112. Vedení dráhy pera 108 ukládajícího reakční činidlo je vyrovnáno přesně s umístěním tyčí držících vrstvu a tudíž je ukládání reakčního činidla prováděno v předem stanovené přesné lince vzhledem k děrování ve vrstvě.

Po provedení všech nezbytných uložení reakčních činidel a dalších úprav je vrstva rozdělena prostřednictvím řezacích prostředků (nejsou znázorněny) na jednotlivé shodné pásky 101. Každý jednotlivý pásek tedy obsahuje jednu polohovací díru 112 se dvěma linkami (například 102 a 103) nebo reakčními zónami obsahujícími reakční činidla, které jsou umístěné vzhledem k díře 112 v přesných předem stanovených polohách a procházejí přes celou šířku každého pásku. V místě vzdáleném od díry 112 je oblast (například 104) pásku, která nese mobilní značené reakční činidlo. Přesné umístění značeného reakčního činidla vzhledem k díře 112 není nezbytně tak kritické, jako je kritické umístění reakčních zón.

Jak je znázorněno na obr. 2, zahrnuje testovací zařízení podle předkládaného vynálezu plastové pouzdro, které

má horní a spodní polovinu 200 a 201, které jsou upravené tak, aby obsahovaly testovací pásek 101 a také savý přijímací prvek 202 vzorku, který může vyčnívat ven z jednoho konce 203 sestaveného pouzdra. V sestaveném zařízení potom tento savý přijímací prvek 202 přesahuje konec 204 testovacího pásku v blízkosti uloženého značeného reakčního činidla. Horní polovina 200 pouzdra obsahuje okénko 205 nebo otvor, skrz které mohou být sledovány obě detekční zóny 102 a 103 z vnějšku pouzdra. Horní polovina pouzdra obsahuje na svém vnějším povrchu 206 kruhovou prohlubeň 207 na centrální podélné ose pouzdra v malé vzdálenosti za sledovacím okénkem vzhledem ke konci 203 pouzdra, který obsahuje savý přijímací prvek vzorku. Na vnitřku horní poloviny pouzdra je směrem dolů vyčnívající čep 208 nebo kolík, který je umístěn přímo pod prohlubní 207. Průměr tohoto, směrem dolů vyčnívajícího čepu 208 nebo kolíku odpovídá průměru díry 112 v testovacím pásku 101, takže tento pásek může být pozitivně umístěn uvnitř sestaveného zařízení na tomto čepu.

Spodní polovina 201 pouzdra rovněž obsahuje světlo přenášející okénko 209 nebo otvor, které, v sestaveném zařízení, leží přímo proti sledovacímu okénku 205 v horní polovině pouzdra. Spodní polovina pouzdra rovněž obsahuje prohlubeň 210, která může přijímat spodní konec čepu 208 nebo kolíku, když jsou dvě poloviny pouzdra sestaveny dohromady, aby vytvořily obal.

V sestaveném zařízení operace uzavření pásku a savého prvku mezi horní a spodní polovinu pouzdra způsobí, že přesahující části 204 a 211 pásku a savého prvku jsou sevřeny dohromady, aby vytvořily takové spojení, které dobře povede vlhkost.

Obecně se předpokládá, že materiál pouzdra bude neprůhledný, například bílý nebo obarvený plastový materiál, ale pouzdro může být také průhledné nebo téměř průhledné, pokud je to žádoucí.

Na obr. 3 je patrné testovací zařízení 300 umístěné uvnitř štěrbinu 301 v monitoru 302. Tato oblast testovacího zařízení obsahuje dvě protilehlá okénka 205 a 209.

Pouzdro monitoru je opatřeno štěrbinou pro přijetí části testovacího zařízení, která obsahuje okénko pro sledování výsledku. Na opačných stranách štěrbinu je světelný zdroj 303 a čtecí hlava 304.

Štěrbinu obsahuje výstupek nebo výčnělek 305, který může zapadat do prohlubně 207 na vnějším čelu pouzdra testovacího zařízení. Takto je tedy dosaženo přesné pozitivní umístění pouzdra uvnitř štěrbinu. Protože prohlubeň je v pevné poloze vzhledem k vnitřnímu čepu 208 nebo kolíku uvnitř testovacího zařízení a tudíž vzhledem k polohovací díře 112 v testovacím pásku 101, jsou dvě detekční zóny 102 a 103 na pásku umístěny v přesné poloze vzhledem ke čtecí hlavě. Díra v testovacím pásku tedy působí jako pozitivní reference v průběhu výroby testovacího zařízení a zajišťuje, že po použití tohoto zařízení a prezentaci monitoru budou detekční zóny na pásku pokaždé ve stejné poloze vzhledem ke čtecí hlavě. V důsledku toho tedy v tomto případě není nutné, aby čtecí hlava obsahovala snímací prostředky pro lokalizaci příslušných detekčních zón u každého prezentovaného testovacího zařízení.

Osvětlovací zařízení nebo světelný zdroj 303 zahrnuje množství LED diod 306 pro vytváření světla a svítí na

testovací pásek přes rozptylovač 307 a sledovací okénko 209 ve spodní polovině pouzdra testovacího zařízení. Světlo prochází skrz tenký nitrocelulózový testovací pásek 101 a opouští testovací zařízení skrz okénko 205 pro sledování výsledku v horní polovině pouzdra. Bezprostředně vně okénka 205 je druhý rozptylovač 308. Po průchodu skrz tento druhý rozptylovač 308 dopadá světlo na desku 309, která má množství otvorů 310, 311, 312, 313 a 314. Celkově je zde tedy pět otvorů, z nichž dva (311, 313) jsou přiléhající k detekčním zónám a ostatní (310, 312 a 314) leží v polohách po každé straně těchto otvorů u detekčních zón. Otvory mají štěrbinový tvar odpovídající detekčním linkám na pásku. Šířka každého ze dvou otvorů 311 a 313 odpovídajících detekčním zónám je dvojnásobnou šířkou každého ze tří ostatních otvorů, které působí jako ovládací prvky.

Světlo procházející těmito otvory pokračuje dále odpovídající štěrbinou 315, 316, 317, 318 a 319 v přepážkové desce 320. Na úplném konci každé štěrbiny je snímač 321 světla. Tyto snímače 321 mají stejnou velikost a pracovní specifikaci. Na předním čelu 322 přepážkové desky 320 má každá štěrbinu stejnou velikost jako odpovídající otvor. Na zadním čelu přepážkové desky, přiléhajícím ke snímačům světla, má každá štěrbinu stejnou velikost jako čelo snímače světla, který k ní přiléhá. Podle toho tedy mají dvě štěrbinu (316, 318), sdružené s otvory u detekčních zón, paralelní strany. Tři štěrbinu (315, 317 a 319), sdružené s řídicími otvory, zvětšují svoji velikost s tím, jak se blíží směrem ke snímači světla.

Štěrbina v monitoru může rovněž obsahovat upínací nebo přítlačné prostředky, jako je jedna nebo více pružné

předpjatých desek nebo čepů (nejsou znázorněny), pro další zlepšení pozitivního umístění testovacího zařízení uvnitř štěrbin.

5 V optimálním případě je stejný optický signál odvozen z každého otvoru nezávisle na přesném umístění linky proti otvorům. Otvory mohou mít různou velikost pro dosažení tohoto cíle. Rozměry referenční zóny by měly být vybrány tak, aby odpovídaly tak přesně jak jen je možné aktuální ploše detekční zóny na pásku.

10 Pro snížení pravděpodobnosti přeslechů mezi otvory by testovací pásek měl být držen tak blízko otvorů jak jen je možné, když je testovací zařízení umístěno ve štěrbině monitoru.

15 Jak bylo popsáno výše, je ve čtecím zařízení pět optických měřicích kanálů. Navíc zde může být šestý elektronický referenční kanál, který zajišťuje kalibraci elektronických zisků v obvodech snímačů.

20 Typický testovací pásek může podél svojí délky vykazovat gradient koncentrace detekovatelné značky, proti kterému musí být detekovatelná značka měřena v reakční zóně. Aby tento gradient byl vzat do úvahy, jsou tato měření v optimálním případě prováděna na každé straně reakční zóny na testovacím pásku. Signál z reakční zóny může být vyjádřen
25 jako poměr celkového signálu zaznamenaného ze dvou sousedních referenčních oblastí na pásku.

30 Pět měřicích kanálů je rozděleno do dvou reakčních zón a tří referenčních zón. Jedna referenční zóna, umístěná mezi dvěma reakčními zónami, zajišťuje referenční optické měření pro obě měření reakčních zón.

Odrazový měřicí systém musí být celý namontován na jedné straně testovacího pásku. Pro dosažení stejné úrovně kompaktnosti čtecího zařízení s pěti kanály by bylo vyžadováno použití (relativně) drahých součástek vyrobených na zakázku. Přenosová konstrukce může být vyrobena zcela z komerčně dosažitelných, vysokoobjemových optoelektronických součástek, což umožňuje výrobu monitoru, který je kompaktní a relativně levný.

Pět snímačů 321 je namontováno na zadním čele přepážkové desky. Každý snímač sleduje testovací pásek skrz otvor v přepážkové desce. Přepážková deska brání světlu viděnému jedním otvorem, aby dopadala na sousední snímače, a rovněž zajišťuje určitou toleranci uložení linek. Poloha testovací zóny uvnitř pole pohledu snímače se může měnit od jedné hrany otvoru k druhé ve směru osy x. Jakákoliv změna signálu, která takto vznikne, je funkcí úhlového uložení vzhledem ke středu měřicího snímače. Hloubka přepážkové desky může být vybrána za účelem řízení možného úhlového uložení testovací zóny vzhledem ke snímači a za účelem udržení přesnosti čtení.

Výčnělek 305 je udržován v přesné poloze vzhledem k otvorům. Referenční čep je umístěn do prohlubně 207 v pouzdru testovacího zařízení. Tato prohlubeň je rovněž přesně umístěna vzhledem k vnitřnímu čepu 208, vytvořenému na testovacím zařízení, na kterém je testovací pásek uložen prostřednictvím své vlastní polohovací díry vyražené skrz pásek. Reakční zóny jsou přesně uloženy vzhledem k této polohovací díře. Tímto způsobem, v mezích výrobních tolerancí, jsou reakční zóny drženy v přesných polohách

vzhledem k otvorům, skrz které snímače sledují testovací pásek.

Osvětlovací zařízení může sestávat z řad LED diod zapuštěných nebo umístěných za rozptylovým médiem, které zajišťuje jednotné a rozptýlené osvětlení testovacího pásku, pokrývající referenční a signálové zóny.

Začlenění rozptylovače mezi otvory a testovací pásek je výhodné pro kalibrační účely. Za účelem kalibrace každého z optických kanálů za nepřítomnosti testovacího pásku je vysoce žádoucí, aby každý snímač snímal světlo z určitých oblastí osvětlovacího zařízení, jako je tomu v případě, kdy je testovací zařízení přítomno. Rozptylovač může být vybrán tak, že je dominantním rozptylovačem v optické cestě, takže vložení testovacího pásku nepřispívá podstatně ke změnám v rozložení osvětlení, které je sledováno snímači. Navíc může rozptylovací element umožňovat, aby optická sestava obsahovala "otírací čistý" povrch, který je žádoucí při dlouhodobém opakovaném používání optické sestavy. Modulací intenzity osvětlovacího zařízení mohou být kalibrovány optické kanály bez pomoci pohyblivých částí, "neviditelně" pro uživatele před vložení testovacího zařízení.

Testovací pásek může sestávat z optické rozptylové vrstvy z nitrocelulózy nebo podobně, výhodně umístěné mezi dvě vrstvy opticky čirého filmu, například z polyesteru, jako je "Mylar". Tento čirý film chrání nitrocelulózu, uvnitř které probíhají vzorkovací reakce. Provádění odrazových měření skrz tenké průhledné filmy je obzvláště obtížné, protože vznikají problémy se zrcadlovými odrazy. Přenosová měření umožňují, aby optika byla konstruována kolmo vzhledem

k měřicímu povrchu, a minimalizují nepříznivé účinky způsobené odrazem.

Předkládaný vynález je zejména použitelný pro čtení testovacích pásek vyrobených z nitrocelulózy a podobných rozptylových membrán, které výhodně nemají tloušťku větší než přibližně 1 mm.

Jak je znázorněno na obr. 4a, zahrnuje monitor lisované pouzdro, například z plastového materiálu, které má obecně oválný nebo zakulacený tvar. Toto pouzdro v principu sestává z horní poloviny 400 a spodní poloviny, z nichž pouze horní polovina je vidět na obr. 4a. Na pravé straně pouzdra 400 je vybrání 401, které má dozadu skloněné zadní čelo 402. Toto zadní čelo 402 obsahuje otvor 403 pro tlačítko (není znázorněno), okénko 404 pro odhalení zobrazovacího panelu (není znázorněn) a dvě okénka 405 a 406 pro odhalení barevných světélek nebo jiných indikátorů (opět nejsou znázorněny) pro předání informace uživateli. Od levého konce 401 zasahuje dlouhá štěrбина 407 pro zajištění přístupu pro čtecí hlavu (není znázorněna). Vybrání 401 a štěrбина 407 jsou uzavíratelné prostřednictvím víčka 408, které je uchyceno k zadní straně pouzdra prostřednictvím dvou závěsných bodů 409 a 410. Horní povrch 411 pouzdra 400 je mírně vybrán, aby přijal víčko při uzavření, takže vnějšek uzavřeného zařízení prezentuje uživateli relativně hladký kontinuální povrch. Víčko může být otevřeno, aby se odhalily uživateli přístupné znaky monitoru. Víčko je uzavíratelné prostřednictvím pružinové svorky, (není znázorněna na obr. 4a), která vystupuje směrem nahoru skrz otvor 412 v přední hraně 413 pouzdra. Přední hrana 413 pouzdra obsahuje další

otvor 414, skrz který může být odhaleno další indikátorové světlo (není znázorněno).

Jak je znázorněno na obr. 4b, má obvodová deska 430 zakulacený pravouhlý tvar, který odpovídá vnitřnímu tvaru pouzdra, a nese všechny operační znaky monitoru. Tyto znaky zahrnují tlačítko 431, které uživatel může stlačit pro iniciaci monitorování ovulačního cyklu. Pokud je obvodová deska namontována uvnitř pouzdra a zakryta jeho horní polovinou, je tlačítko přístupné skrz otvor 403. Napravo od tlačítka je vizuální zobrazovací panel 432, jako je zobrazovací jednotka s tekutými krystaly, který uživatel může vidět skrz okénko 404. Napravo od zobrazovacího panelu jsou dva světlovody 433 a 434, které přenášejí, například, barevné světlo (jako je červené a zelené) ze dvou LED diod nebo podobných světelných zdrojů (nejsou znázorněny). Vhodné "čipy" a paměťové obvody 435 a 436 jsou namontovány na obvodové desce. Další světlovod 437, namontovaný na přední hraně 438 obvodové desky, může přenášet světlo z další LED diody (není znázorněna) k otvoru 414. Toto světlo může indikovat, například, uživateli, že je vyžadován test. Toto světlo může mít jinou barvu než mají světla sdružená se zobrazovacím panelem, například žlutou. Bateriová přípojka 439 visí ze spodní části obvodové desky pro připojení k bateriím umístěným ve spodní části pouzdra (viz obr. 4c). Na přední straně obvodové desky je rovněž spínač 440 ovladatelný pružinovou svěrou víčka 408.

Na levé straně obvodové desky je namontována čtecí hlava 441, která zahrnuje centrální přijímací štěrbinu 442 pro přijetí jednoho konce testovacího zařízení (není znázorněno). Na přední straně přijímací štěrbinu 442 je

osvětlovací zařízení 443 a bezprostředně naproti v zadní straně štěrbin je optický snímací systém 444, takže světlo může procházet skrz štěrbinu (a skrz testovací zařízení, když je vloženo) a může být vyhodnocováno snímačem.

5 Jak je znázorněno na obr. 4c, má spodní polovina 460 pouzdra celkový oválný tvar, který odpovídá horní polovině 400 a zajišťuje umístění obvodové desky 430. Přední hrana 461 pouzdra 460 zahrnuje pružinovou svorku 462 pro uchycení víčka 480 při uzavření. Svorka 462 je uvolňována tlakem na přední
10 čelo 463, který je vyvíjen například špičkou prstu. Dno 464 pouzdra obsahuje komoru pro baterie (níže), a malý přístupový otvor 465 je vytvořen směrem k pravému konci pouzdra, skrz který může procházet bateriová přípojka 439 a může být
15 spojena s bateriemi 466. Baterie jsou uchyceny prostřednictvím víčka 467, které může být připevněno ke spodní straně 468 pouzdra.

Jednotlivé součásti pouzdra mohou být lisovány z nárazuvzdorných nebo podobných plastových materiálů, jako je polystyrén a polykarbonát, a mohou být drženy pohromadě
20 prostřednictvím "zaklapávacích" svěr nebo závitových šroubů nebo prostřednictvím jiného vhodného mechanismu.

Při pohledu na zvětšenou ilustraci čtecí hlavy, která je znázorněna na obr. 5, je patrné, že štěrbina 442 pro
25 přijetí testovacího zařízení má tvar s paralelními stranami, ale její šířka je zvětšena na jejím pravém konci 500 stupňovitě tak, aby se vytvořila dvě ramena nebo dva dorazy 501, 502, proti kterým může dosedat odpovídajícím způsobem zvětšená část testovacího zařízení. Toto uspořádání může
30 usnadnit účinné vložení testovacího zařízení do čtecí hlavy. Uvnitř užší pracovní části 503 štěrbin je na zadní stěně 505

štěrby namontováno tlačítko 504, které musí být úplně stlačeno pro aktivaci čtecího mechanismu. Správné vložení testovacího zařízení způsobí odpovídající stlačení tohoto tlačítka.

5 Na zadní stěně 505 štěrby je rovněž pevný polohovací čep 506, který musí zabírat s odpovídající dírou ve vloženém testovacím zařízení. Na zadní stěně 505 je také světlo přenášející panel 507, který zakrývá optické snímače. Tento panel 507 vystupuje směrem ven za rovinu zadní stěny
10 505 štěrby a má šikmé hrany 508, 509, které mu poskytují charakteristický profil. Na opačných koncích přední stěny 510 štěrby jsou dva čepy (nejsou patrné na obr. 5), které jsou předpjaté směrem ven do štěrby, například prostřednictvím pružinových mechanismů, které jsou obsaženy ve dvou krytech
15 511, 512.

Tyto stejné znaky jsou ilustrovány na obr. 6, který je pohledem přímo směrem do přijímací štěrby. Jsou patrné dva předpjaté čepy 600, 601. Účelem těchto čepů je zajistit předpínací prostředky pro tlačení vloženého testovacího
20 zařízení proti zadní stěně 505 štěrby. Pokud přijímatelná část testovacího zařízení má správně tvarované díry nebo prohlubně pro přijetí pevných polohovacích čepů 506 a vyčnívajícího panelu 507, může být toto testovací zařízení přitlačeno dostatečně blízko k zadní stěně štěrby, aby
25 stlačilo tlačítko 504 a iniciovalo proceduru optického snímání.

Obr. 7 v řezu znázorňuje část testovacího zařízení 700, které má profil, který může spolupracovat se znaky
30 patrnými na obr. 6. Toto testovací zařízení může být vloženo do štěrby širší centrální částí 701 dosedající proti

dorazům 501, 502. Přední konec 702 testovacího zařízení má mírně zkosenou hranu 703 pro usnadnění vkládání do štěrbině za čep 600. Testovací zařízení zahrnuje duté pouzdro obsahující porézní testovací pásek 704 umístěný mezi dvě vrstvy 705, 706 transparentního materiálu. Jak bylo popsáno dříve, je porézní testovací pásek 704 přesně umístěn uvnitř pouzdra testovacího zařízení prostřednictvím čepu 707, který prochází skrz díru 708 v pásku. Na vnějšku pouzdra testovacího zařízení v bodě odpovídajícím středu polohovacího čepu 707 je kónická díra 709, která může přijímat pevný polohovací čep 506 ve štěrbině čtecího zařízení. Každá strana pouzdra testovacího zařízení má otvor 710, 711, které, když je testovací zařízení správně vloženo do štěrbině, budou přiléhat ke světelnému zdroji 443 respektive ke snímačům 444 světla. Profily těchto dvou otvorů jsou různé a zejména profil otvoru 711 na stejné ploše testovacího zařízení jako je kónická díra 709 je tvarován tak, aby odpovídal profilu vyčnívajícího panelu 507 zakrývacího snímače světla. Tímto uspořádáním je zajištěno, že čtecí hlava bude pracovat pouze tehdy, když testovací zařízení bude vloženo ve správné orientaci pro zajištění, že tlačítko 504 je stlačeno.

Mělo by být zcela zřejmé, že celkové uspořádání a obecný tvar monitoru může podléhat velmi širokému rozsahu změn a variací vzhledem k tomu, které bylo popsáno výše, aniž

~~by tak byl překročen rozsah předkládaného vynálezu.~~ Obecný tvar a uspořádání čtecí hlavy je diktováno potřebou spolupracovat účinně se vzorkovacím zařízením, ale tento tvar může být různý ve velmi širokém rozsahu. Uspořádání a povaha uživatelí přístupných ovládacích prvků a prvků nebo znaků zobrazování informace může být podobně podrobeno širokému

rozsahu různých změn a je diktováno rovněž do velké míry také estetickými požadavky a hledisky.

Detailní elektronické obvody monitorovacího zařízení, schopného přizpůsobení, zapamatování a zpracování údajů o koncentraci analyzátu, stejně tak jako vytvoření výhodných elektronických znaků a prvků zařízení popsaného v tomto popisu a pokud je to vhodné také předpovídání budoucích událostí, jako je stav plodnosti v ovulačním cyklu, na základě těchto údajů, mohou být velmi snadno realizovány osobami znalými v elektronických oborech, jakmile budou tyto osoby seznámeny s faktory, které takové zařízení musí brát do úvahy, a s informací, kterou zařízení musí poskytovat uživateli. Pouze prostřednictvím příkladu jsou základní funkce, které mohou být u těchto zařízení vyžadovány, vyznačeny na obr. 8 připojených výkresů a jsou stručně popsány níže. Jednotlivé prvky nebo znaky mohou být zcela běžné a tradiční a osoby znalé v elektronických oborech zcela jistě nahlédnou, že pro dosažení cílů předkládaného vynálezu mohou být použity i jiné kombinace a uspořádání těchto znaků a prvků. Například tak mohou být namísto běžných mikroprocesorů na bázi "čipové" technologie použity tak zvané "pevně zapojené" systémy a "nervové sítě".

Jak je znázorněno na obr. 8, zahrnuje kombinace v podstatě čtecí jednotku 800 pro odvození informace z testovacího zařízení, jako je testovací pásek, přičemž tato testovací jednotka zahrnuje osvětlovací zařízení 801 a čtecí zařízení 802 (zde reprezentováno fotodiodou). Čtecí jednotka přivádí signál do převodní jednotky 803 pro převod optického signálu na formu použitelnou pro mikroprocesor 804. Jako případný dodatečný znak je možné upravit kalibrační systém

805 pro převod signálu, odvozeného ze čtecí jednotky, na údaje odpovídající, například, absolutním hodnotám koncentrace.

Pro regulaci měření v průběhu cyklu může být vyžadován časovač, jako jsou hodiny 806. Mikroprocesor 804 zpracovává, ukládá do paměti a interpretuje výsledky ve světle předchozích událostí, zejména zaznamenaných v přecházejících cyklech. Uživatelské rozhraní 807 bude obecně zahrnovat alespoň prostředky, jako je tlačítko, které uživatel může ovládat na začátku cyklu pro iniciaci činnosti zařízení jako celku. Přívod 808 energie by měl obsahovat prostředky, jako je zálohovací paměťový kondenzátor 809, pro zabránění ztrátám zaznamenaných údajů, když bude potřebné vyměnit baterie.

Informace může být předávána uživateli prostřednictvím, například, zobrazovací jednotky z tekutých krystalů nebo LED diod. Pokud je to žádoucí, může být informace o stavu plodnosti předávána uživateli prostřednictvím jednoduché vizuální indikace, například kombinací barev znázorňující, například, zelenou pro neplodné období a červenou pro plodné období. Zejména pokud je zařízení určeno primárně jako pomůcka pro antikoncepci, mělo by být "bezpečné proti selhání" prostřednictvím znázornění "plodného" signálu.

Jak bylo popsáno výše odpovídají znaky 803 a 806 společně znaku 435 (obr. 4b), a znak 804 odpovídá znaku 436 (obr. 4b).

Přenosová spektrofotometrie je široce používanou technikou pro kvalifikaci koncentrací barvených prvků v

čirých tekutých roztocích. Komerčně dosažitelné spektrofometry obecně vyžadují značné úpravy pro provádění měření na difuzních (rozptylových) roztocích. Přenosová spektrofotometrie není obecně považována za vhodný způsob měření vysoce difuzních vzorků, takže obecně je používána pouze tam, kde nemůže být použito alternativního přístupu. Pro účely předkládaného vynálezu nabízí přenosové měření pozitivní výhody oproti mnohem obvyklejšímu odrazovému přístupu používanému dříve na testovacích páscích.

Některé běžné páskové testy používají odrazové měření pro zjištění koncentrace obarveného prvku na povrchu pásku (například monitory glukózy). Chemie těchto testů probíhá ve velmi tenké vrstvě na povrchu testovacího pásku. Naproti tomu chemie výhodných páskových zařízení podle předkládaného vynálezu probíhá skrz celou tloušťku testovacího pásku. Vzhledem ke změnám v průtoku a v uložení reakčních činidel se podle hloubky může lišit koncentrace detekovatelné značky zachycené v reakční zóně.

Zakřivení, povrchové materiály, povrchová úprava a účinky rozpouštědel mohou měnit poměr zrcadlového a rozptylového odrazu. Pro odrazová měření je to rozptýleně odražené světlo od povrchu pásku, které nese signálovou informaci (to jest světlo reagovalo s detekovatelnou značkou), zatímco zrcadlově odražené světlo nebude obsahovat jakoukoliv informaci (protože toto světlo je složkou, která se pouze odrazila od povrchu bez reakce s detekovatelnou značkou v difuzním pásku). Bez využití relativně objemných a drahých systémů je obtížné zkonstruovat odrazový měřicí systém, který by minimalizoval zrcadlový odraz na míru

umožňující přenosové měření, zejména s použitím rozptýleného světla jako podle předkládaného vynálezu.

Odrazové systémy vyžadují použití testovacího povrchu, který musí být odstraněn z optické cesty pro účely kalibrace. Tento referenční povrch se nesmí poškodit, pokud má tvořit část optické sestavy. Navíc je vyžadován mechanický pohyb pro posunutí tohoto referenčního materiálu, když je třeba měřit testovací pásek. Tyto problémy jsou vyloučeny při použití předkládaného vynálezu.

Vedle specifických příkladů detekovatelných materiálů již uvedených výše, mohou být podle předkládaného vynálezu použity i další materiály, které blokuji nebo odrážejí elektromagnetické záření, spíše než aby toto záření absorbovaly, například "bílé" částice, jako jsou latexové částice v jejich přirozeném nezabarveném stavu. Alternativně může být značkou reagující složka nebo katalyzátor, který se účastní při vytváření materiálu absorbujícího záření nebo blokuujícího záření, například enzym, který reaguje se substrátem, aby vytvořil detekovatelný materiál, jako je zbarvený materiál, v detekční zóně.

Příklady

Aspekty předkládaného vynálezu jsou ilustrovány v následujících Příkladech. tyto Příklady se týkají monitorování lidského ovulačního cyklu.

Příklad 1

Tento příklad uvádí výhodný algoritmus na kterém může být založen způsob monitorování podle předkládaného vynálezu. Kit dodaný uživateli zahrnuje množství jednorázových testovacích zařízení moči pro dva analyzáty, která jsou

schopná testovat E3G v moči a LH v moči ve formě čitelné prostřednictvím monitoru, který je uživatelce rovněž dodán. Tato jednorázová testovací zařízení a monitor jsou typu, který byl popsán výše. Monitor může přijímat každé použité testovací zařízení a může stanovit koncentraci každého analyzátu v moči. Tato informace je uchována v monitoru a porovnává s podobným údajem získaným v následujících dnech stejného cyklu. Monitor má menstruační tlačítko, které uživatelka musí stlačit na počátku cyklu, a zobrazovací panel nebo podobně pro předání informace o stavu cyklu a pro indikaci uživatelce, kdy by mělo být provedeno testování.

a) Struktura pravidel algoritmu

Cíle jsou následující:

- i) identifikovat polohu LH vlny v jednotlivém cyklu;
- ii) identifikovat podstatné zvýšení koncentrace E3G v jednotlivém cyklu vzhledem ke koncentraci E3G ve dnu 6 tohoto cyklu;
- iii) výhodně zabezpečit proceduru zabezpečení proti selhání v případě selhání identifikace podstatného zvýšení koncentrace E3G v očekávaném intervalu.

Počet testů, dosažitelný v každém standardním měsíci je omezen na 8 a je použita testovací strategie, která bude maximalizovat šance dosažení bodů i) a ii).

b) Spouštěcí cykly

Za účelem vytvoření odpovídající počáteční databáze vyžaduje monitor v průběhu prvního cyklu použití šestnáct

testů. To je nutné pro vytvoření základních dat pro individuální uživatelku. Uživatelka stlačí menstruační tlačítko na monitoru ráno po začátku její menstruace. Tento den je zaznamenán monitorem jako den 1. Testování začíná ve dnu 8 a pokračuje denně až do dne 23. Toto testování má za cíl maximalizovat šanci na sledování LH vlny.

Na začátku cyklu 2 a na začátku všech následujících cyklů je stlačeno menstruační tlačítko, jak bylo uvedeno výše. Od cyklu 2 dále je pro každý cyklus použito pouze osm testů. Všechny osm testů musí být ze stejné dodávky a všechny musí být dokončeny. Ve všech cyklech od cyklu 2 dále začíná testování ve dnu 6. Pro cykly 2 a 3 jsou provedeny testy dva až osm v po sobě jdoucích dnech, přičemž se začíná v typickém dnu LH vlny minus čtyři dny. Od cyklu 4 dále, označovaném jako první standardní cyklus, jsou testy dva až osm prováděny v řadě od typického dne LH vlny minus pět dnů. Typický den LH vlny je definován jako průměrný den LH vlny pro až šest předcházejících měsíců.

c) Začátek plodné fáze

V cyklu 1 monitor deklaruje, že žena je plodná ode dne 6 dále, protože ještě nebyla shromážděna informace o vlastnostech cyklu. V cyklech 2 a 3 může monitor použít typickou polohu LH vlny z předcházejícího cyklu (cyklů) pro stanovení začátku plodné fáze. Protože je ale dosažitelné pouze omezené množství údajů o cyklu, bude monitor stále deklarovat, že žena je plodná v průběhu cyklů 2 a 3 ve dnu 6 nebo v typickém dnu LH vlny minus 7 dnů, podle toho co nastane později.

V následujících standardních cyklech je začátek plodné fáze nastaven prostřednictvím detekce podstatné změny v signálu o E3G vzhledem ke dnu 6. Pokud poměr aktuálního denního signálu pro E3G (S_1) ke signálu ve dnu 6 (S_6) dosáhne nastavené prahové hodnoty, jak bylo uvedeno výše, je žena označena jako plodná. Za účelem zabezpečení proti selhání deklaruje monitor, že žena je plodná ve dnu typické LH vlny minus dva dny, za nepřítomnosti dříve detekované podstatné změny v signálu E3G.

10

d) Konec plodné fáze

15

20

Při normální činnosti je konec plodné fáze definován jako čtvrté ráno po zjištění LH vlny. Za nepřítomnosti detekovatelné LH vlny v průběhu testovací sekvence systém deklaruje konec plodné fáze šest dnů po posledním testu. Zdůvodnění tohoto výpočtu je následující. Testovací režim je konstruován tak, aby pokryl typickou polohu LH vlny plus jeden den. Publikované studie údajů WHO ukazují, že proměnlivost polohy LH vlny u žen je 1,8 dne. Přidání pěti dnů k deklarované plodné periodě po již dokončeném testování umožňuje dvěma směrodatným odchylkám předpokládat, že LH vlna nastane uvnitř označené plodné periody.

25

Při nenormální činnosti (cyklus 1), kdy monitor nemá informaci o typické poloze LH vlny, pokud tento parametr není zjištěn, je konec plodné fáze deklarován na den 28 cyklu.

Příklad 2

30

Tento příklad používá reprezentativní profily E3G u dvou žen - o jedné je známo, že má nízké úrovně E3G v moči, a o druhé je známo, že má tyto úrovně relativně vysoké. V prvních dvou sloupcích každé tabulky je 30 dnů každého cyklu.

označeno ve smyslu jejich plodnosti. První fáze je označena jako neplodná a sestává z té části folikulární fáze, v průběhu které by nechráněný pohlavní styk neměl mít za následek početí, potom následuje přechodová fáze, v průběhu které nastávají změny, jež vedou na stav plodnosti, a v průběhu které je vyžadován pozitivní signál pro indikaci začátku plodné fáze. Tato plodná fáze je ta fáze před a po ovulaci, v průběhu které má nechráněný pohlavní styk s největší pravděpodobností za následek početí. Její trvání před ovulací je diktováno zcela účinnou dobou života spermií, která je zase ovlivněna faktory řízenými ženskými hormony, zejména v hleny. Post fertilní, luteální fáze je tou dobou, po které již vajíčko opustilo dělohu a početí v aktuálním cyklu již není možné.

Hodnoty E3G jsou uvedeny ve třetím sloupci. tyto hodnoty byly odvozeny prostřednictvím imunotestu na vzorcích ranní moči, odebíraných každý den. Tento imunotest byl běžný konkurenční test enzymu a značené protilátky. Tyto hodnoty jsou uvedeny v ng/ml.

Vlastní ovulace se předpokládá ve 24 hodinách následujících po LH vlně. Tyto hodnoty LH byly stanoveny prostřednictvím běžného sendvičového imunotestu s enzymem a značkou na stejných vzorcích, ale tyto hodnoty nejsou obsaženy v tabulce, protože důležitým výsledkem je datum ovulace.

Pro každý cyklus byl použit algoritmus podle Příkladu 1, přičemž spouštěcí okamžik pro E3G je:

$$[i]/[\text{den } 6] \geq 2$$

Žena A

Cyklus A 1: Počáteční cyklus

	Den	Testování	Fáze	Hodnota E3G	"Červený" stav	Vlastní ovulace
5	1		neploďná			
	2		"			
	3		"			
	4		"			
10	5		"			
	6		"		***	
	7		"		***	
	8	*	"	1,9	***	
15	9	*	"	3,1	***	
	10	*	"	5,4	***	
	11	*	"	2,1	***	
	12	*	"	5,3	***	
20	13	*	"	10,5	***	
	14	*	"	7,7	***	
	15	*	plodná	5,2	***	
	16	*	"	8,3	***	
25	17	*	"	6,8	***	
	18	*	"	4,3	***	LHS + 1
	19	*	"	4,9	***	
	20	*	"	5,3	***	
30	21	*	postfertilní	3,3		

	22	*	"	4,9
	23	*	"	6,2
	24		"	
5	25		"	
	26		"	
	27		"	
	28		"	
10	29		"	
	30		"	

LH vlna byla ve dnu 17, proto opakované testování začne ve dnu 13 v příštím cyklu.

15

Cyklus A: 2

Den	Testování	Fáze	Hodnota E3G	"Červený" stav	Vlastní ovulace
20		neploďná			
	1	"			
	2	"			
	3	"			
	4	"			
	5	"			
25	6	*	3,5		
	7	"			
	8	"			
	9	"		***	
30	10	"		***	

	11	"		***	
	12	"		***	
	13	*	"	8,9	***
5	14	*	plodná	14,6	***
	15	*	"	12,6	***
	16	*	"	8,8	***
	17	*	"	15,8	*** LHS + 1
10	18	*	"	6,9	***
	19	*	"	6,5	***
	20		postfertilní		
	21		"		
	22		"		
15	23		"		
	24		"		
	25		"		
	26		"		
20	27		"		
	28		"		
	29		"		
	30		"		

25

Průměr vlny LH (LHS) z cyklů A1 a A2 je den "16,5",
proto opakované testování začne ve dnu 12 v následujícím
cyklu.

30

Cyklus A 3

Den	Testování	Fáze	Hodnota E3G	"Červený" stav	Vlastní ovulace
-----	-----------	------	----------------	-------------------	--------------------

5	1	neploďná				
	2	"				
	3	"				
	4	"				
	5	"				
10	6	"	1,6			
	7	"				
	8	"		***		
	9	"		***		
	10	"		***		
15	11	"		***		
	12	*	plodná	6,2	***	
	13	*	"	23,6	***	
	14	*	"	21,3	***	
	15	*	"	8,3	***	LHS + 1
	16	*	"	4,5	***	
	17	*	"	3,7	***	
	18	*	postfertilní	3,4		
	19	"				
	20	"				
	21	"				
	22	"				
	30					

23 "

24 "

25 "

5 26 "

27 "

28 "

29 "

10 30 "

Průměr vlny LH z cyklů A1 až A3: den "15,7". Den započetí opakovaného testování pro první standardní cyklus: den 10. Den zabezpečení proti selhání u prvního standardního cyklu: den 13.

Cyklus A 4

První standardní cyklus

Den	Testování	Fáze	Hodnota E3G	"Červený" stav	Vlastní ovulace
20		neplodná			
	1	"			
	2	"			
	3	"			
25	4	"			
	5	"			
	6	"	3,1		
	7	"			
30	8	"			

	9	"			
	10	*	"	6,1	
	11	*	plodná	16,7	***
	12	*	"	10,8	***
5	13	*	"	22,8	***
	14	*	"	21,3	*** LHS + 1
	15	*	"	9,4	***
	16	*	"	12,2	***
10	17		postfertilní		
	18		"		
	19		"		
	20		"		
15	21		"		
	22		"		
	23		"		
	24		"		
20	25		"		
	26		"		
	27		"		
	28		"		
25	29		"		
	30		"		

Dny upozorňující na vlastní ovulaci: 3. Průměr vlny
LH z cyklů A1 až A4: den "15,3". Počáteční den opakovaného

testování pro příští cyklus: den 10. Den zabezpečení proti selhání pro následující cyklus: den 13.

Cyklus A 5

Druhý standardní cyklus

	Den	Testování	Fáze	Hodnota E3G	"Červený" stav	Vlastní ovulace
10	1		neploďná			
	2		"			
	3		"			
	4		"			
	5		"			
15	6	*	"	4,8		
	7		"			
	8		"			
	9		"			
	10	*	"	8,5		
20	11	*	"	7,3		
	12	*	"	6,3		
	13	*	"	7	***	
	14	*	plodná	11,8	***	
	15	*	"	19,3	***	
25	16	*	"	18,5	***	
	17		"		***	LHS + 1
	18		"		***	
30						

	4		"		
	5		"		
	6		"		***
5	7		"		***
	8	*	"	25,1	***
	9	*	"	10,1	***
	10	*	"	16,8	***
10	11	*	"	28,2	***
	12	*	"	24,6	***
	13	*	"	28,7	***
	14	*	"	27,7	***
	15	*	"	62,6	***
15	16	*	"	68,5	***
	17	*	plodná	61,9	***
	18	*	"	103,4	***
	19	*	"	85,4	***
20	20	*	"	45,4	*** LHS + 1
	21	*	"	14,9	***
	22	*	"	46,6	***
	23	*	postfertilní	49,3	
25	24		"		
	25		"		
	26		"		
	27		"		
30	28		"		

29

"

30

"

Vlna LH byla ve dnu 19, proto v příštím cyklu
započalo opakované testování ve dnu 15.

5

Cyklus B 2

Den	Testování	Fáze	Hodnota E3G	"Červený" stav	Vlastní ovulace
10		neploďná			
	1	"			
	2	"			
	3	"			
	4	"			
15	5	"			
	6	*	28,9		
	7	"			
	8	"			
20	9	"			
	10	"			
	11	"			
	12	"		***	
	13	"		***	
25	14	"		***	
	15	*	62	***	
	16	*	94,6	***	
30	17	*	58,4	***	LHS + 1

5	18	*	" "	42,4	***
	19	*	" "	60,4	***
	20	*	" "	56	***
	21	*	postfertilní	35	
	22		"		
10	23		"		
	24		"		
	25		"		
	26		"		
	27		"		
15	28	*	" "		
	29	*	" "		
	30	*	" "		

Průměr vlny LH (LHS) z cyklů B1 a B2 je den "17,5",
proto opakované testování započne ve dnu 13 v následujícím
cyklu.

Cyklus B 3

	Den	Testování	Fáze	Hodnota	"Červený"	Vlastní
				E3G	stav	ovulace
25	1		neplodná			
	2		"			
	3		"			
	4		"			
	5		"			
30						

	6	*	"	17,2	
	7		"		
	8		"		
	9		"		
5	10		"		***
	11		"		***
	12		"		***
	13	*	"	23,9	***
10	14	*	plodná	63,8	***
	15	*	"	22,1	***
	16	*	"	65,9	***
	17	*	"	41,2	*** LHS + 1
15	18	*	"	7,6	***
	19	*	"	35,3	***
	20		postfertilní		
	21		"		
20	22		"		
	23		"		
	24		"		
	25		"		
25	26		"		
	27		"		
	28		"		
	29		"		
30	30		"		

Průměr vlny LH z cyklů B1 až B3: den 17. Počáteční den opakovaného testování pro první standardní cyklus: den 12. Den zabezpečení pro první standardní cyklus: den 15.

5

Cyklus B4

První standardní cyklus

	Den	Testování	Fáze	Hodnota E3G	"Červený" stav	Vlastní ovulace
10	1		neploďná			
	2		"			
	3		"			
	4		"			
15	5		"			
	6	*	"	12,9		
	7		"			
	8		"			
20	9		"			
	10		"			
	11		"			
	12	*	"	38,3	***	
25	13	*	plodná	70,6	***	
	14	*	"	74,6	***	
	15	*	"	70,6	***	
	16	*	"	49,7	***	LHS + 1
30	17	*	"	23,5	***	

	18	*	"	29,8	***
	19		postfertilní		
	20		"		
5	21		"		
	22		"		
	23		"		
	24		"		
10	25		"		
	26		"		
	27		"		
	28		"		
	29		"		
15	30		"		

Dny upozorňující na vlastní ovulaci: 4. Průměr vlny LH z cyklů B1 až B4: den "16,5". Počáteční den opakovaného testování pro příští cyklus: den 11. Den zabezpečení proti selhání pro následující cyklus: den 14.

Cyklus B 5

Druhý standardní cyklus

25	Den	Testování	Fáze	Hodnota E3G	"Červený" stav	Vlastní ovulace
	1		neploďná			
	2		"			
30	3		"			

	4	"			
	5	"			
	6	*	"	7,2	
5	7	"			
	8	"			
	9	"			
	10	"			
10	11	*	"	14,1	
	12	*	"	17,4	
	13	*	"	41,3	***
	14	*	"	57,5	***
15	15	*	plodná	42	***
	16	*	"	55,4	***
	17	*	"	60,1	***
	18		"		*** LHS + 1
	19		"		***
20	20		"		***
	21		postfertilní		
	22		"		
	23		"		
25	24		"		
	25		"		
	26		"		
	27		"		
30	28		"		

29

"

30

"

Dny upozorňující na vlastní ovulaci: 5. Vlna LH byla zjištěna v poslední den testování. Průměr vlny LH z cyklů B1 až B5: den "16,6". Počáteční den opakovaného testování pro příští cyklus: den 11. Den zabezpečení proti selhání pro následující cyklus: den 14.

Příklad 3

Tento příklad ilustruje velmi jednoduchý, ale velmi výhodný systém lidské antikoncepce, vyžadující na cyklus pouze omezený počet testů analyzátu E3G v moči.

Uživatelka je opatřena "měsíční" dávkou 8 shodných jednorázových testovacích zařízení, z nichž každé zahrnuje testovací pásek, na který může být nanesen vzorek moči, přičemž tento pásek obsahuje všechna potřebná reakční činidla pro umožnění vytvoření signálu indikujícího koncentraci E3G, například prostřednictvím konkurenční reakce zahrnující značené specifické vazební reakční činidlo, které se bude vázat v detekční zóně na pásku v množství přímo nebo nepřímo úměrném koncentraci E3G ve vzorku moči. Je rovněž dodáno optické elektronické čtecí zařízení, které mění signálovou informaci z použitého pásku na numerický údaj a zpracovává tento údaj, aby uživatelce poskytlo odpovídající informaci týkající se stavu cyklu.

Počáteční test moči je proveden ve dnu 6 aktuálního cyklu (den 1 je dnem ve kterém jsou poprvé zjištěny měsíčky) pro vytvoření základní reference pro koncentraci E3G v tomto cyklu.

Druhý test moči je proveden ve dnu 9 a každý den potom dokud buď nejsou využity všechny testy nebo dokud není poskytnuta indikace zvýšené koncentrace E3G indikující bezprostřední ovulaci. Dostatečně zvýšená koncentrace E3g je
 5 deklarována, když poměr referenční koncentrace [r] k testové koncentraci [i] poprvé splní kritérium:

$$[i]/[r] \geq 2$$

v případě přímé úměrnosti mezi testovým signálem a koncentrací E3g, nebo kritérium:
 10

$$[r]/[i] \geq 2$$

v případě nepřímé úměrnosti.

Nechráněný pohlavní styk je vyloučen ve dnu, ve kterém je zjištěna dostatečně zvýšená koncentrace E3G, a ve
 15 12 bezprostředně následujících dnech potom.

Pokud dostatečně zvýšená koncentrace E3G není zjištěna před využitím všech testů, je nechráněný pohlavní styk vyloučen v 15 bezprostředně následujících dnech po
 20 posledním testovém dnu.

Jako další zabezpečení proti selhání je špička E3G použita (jak je definována výše v tomto popisu) pro zaznamenání dne ovulace v předcházejících cyklech a uživatelka je upozorněna, že plodná fáze již začala, když
 25 dostatečně zvýšená koncentrace E3G není zjištěna před 3 dny před průměrným dnem ovulace.

Početí nenastane.

Tento příklad zajišťuje uživateli tu výhodu, že je
 30 za měsíc vyžadováno pouze několik testů. Je tak rovněž

dosaženo výrobního zjednodušení, protože je testován pouze jeden analyzát (E3G).

Pokud je to žádoucí, může být tento test vytvořen jako mnohem vyspělejší, například umožněním, aby událost ovulace byla detekována zahrnutím údaje o koncentraci LH v moči, a shromažďováním údajů z předcházejících cyklů, takže abstinenční perioda může být dále redukována bez zvýšení pravděpodobnosti početí, jak bylo obecně popsáno v tomto popisu.

Příklad 5

Tento příklad ilustruje kombinovaný test LH/E3G podle předkládaného vynálezu. Fyzikální konstrukce a způsoby výroby odpovídajících zařízení, včetně výroby reakčních činidel, jsou detailně popsány v patentových spisech EP-A-291194 a EP-A383619.

E3G latex je připraven kombinováním modře zbarvených latexových částic (střední průměr 380 nm) s anti E3G monoklonální protilátkou s afinitou v roztoku přibližně 10^{10} litrů/mol. Protilátka (170 µg/ml) je smíchána s latexovými částicemi (0,5 % tuhých látek) v pufru boritanu sodného s pH 8,5. Prázdná vazební místa na latexovém povrchu jsou blokována prostřednictvím BSA [25 mg/ml]. Latex je potom propláchnut, aby se odstranily neadsorbované materiály.

LH latex je připraven z anti - beta LH monoklonální protilátky adsorbované na modře zbarvených latexových částicích (380 nm). Tento proces je proveden a poměrem protilátky ku latexu 100 µg/ml na 0,5 % tuhých látek v pufru boritanu sodného (pH 8,5) obsahujícího etanol (poměr 6 ku 1 objemových dílů), načež následuje blokování volných vazebních

míst prostřednictvím BSA (25 mg/ml). Latex je potom propláchnut, aby byly odstraněny neadsorbované materiály.

Vrstva (silná 1,4 mm) z komerčně dosažitelného, makroporézního polyetylenu předem upraveného detergenty, který má velikost pórů přibližně 100 mikronů, je nasycena vodnou suspenzí stejných množství obou souborů latexových částic, připravených podle shora uvedeného popisu, na celkově 0,008 % tuhých látek, v pufru Tris s pH 8,5, který obsahuje 3 % BSA a 1 % cukru. Tato vrstva je sublimačně sušena a řezána na části každá o velikosti 6 x 12 mm, které mají jímavost tekutin přibližně 50 µL.

Páskem tuhé fáze, na kterém jsou detekovány úrovně E3G a LH, je nitrocelulóza s jmenovitou velikostí pórů 8 µm, vázaná k polyesterové podkladové vrstvě. Komplex proteinu E3G (ovalbumin) a anti - alfa LH protilátka jsou odděleně rozmístěny na nitrocelulóze v různých místech (viz obr. 9) s použitím roztoků obsahujících 2 mg/ml odpovídajícího reakčního činidla ve fosfátovém pufru o pH 7,4. Nitrocelulóza je blokována prostřednictvím PVA předtím, než je řezána na pásy.

Shora uvedená reakční činidla jsou použita v sestavě testovacího zařízení, jak je obecně popsáno a ilustrováno v provedení 1 v patentovém spisu EP-A-383619.

Obr. 9a a obr. 9b připojených výkresů ilustrují toto zařízení.

Obr. 9a znázorňuje pásek 901 nitrocelulózy na podkladovém pásku 902 z transparentního polyesteru. Tento pásek má délku 40 mm a šířku 6 mm. Linka 903 reprezentuje polohu anti - LH protilátky nehybné na pásku. Tato linka je

přibližně 1 mm široká a je centrována 10 mm od levého konce 904 pásku 901. Linka 905 reprezentuje polohu nehybného E3G. To je rovněž linka přibližně 1 mm široká a je centrována 16 mm od levého konce pásku.

5. Obr. 9b znázorňuje sestavené zařízení v řezu. Toto zařízení zahrnuje pouzdro mající horní polovinu 910 a spodní polovinu 911. Savý prvek 912 (knot) pro přijetí vzorku vyčnívá z levého konce 913 pouzdra. Makroporézní těleso 914 obsahující dva soubory latexových částic je v kontaktu s knotem uvnitř pouzdra. Toto pouzdro rovněž obsahuje pásek 901 a jemu přidružený podkladový pásek 902. Vzorek tekutiny nanesený na sběrač 912 vzorku může postupovat přes makroporézní těleso 914 do pásku 901. Pouzdro má horní otvor 915 nebo okénko a spodní otvor 916 nebo okénko, která jsou upravena vzájemně proti sobě, takže světlo může procházet skrz pouzdro z jedné strany na druhou a přitom bude procházet částí pásku. Tato část obsahuje obě reakční linky 903 a 905. Koncová část 917 pouzdra může obsahovat výlevku nebo vysoušecí prostředek, pokud je to žádoucí.

20. Pokud je vzorek moči, obsahující LH a E3G nanesen na toto zařízení, prochází přes těleso 914 a do pásku. Dva soubory latexových částic jsou uvolňovány a nesený se vzorkem. V závislosti na koncentracích uvedených dvou analyzátů ve vzorku se latexové částice nesoucí odpovídající vazební materiál budou vázat k pásku v linkách 903 a 905. Stupeň vázání částic v těchto linkách může být stanoven světelným přenosem skrz pásek, jak je detailně popsáno výše.

Vzájemná poloha linek E3G a LH, jak je popsáno výše, podstatně zlepšuje účinnost se kterou odpovídající koncentrace těchto dvou analyzátů mohou být stanoveny.

Zastupuje :

5

10

15

20

25

30

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Testovací kit pro použití při monitorování ovulačního
cyklu samičky savce, zejména ženy, zahrnující množství
jednorázových testovacích zařízení pro vzorkování a testování
5 tělní tekutiny, jako je moč, a zajištění čitelných signálů
indikujících koncentrace alespoň dvou analyzátů v tělní
tekutině, přičemž tyto analyzáty mají podstatný vztah ke
stavu plodnosti v ovulačním cyklu, společně s elektronickým
čtecím zařízením/monitorem pro čtení a interpretaci uvedených
10 čitelných signálů pro poskytnutí uživateli indikaci o stavu
plodnosti, v y z n a č u j í c í s e t í m , ž e

a) uvedené čitelné signály jsou čteny, zatímco jedno
z testovacích zařízení je umístěno uvnitř přijímacích
prostředků uvedeného čtecího zařízení/monitoru;

15 b) uvedené čitelné signály jsou vytvářeny
prostřednictvím koncentrování prvního detekovatelného
materiálu, výhodně značkovaného reakčního činidla, v první
detekční zóně porézního nosiče, jako je testovací pásek,
uvnitř testovacího zařízení a prostřednictvím koncentrování
20 druhého detekovatelného materiálu, výhodně značkovaného
reakčního činidla, v druhé detekční zóně uvedeného porézního
nosiče, zatímco vzorkovaná tělní tekutina proudí, například
prostřednictvím vztlínání, skrz tento porézní nosič, uvedená
druhá detekční zóna je výhodně umístěna směrem za první
25 detekční zónou vzhledem k přijímací části testovacího
zařízení, které je v kontaktu s tělní tekutinou, aby
iniciovalo test;

c) signál v první detekční zóně je indikací koncentrace v tělní tekutině prvního analyzátu, výhodně luteinizačního hormonu (LH), který vykazuje zřetelnou změnu koncentrace těsně spojenou s časem vlastní ovulace; a

5 d) signál v druhé detekční zóně je indikací koncentrace v tělní tekutině druhého analyzátu, výhodně estradiolu nebo jeho metabolitu, jako je estron-3-glukoronid (E3G), který vykazuje zřetelnou změnu koncentrace spojenou se začátkem plodné fáze daného ovulačního cyklu.

10 2. Testovací kit podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , že druhá detekční zóna je umístěna za první detekční zónou.

15 3. Testovací kit podle nároku 1 nebo 2, v y z n a č u j í c í s e t í m , že první detekční zóna obsahuje nehybnou anti - LH protilátku a druhá detekční zóna obsahuje nehybný E3G nebo nehybný analog E3G.

20 4. Testovací kit podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, v y z n a č u j í c í s e t í m , že čitelné signály jsou čteny prostřednictvím optického přenosu skrz testovací zařízení.

5. Testovací kit podle nároku 4, v y z n a č u j í c í s e t í m , že čtecí zařízení/monitor zahrnuje:

25 a) zdroj rozptýleného světla o vlnové délce, která je silně pohlcována uvedenými detekovatelnými materiály;

b) snímací prostředky pro snímání dopadajícího světla z uvedeného zdroje;

30 c) prostředky pro přijetí a držení testovacího zařízení s každou z detekčních zón ve světelné cestě mezi zdrojem a snímacími prostředky; a

d) elektronické prostředky spojené se snímacími prostředky, přičemž tyto elektronické prostředky jsou naprogramovány, aby odvodily ze snímaného dopadajícího světla míru rozsahu, do kterého byl detekovatelný materiál koncentrován v každé z detekčních zón.

6. Testovací kit podle nároku 5, v y z n a č u j í c í s e t í m , že rozptýlené světlo je pulsní a elektronické prostředky jsou naprogramovány pro řízení snímacích prostředků, aby snímací prostředky pouze snímaly dopadající světlo ve fázi s tímto pulsním světlem, přičemž pulsní frekvence tohoto světla je výhodně alespoň přibližně 1 kHz.

7. Testovací kit podle nároku 5, v y z n a č u j í c í s e t í m , že přijímací prostředky zahrnují spojovací prostředky uveditelné do záběru s odpovídajícími spojovacími prostředky na testovacím zařízení pro zajištění, že po přijetí testovacího zařízení čtecím zařízením/monitorem jsou detekční zóny umístěny a udržovány v předem stanoveném prostorovém vztahu vzhledem ke snímacím prostředkům.

8. Testovací kit podle nároku 7, v y z n a č u j í c í s e t í m , že přijímací prostředky zahrnují ovládací prostředky spouštěné prostřednictvím přijetí testovacího zařízení, přičemž tyto ovládací prostředky způsobují iniciaci čtení detekčních zón.

9. Testovací kit podle nároku 7 nebo 8, v y z n a č u j í c í s e t í m , že testovací zařízení má pouzdro nebo kryt, které zahrnuje vnitřní středící prostředky, které zabírají s odpovídajícími středícími prostředky sdruženými s porézním nosným prostředkem, takže detekční zóny jsou uvnitř pouzdra nebo krytu testovacího

zařízení umístěny v předem stanoveném prostorovém vztahu vzhledem ke středícím prostředkům na pouzdru nebo krytu testovacího zařízení.

5 10. Testovací kit podle nároku 8, v y z n a č u j í c í s e t í m , že vnitřní středící prostředky zahrnují čep nebo podobně, uveditelný do záběru s otvorem nebo drážkou v porézním nosném prostředku, přičemž detekční zóny jsou v předem stanovených místech na porézním nosném prostředku vzhledem k uvedenému otvoru nebo drážce.

10 11. Testovací kit podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, v y z n a č u j í c í s e t í m , že čitelné signály jsou vytvářeny prostřednictvím koncentrace částicových značených reakčních činidel v odpovídajících detekčních zónách.

15 12. Testovací kit podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsahuje dostatečné množství jednorázových testovacích zařízení pro umožnění uživatelce provést testování na denním základě pro
20 maximálně 16 dnů v kterémkoliv jednom ovulačním cyklu.

25 13. Náhradní balení obsahující množství, výhodně ne více než 12 a v optimálním případě 7 až 10, jednorázových testovacích zařízení pro doplnění testovacího kitu podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, výhodně s instrukcí pro uživatele, aby použil všechny z těchto testovacích
zařízení v průběhu trvání jednoho ovulačního cyklu.

14. Způsob monitorování lidského ovulačního cyklu s použitím testovacího kitu podle kteréhokoliv z nároků 1 až 12, v y z n a č u j í c í s e t í m , že testování se provádí alespoň jednou v průběhu intervalu dnů 1 až 7 včetně, vypočítaného od začátku měsíčků, pro stanovení hodnoty nebo signálu referenční koncentrace pro druhý analyzát v současném cyklu, uvedené testování se dočasně pozastaví, a potom se testování provádí alespoň jednou (výhodně denně) v průběhu periody dnů, která začíná pořadovým dnem 5, výhodně pořadovým dnem 6, před průměrným pořadovým dnem, ve kterém nastala vlastní ovulace v jednom nebo více předcházejících ovulačních cyklech u stejného individuálního subjektu, druhé hodnoty nebo signály koncentrace analyzátu, získané v průběhu uvedené periody dnů, se porovnají s referenční hodnotou nebo signálem koncentrace pro stanovení, zda vzhledem k předcházejícímu testu probíhá nebo proběhla změna koncentrace indikující bezprostřední ovulaci.

15. Způsob podle nároku 14, v y z n a č u j í c í s e t í m , že referenční hodnota koncentrace je stanovena z testu (testů) provedeného v průběhu intervalu dnů 4 až 7 včetně.

16. Způsob podle nároku 15, v y z n a č u j í c í s e t í m , že referenční hodnota koncentrace je stanovena z testu (testů) provedeného ve dnu 5 a/nebo ve dnu 6, výhodně pouze jedním testem provedeným ve dnu 6.

17. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 14 až 16, v y z n a č u j í c í s e t í m , že tělní tekutinou je moč a druhým analyzátem je estradiol nebo jeho metabolit, jako je E3G.

18. Způsob podle nároku 17, v y z n a č u j í c í s e t í m , že podstatná změna mezi hodnotou referenční koncentrace [r] a testovací hodnotou [i], indikující bezprostřední ovulaci, je dána vztahem:

$$1,5 \leq [i]/[r] \leq 2,5$$

v případě přímé úměrnosti mezi testovacím signálem a koncentrací analyzátu, nebo inverzním vztahem v případě nepřímé úměrnosti mezi testovacím signálem a koncentrací analyzátu.

19. Způsob podle nároku 18, v y z n a č u j í c í s e t í m , že analyzátem je E3G a podstatná změna v koncentraci E3G [i], indikující bezprostřední ovulaci, je dána vztahem:

$$[i]/[r] \geq 2$$

v případě přímé úměrnosti mezi testovacím signálem a koncentrací E3G, nebo inverzním vztahem v případě nepřímé úměrnosti mezi testovacím signálem a koncentrací E3G.

20. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 14 až 19, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se stanoví koncentrace LH v tělní tekutině pro identifikaci dne vlastní ovulace v současném cyklu.

21. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 14 až 20, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se odvodí průměrný den ovulace z údaje shromážděného v průběhu alespoň 3, výhodně alespoň 5, po sobě jdoucích předcházejících cyklů.

22. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 14 až 21, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se odvodí průměrný den ovulace z údaje získaného v průběhu alespoň bezprostředně předcházejícího cyklu.

23. Způsob podle nároku 22, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se odvodí průměrný den ovulace z údaje získaného z klouzavé referenční báze sestávající z pevného počtu po sobě jdoucích cyklů bezprostředně předcházejících současnému cyklu.

24. Způsob podle nároku 23, v y z n a č u j í c í s e t í m , že klouzavá referenční báze sestává z bezprostředně předcházejících 3 až 12 cyklů, výhodně z bezprostředně předcházejících 5 nebo 6 cyklů.

25. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 14 až 24, v y z n a č u j í c í s e t í m , že konec plodné fáze se deklaruje ze znalosti vlny LH v současném cyklu.

26. Způsob podle nároku 25, v y z n a č u j í c í s e t í m , že konec plodné fáze se považuje za nastalý čtvrtý den následující po zjištění vlny LH.

27. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 14 až 26, v y z n a č u j í c í s e t í m , že začátek plodné fáze se deklaruje, pokud očekávaná podstatná změna v druhé koncentraci analyzátu nebyla zjištěna před alespoň 2, výhodně alespoň 3, dny před pořadovým dnem v současném cyklu, na který je předpovídána vlastní ovulace na základě znalosti odvozené z měření první koncentrace analyzátu, získaných z jednoho nebo více předcházejících cyklů.

28. Testovací zařízení pro použití při stanovení dvou nebo více analyzátů v jednom vzorku tekutiny, přičemž alespoň jeden z těchto analyzátů je zjištěn prostřednictvím reakce vázání v sendvičovém formátu, která zahrnuje dvě vazební reakční činidla specifická pro různé epitopy v

uvedeném analyzátu a alespoň jeden další z uvedených analyzátů je hapten (a tudíž není zjištělný snadno prostřednictvím reakce vázání v sendvičovém formátu), v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje,
 5 výhodně uvnitř ochranného pouzdra:

a) pásek z porézního materiálu, podél kterého může migrovat vzorek tekutiny;

b) dvě nebo více prostorově oddělené detekční zóny (alespoň jednu na analyzát, který má být zjištěn) na
 10 uvedeném pásku umístěné za místem, kde se přivádí vzorek tekutiny k tomuto pásku, přičemž z těchto zón:

i) alespoň jedna zóna obsahuje nehybné zachycovací činidlo, které je specifickým vazebním činidlem pro uvedený první analyzát, nebo specifické vazební činidlo,
 15 které může zachytit soubor sendvičového formátu včetně uvedeného prvního analyzátu, a

ii) alespoň jedna další zóna obsahuje nehybné zachycovací činidlo, kterým je buď hapten nebo jeho analog;

c) jeden nebo více souborů částic, umístěných
 20 před uvedenými detekčními zónami a schopných migrovat skrz pásek se vzorkem tekutiny, přičemž z těchto souborů:

i) alespoň jeden soubor nese vazební činidlo specifické pro uvedený první analyzát, nebo specifické pro další specifické vazební činidlo rovněž přítomné v zařízení,
 25 které může participovat v reakci v sendvičovém formátu s uvedeným prvním analyzátem, a

ii) alespoň jeden další soubor nese vazební činidlo pro uvedený hapten; přičemž

přítomnost uvedeného prvního analyzátu ve vzorku
 30 tekutiny vede na vázání částic v uvedené alespoň jedné

detekční zóně v množství přímo úměrném vzhledem ke koncentraci tohoto prvního analyzátu v uvedeném vzorku tekutiny, a přítomnost uvedeného haptenu ve vzorku tekutiny vede na snížení vázání částic uvedeného alespoň jednoho dalšího souboru v uvedené další detekční zóně v množství přímo úměrném vzhledem ke koncentraci tohoto haptenu v uvedeném vzorku tekutiny, detekční zóna obsahující nehybný haptenu nebo nehybný analog haptenu je výhodně umístěna za detekční zónou sdruženou s prvním analyzátem.

29. Zařízení podle nároku 28, v y z n a č u j í c í s e t í m , že druhá detekční zóna je umístěna za první detekční zónou.

30. Zařízení podle nároku 28 nebo 29, v y z n a č u j í c í s e t í m , že prvním analyzátem je luteinizační hormon (LH).

31. Zařízení podle kteréhokoliv z nároků 28 až 30, v y z n a č u j í c í s e t í m , že druhým analyzátem je estradiol nebo jeho metabolit, jako je E3G.

32. Zařízení podle kteréhokoliv z nároků 28 až 31, v y z n a č u j í c í s e t í m , že vzorkem tekutiny je moč.

33. Zařízení podle kteréhokoliv z nároků 28 až 32, v y z n a č u j í c í s e t í m , že částicemi jsou latexové částice, výhodně obarvené.

34. Zařízení podle kteréhokoliv z nároků 28 až 33, v y z n a č u j í c í s e t í m , že afinita specifického vazebního činidla proti haptenu je alespoň přibližně 10^9 , výhodně přibližně 10^{10} , molů/litr.

35. Zařízení podle kteréhokoliv z nároků 28 až 34, v y z n a č u j í c í s e t í m , že materiál pásku je alespoň průsvitný skrz svojí tloušťku.

5 36. Způsob stanovení přítomnosti a/nebo koncentrace dvou nebo více analyzátů v jednom vzorku tekutiny, přičemž alespoň jeden z těchto analyzátů je zjistitelný prostřednictvím reakce vázání v sendvičovém formátu, která zahrnuje dvě vazební reakční činidla specifická pro různé epitopy v uvedeném analyzátu a alespoň jeden další z uvedených
10 analyzátů je haptén (a tudíž není zjistitelný snadno prostřednictvím reakce vázání v sendvičovém formátu), v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje kroky:

15 a) vytvoření zařízení zahrnujícího pásek z porézního materiálu, podél kterého může migrovat vzorek tekutiny, tento pásek má dvě nebo více prostorově oddělené detekční zóny (alespoň jednu na analyzát, který má být zjištěn) umístěné za místem, kde se přivádí vzorek tekutiny k tomuto pásku, přičemž z těchto zón:

20 i) alespoň jedna zóna obsahuje nehybné zachycovací činidlo, které je specifickým vazebním činidlem pro uvedený první analyzát, nebo specifické vazební činidlo, které může zachytit soubor sendvičového formátu včetně uvedeného prvního analyzátu, a

25 ii) alespoň jedna další zóna obsahuje nehybné zachycovací činidlo, kterým je buď haptén nebo jeho analog;

b) vytvoření jednoho nebo více souborů částic schopných migrovat skrz pásek se vzorkem tekutiny, přičemž z těchto souborů:

30 i) alespoň jeden soubor nese vazební činidlo

specifické pro uvedený první analyzát, nebo specifické pro další specifické vazební činidlo, které může participovat v reakci v sendvičovém formátu s uvedeným prvním analyzátem, a

ii) alespoň jeden další soubor nese vazební činidlo pro uvedený haptén; a

c) způsobení, že uvedené soubory částic budou suspendovány v uvedeném vzorku tekutiny a budou migrovat s tímto vzorkem tekutiny skrz uvedený pásek; přítomnost uvedeného prvního analyzátu ve vzorku tekutiny vede na vázání částic v uvedené alespoň jedné detekční zóně v množství přímo úměrném vzhledem ke koncentraci tohoto prvního analyzátu v uvedeném vzorku tekutiny, a přítomnost uvedeného haptenu ve vzorku tekutiny vede na snížení vázání částic uvedeného alespoň jednoho dalšího souboru v uvedené další detekční zóně v množství přímo úměrném vzhledem ke koncentraci tohoto haptenu v uvedeném vzorku tekutiny, detekční zóna obsahující nehybný haptén nebo nehybný analog haptenu je výhodně umístěna za detekční zónou sdruženou s prvním analyzátem.

37. Způsob podle nároku 36, v y z n a č u j í c í s e t í m , že druhá detekční zóna je umístěna za první detekční zónou.

38. Způsob podle nároku 37, v y z n a č u j í c í s e t í m , že míra vázání částic v každé z detekčních zón se stanoví prostřednictvím měření útlumu elektromagnetického záření, jako je světlo, při přenosu skrz tloušťku uvedeného pásku.

39. Elektronické zařízení pro monitorování stavu plodnosti lidského ovulačního cyklu a pro zajištění uživateli tohoto zařízení indikace o stavu plodnosti, v y z n a č u j í c í

s e t í m , že zahrnuje:

a) čtecí prostředky pro čtení testovacího zařízení podle nároku 28;

5 b) prostředky zpracování informace pro stanovení, z uvedeného čtení testovacího zařízení, hodnot koncentrací uvedených alespoň dvou analyzátů ve vzorku tekutiny;

c) prostředky zpracování informace a paměťové prostředky pro odvození, ze stanovených hodnot koncentrací a z dříve stanovených hodnot koncentrací, indikace aktuálního stavu plodnosti lidského subjektu, který je testován; a

10 d) zobrazovací prostředky pro sdělení aktuálního stavu plodnosti uživateli tohoto elektronického zařízení.

40. Elektronické zařízení podle nároku 39, v y z n a č u j í c í s e t í m , že navíc zahrnuje 15 přijímací prostředky pro přijetí testovacího zařízení, přičemž čtecí prostředky jsou umístěny uvnitř těchto přijímacích prostředků.

41. Elektronické zařízení podle nároku 40, v y z n a č u j í c í s e t í m , že čtení je dosahováno 20 prostřednictvím optického přenosu skrz testovací zařízení, které je přijaté v přijímacích prostředcích.

42. Elektronické zařízení podle kteréhokoliv z nároků 39 až 41, v y z n a č u j í c í s e t í m , že zobrazovací 25 prostředky zahrnují jeden nebo více světelných zdrojů, které zajišťují barevný signál pro uživatele, přičemž změna stavu plodnosti je indikována změnou barvy.

Zastupuje :

Seznam vztahových znaků

	100	vrstva
	101	testovací pásy
	A-A	centrální osa
5	B-B	příčné osy
	102	linka, detekční zóna
	107	linka
	103	linka, detekční zóna
	106	linka
10	108	pero
	109	pružná trubička
	104	linka, oblast
	105	linka
	110	podélný okraj
15	111	podélný okraj
	112	malé díry, polohovací díry
	113	označený pásek
	114	tyč
	115	čepy
20	200	horní polovina
	201	spodní polovina
	202	savý přijímací prvek
	203	jeden konec pouzdra
	204	konec testovacího pásu, přesahující část pásu
25	205	okénko
	206	vnější povrch
	207	kruhová prohlubeň
	208	čep nebo kolík
	209	okénko
30	210	prohlubeň

	211	přesahující část svého prvku
	300	testovací zařízení
	301	štěrbina
	302	monitor
5	303	světelný zdroj
	304	čtecí hlava
	305	výčnělek
	306	LED diody
	307	rozptylovač
10	308	druhý rozptylovač
	309	deska
	310	otvor
	311	otvor
	312	otvor
15	313	otvor
	314	otvor
	315	štěrbina
	316	štěrbina
	317	štěrbina
20	318	štěrbina
	319	štěrbina
	320	přepážková deska
	321	snímače světla
	322	přední čelo
25	400	horní polovina, pouzdro
	401	vybrání
	402	zadní čelo
	403	otvor
	404	okénko
30	405	okénko

	406	okénko
	407	dlouhá štěrba
	408	víčko
	409	závěsný bod
5	410	závěsný bod
	411	horní povrch
	413	přední hrana
	412	otvor
	414	otvor
10	430	obvodová deska
	431	tlačítko
	432	zobrazovací panel
	433	světlovod
	434	světlovod
15	436	čip, paměťový obvod
	435	čip, paměťový obvod
	437	světlovody
	438	přední hrana
	439	bateriová přípojka
20	440	spínač
	441	čtecí hlava
	442	centrální přijímací štěrba
	443	osvětlovací zařízení, světelný zdroj
	444	optický snímací systém, snímače světla
25	460	spodní polovina, pouzdro
	461	přední hrana
	462	pružinová svorka
	463	přední čelo
	464	dno
30	465	malý přístupový otvor

	466	baterie
	467	kryt
	468	spodní strana
	500	pravý konec
5	501	doraz
	502	doraz
	503	užší pracovní část
	504	tlačítko
	505	zadní stěna
10	506	pevný polohovací čep
	507	světlo přenášející panel, vyčnívající panel
	508	šikmá hrana
	509	šikmá hrana
	510	přední stěna
15	511	kryt
	512	kryt
	600	předpjatý čep
	601	předpjatý čep
	700	testovací zařízení
20	701	širší centrální část
	702	přední konec
	703	zkosená hrana
	704	porézní testovací pásek
	705	vrstva transparentního materiálu
25	706	vrstva transparentního materiálu
	707	čep
	708	díra
	709	kónická díra
	710	otvor
30	711	otvor

	800	čtecí jednotka
	801	osvětlovací zařízení
	802	čtecí zařízení
	803	převodní jednotka
5	804	mikroprocesor
	805	kalibrační systém
	806	hodiny
	807	uživatelské rozhraní
	808	přívod energie
10	809	zálohovací paměťový kondenzátor
	901	pásek
	902	podkladový pásek
	903	linka
	904	levý konec
15	905	linka
	910	horní polovina
	911	spodní polovina
	912	savý prvek, sběrač vzorku
	913	levý konec
20	914	makroporézní těleso
	916	spodní otvor
	917	koncová část
	915	horní otvor

25

30

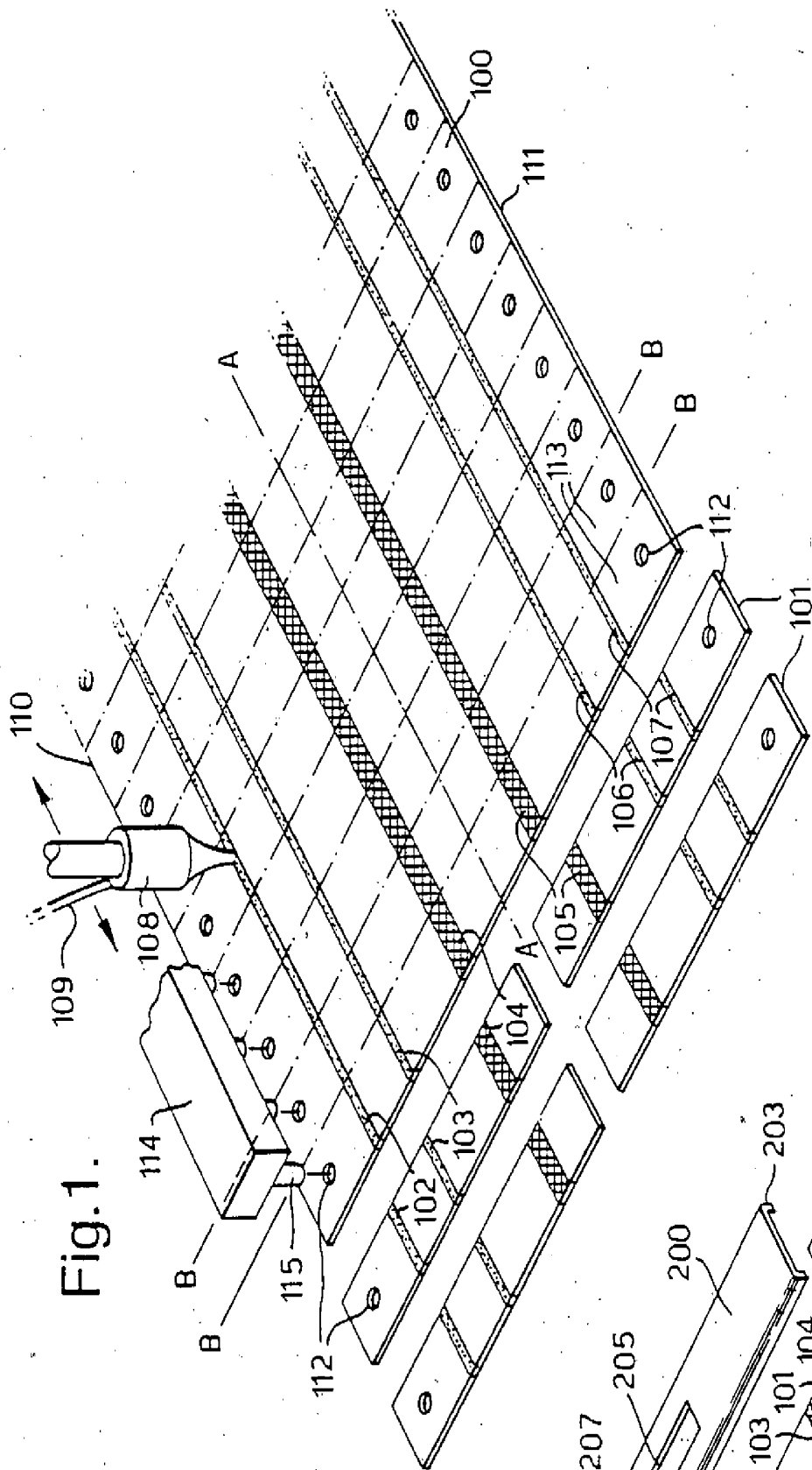


Fig. 1.

Fig. 2.

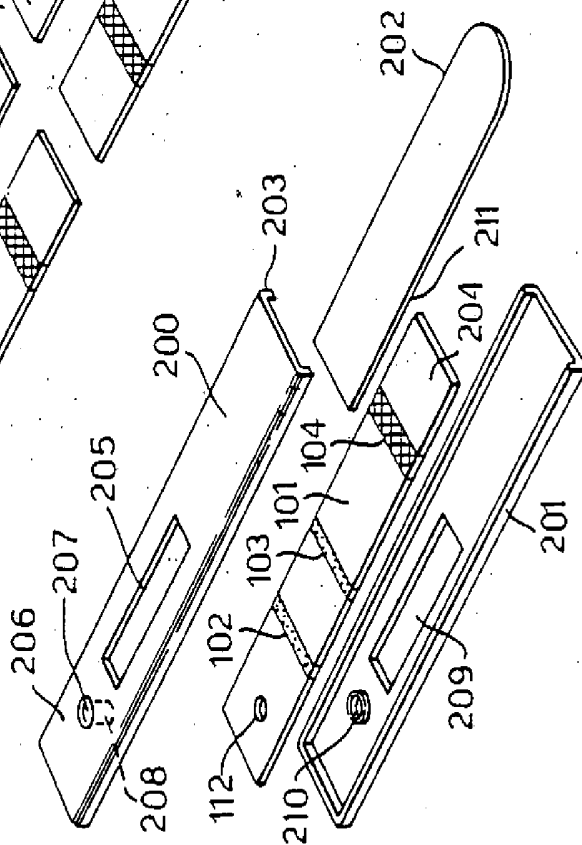


Fig. 3.

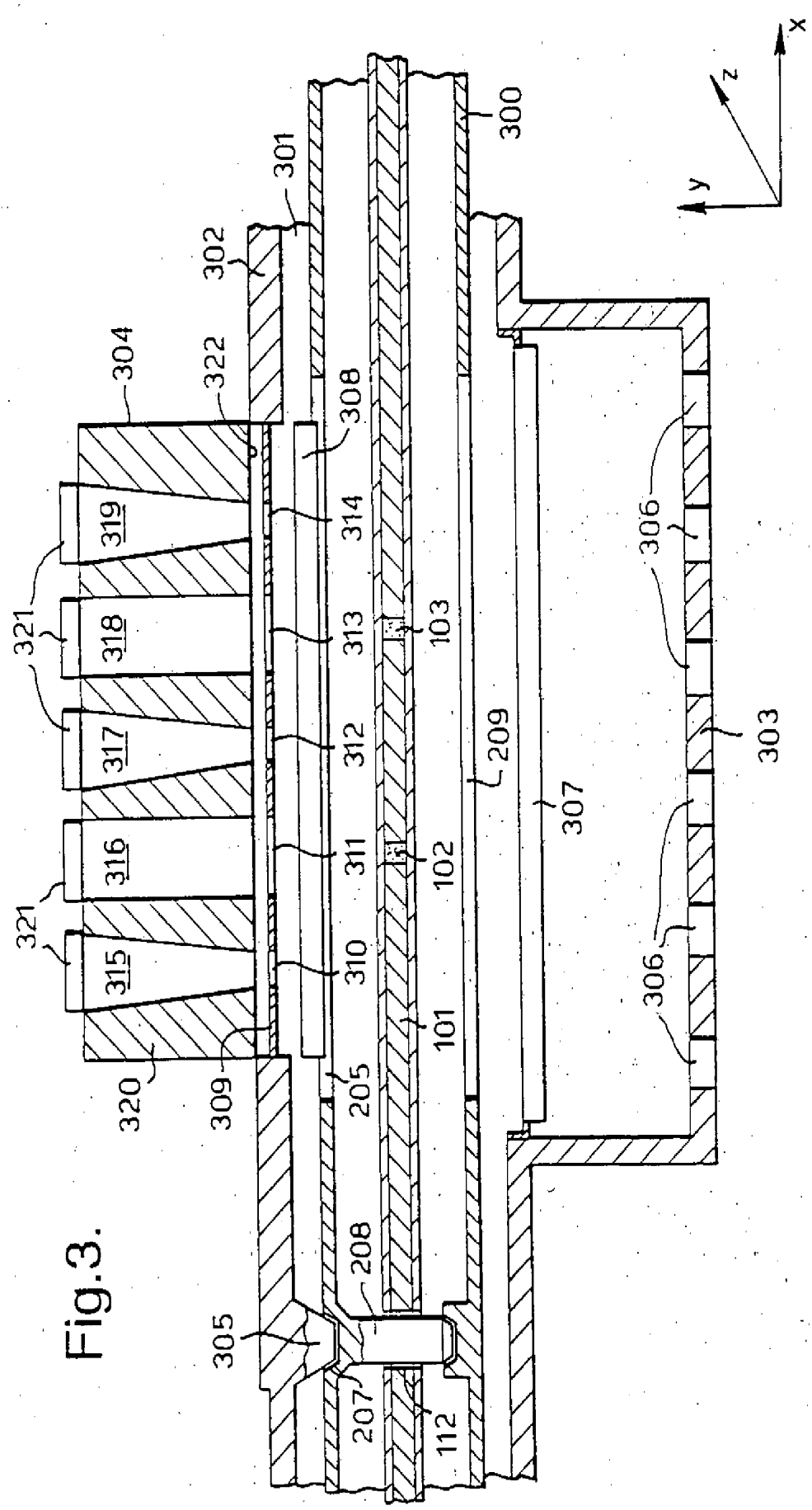


Fig.4a.

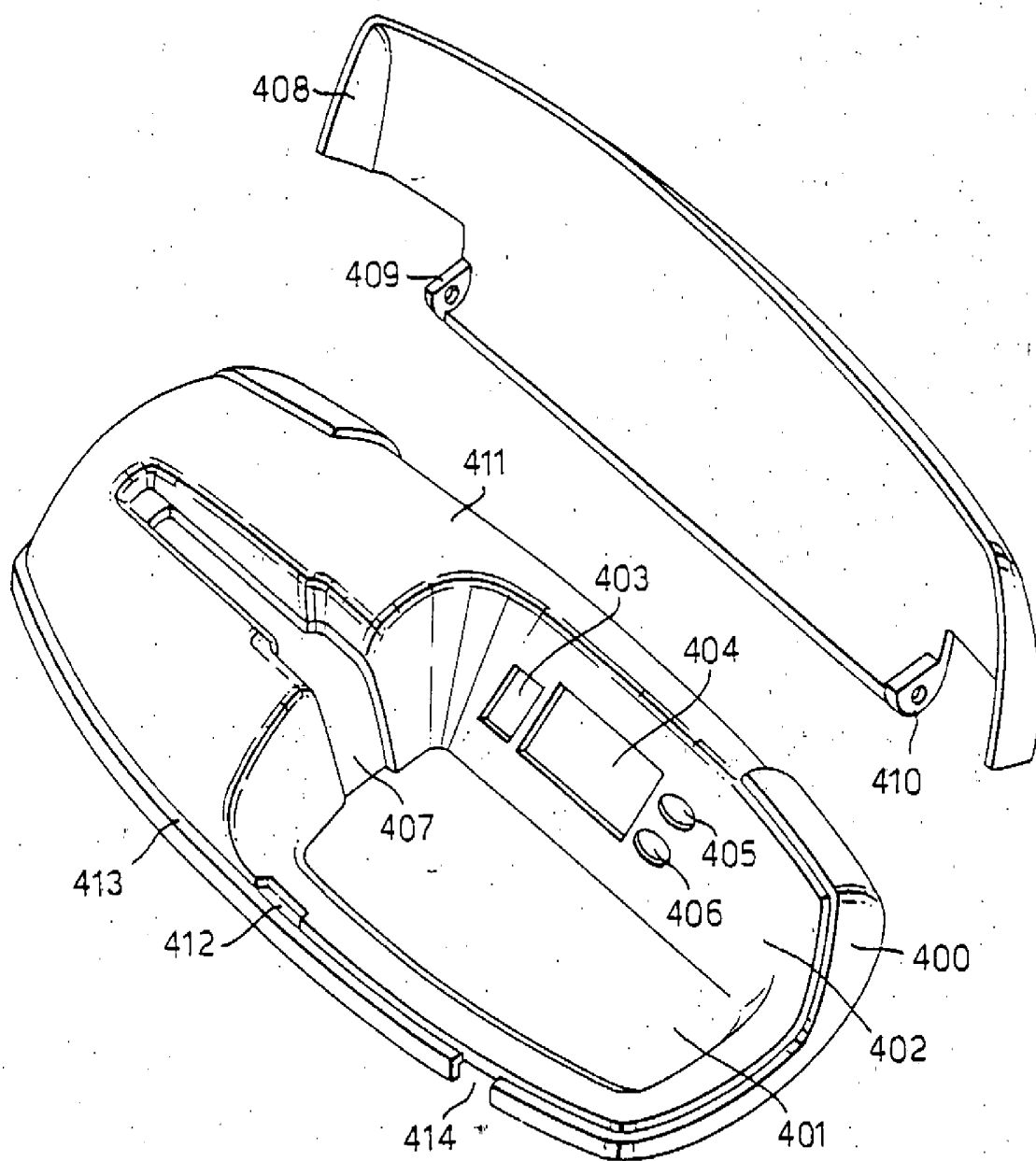


Fig. 4b.

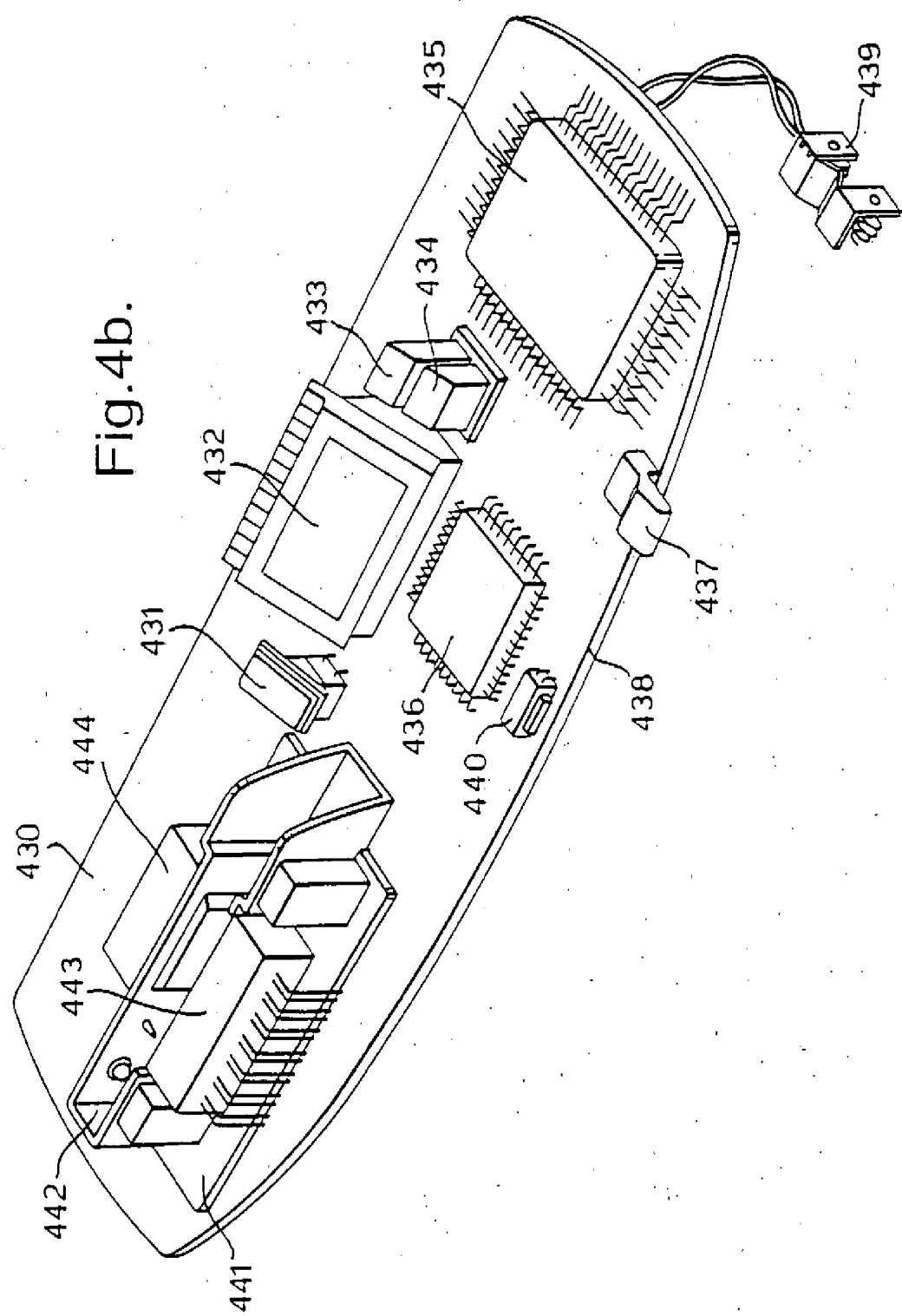
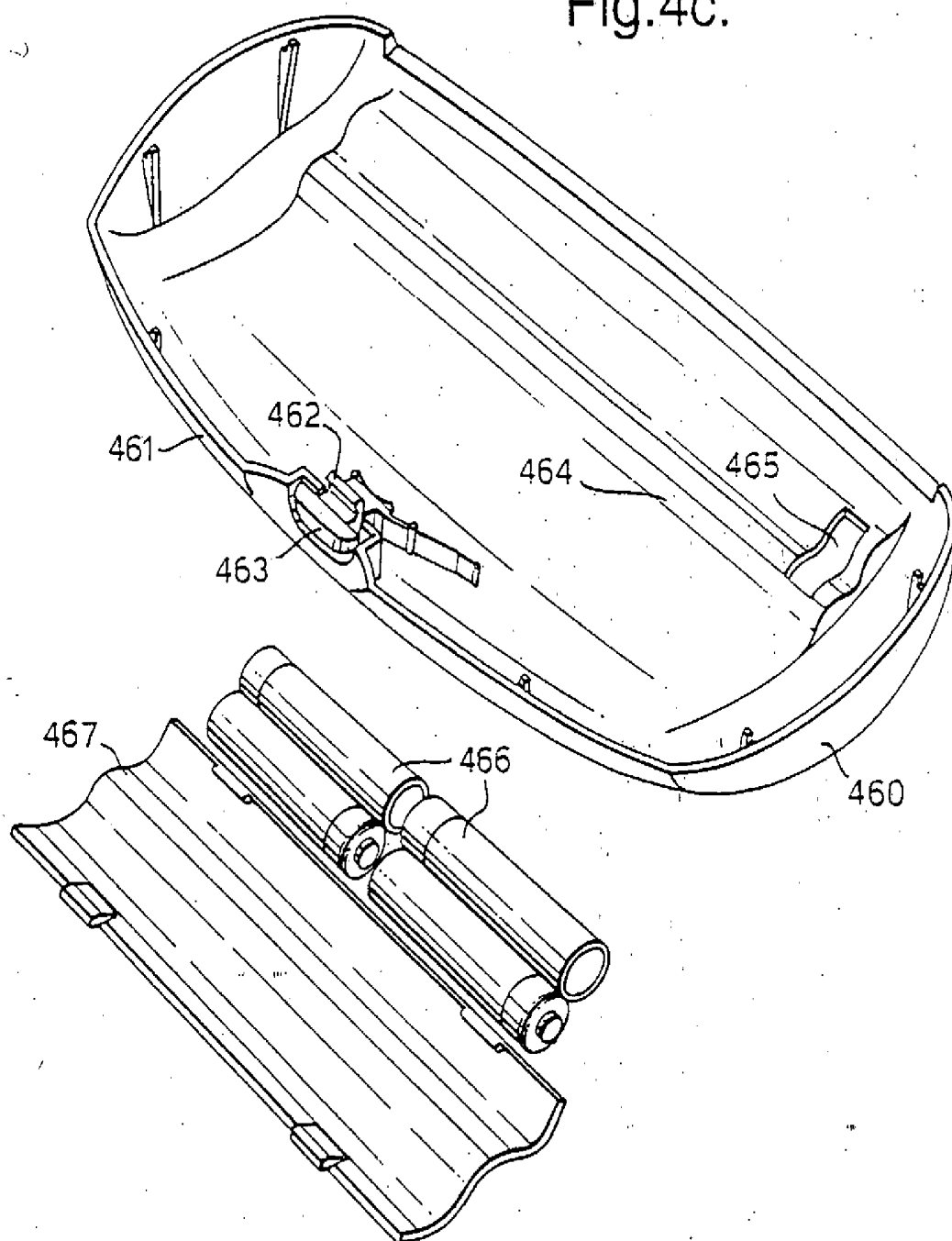


Fig.4c.



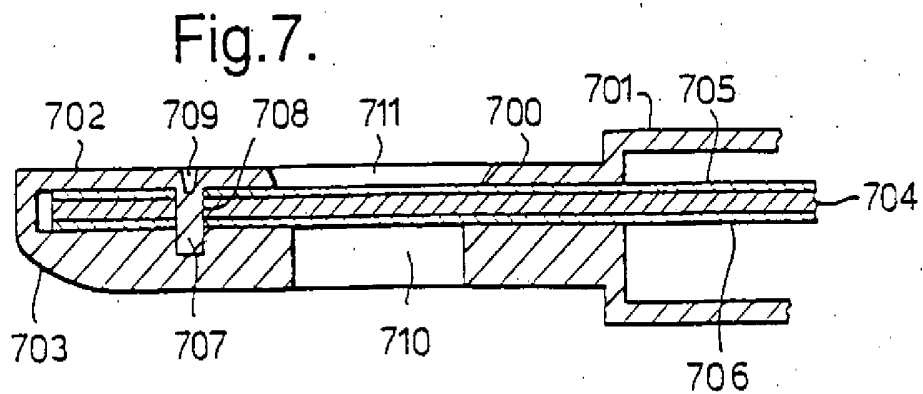
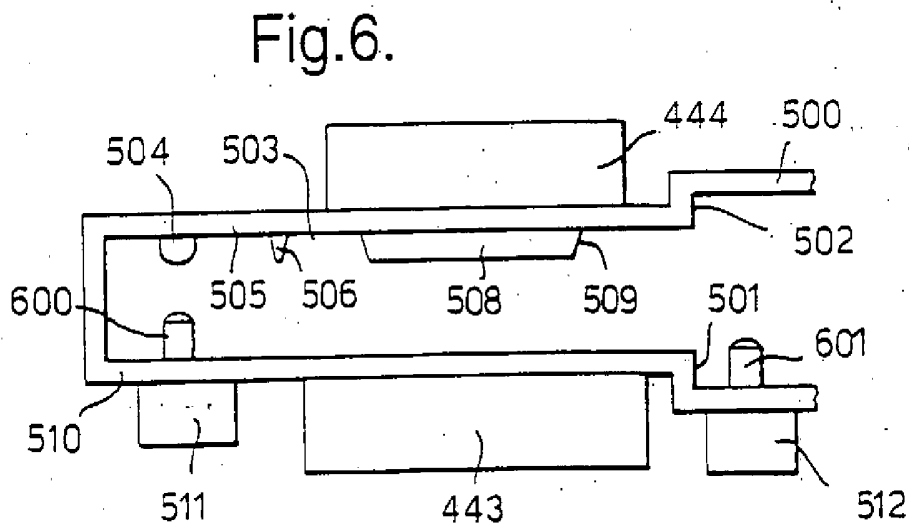
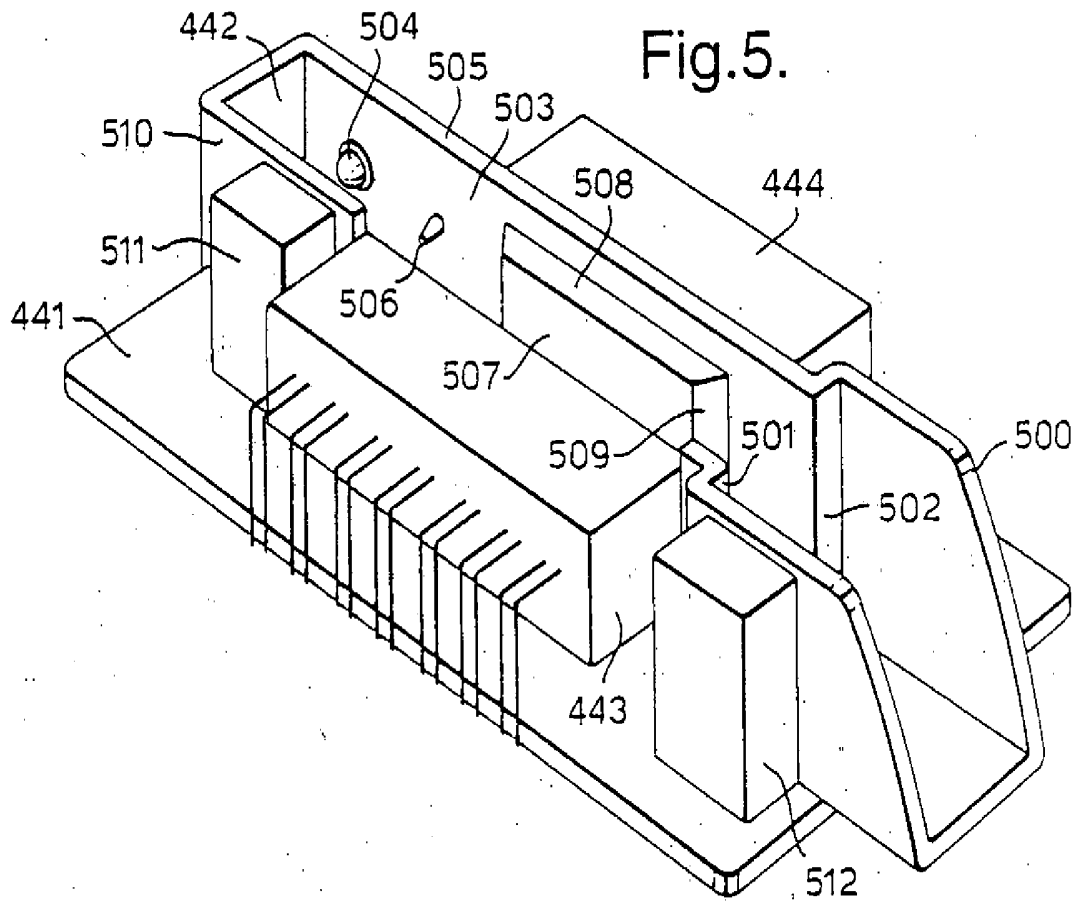


Fig.8.

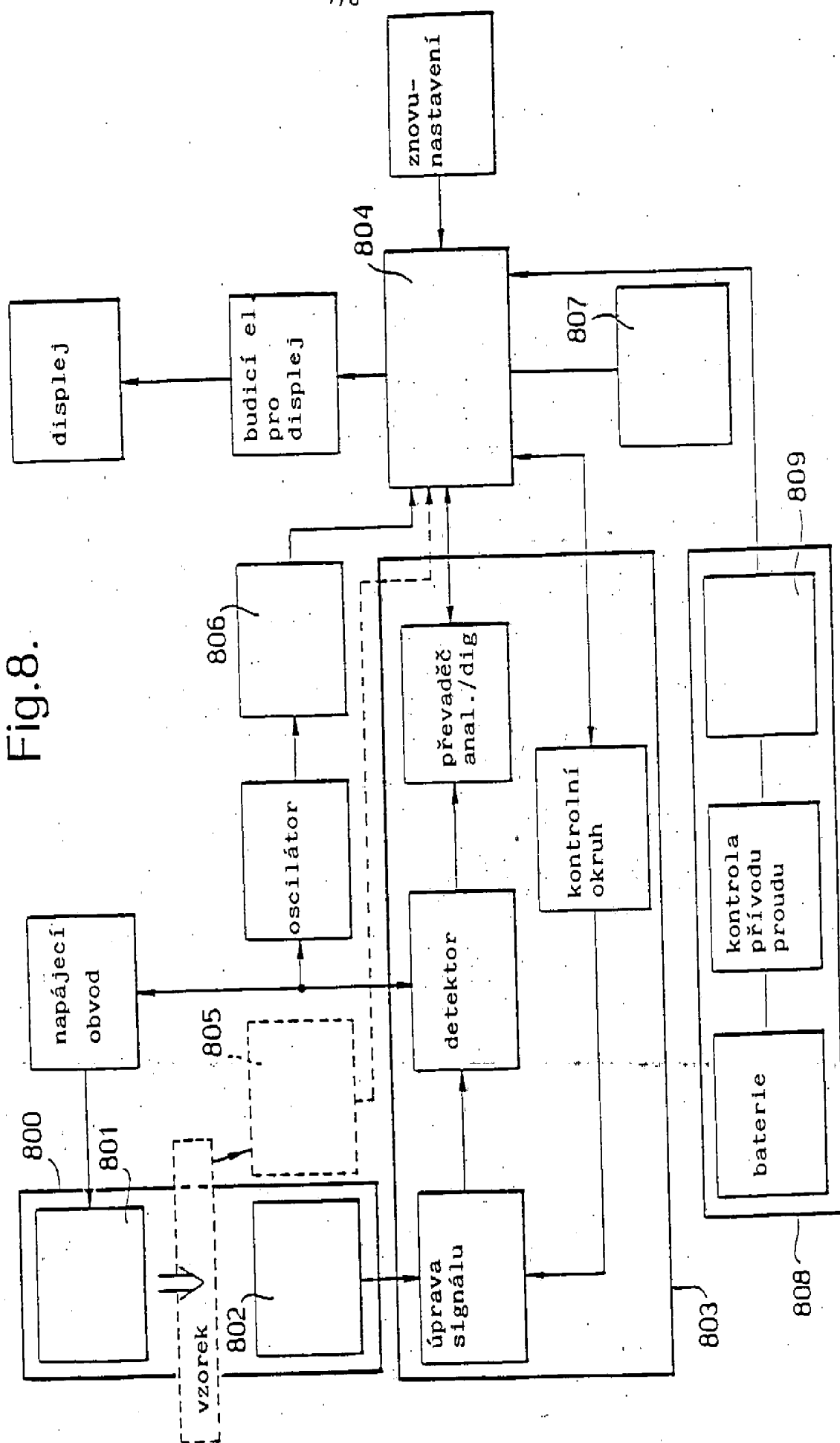


Fig. 9a.

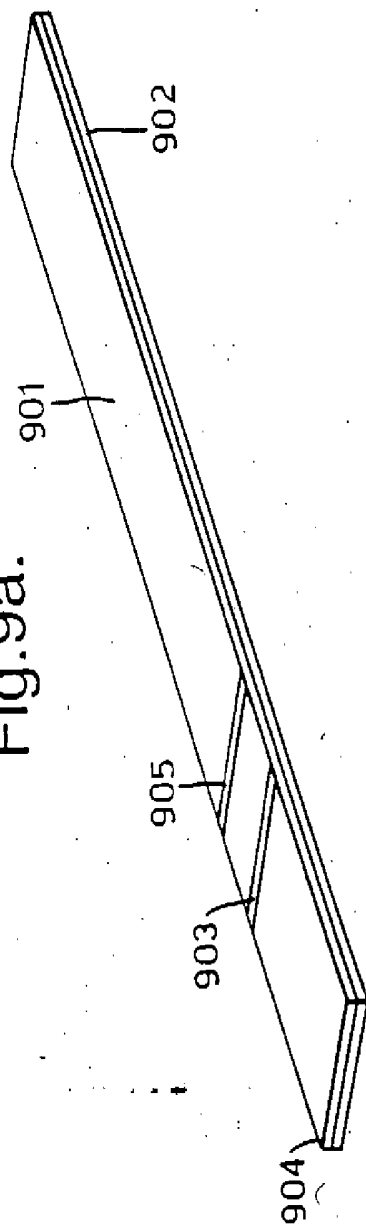


Fig. 9b.

