

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 983 948**

51 Int. Cl.:

G01N 33/574 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.05.2019** **PCT/EP2019/061967**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.11.2019** **WO19224012**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.05.2019** **E 19725656 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.07.2024** **EP 3797174**

54 Título: **Método para predecir el resultado de un procedimiento de tecnología de reproducción asistida**

30 Prioridad:

22.05.2018 EP 18173578

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

28.10.2024

73 Titular/es:

**ARTPRED B.V. (100.0%)
Aalsmeerderdijk 158 C
1438AX Oude Meer, NL**

72 Inventor/es:

**DE JONGE, JONATHAN DENNIS;
BUDDING, DRIES y
DE MÖNNINK, JOEP**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 983 948 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para predecir el resultado de un procedimiento de tecnología de reproducción asistida

Campo de la invención

5 La invención se relaciona con el campo de la reproducción humana, más en particular a situaciones en las que la reproducción humana falla. La presente invención proporciona un método confiable y altamente preciso para predecir la probabilidad de que un procedimiento de tecnología de reproducción asistida (ART), tal como un procedimiento de fertilización in vitro e inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), no conduzca a un embarazo exitoso. La descripción también proporciona medios y métodos para predecir la probabilidad de que un procedimiento de tecnología de reproducción asistida (ART), como un procedimiento de fertilización *in vitro* e inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), conduzca a un embarazo exitoso.

Antecedentes de la invención

15 La subfertilidad afecta entre el 10 y el 15 % de las parejas en el mundo occidental. Esta subfertilidad se puede atribuir en la mitad de los casos a causas relacionadas con el aparato reproductor femenino, en un 20-26 % al masculino y en un 25-30 % la causa es desconocida (Evers, J.L., 2002, Lancet 360:151-159). Muchas parejas recurren a un procedimiento de tecnología de reproducción asistida (ART), como la fertilización in vitro (IVF) o la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), para cumplir su deseo de tener hijos.

La tasa de éxito de estas técnicas es de aproximadamente 25 % por ciclo iniciado (Andersen, A. et al. 2007, Hum. Reprod. 22:1513-1525). Sería de gran beneficio emocional y económico si se pudiera mejorar esta tasa de éxito.

20 Además, en vista de la carga personal y social que suponen los procedimientos de ART, es deseable identificar a las parejas con pocas posibilidades de éxito en una etapa muy temprana del procedimiento, de modo que se les puedan ofrecer procedimientos alternativos para cumplir su deseo de tener hijos.

Por lo tanto, tanto para mejorar los tratamientos como para decidir en casos individuales si se debe proceder, se necesitan modelos que puedan predecir con precisión si una mujer no quedará embarazada y dará a luz a bebés con vida después de la IVF/ICSI.

30 Durante más de una década, han estado disponibles modelos que predicen la probabilidad de un nacimiento vivo con base en datos clínicos que incluyen la edad, el número de intentos previos fallidos de IVF y el motivo probable de la infertilidad (Templeton, W. et al., 1996, Lancet 348:1402-1406). Nelson y Lawlor (Nelson, S.M. and Lawlor D.A. 2011, PLOS Medicine 8:1-10) desarrolló un modelo con base en datos de más de 140,000 mujeres, utilizando estratificación por edad y causa de infertilidad, el procedimiento (a ser) utilizado, la fuente del óvulo y la duración del deseo de tener un hijo. Selman et al., (J. Assisted Reproduction and Genetics 24: 395-399 (2007)) divulga la detección de *Lactobacillus* y *Staphylococcus* en relación con el resultado de la IVF/embarazo. El documento EP 2742359 B1 describe un método para predecir la probabilidad de un embarazo exitoso o fallido en un sujeto, con base en la cantidad relativa de bacterias pertenecientes al grupo de lactobaciláceas y bacterias pertenecientes a una especie de *Staphylococcus* en una muestra de orina o vaginal. Además, Haahr et al., Human Reproduction, 31, pp. 795-803, 2016; Mangot-Bertrand et al., Eur.J. Clin. Microbiol. and Infectious Diseases, 32, pp.535-54, 2012; Selman et al., J. Assisted Reproduction and Genetics, 24, 395-399 (2007); Eckert et al., Inf. Disease in obstetrics and Gynecology, 11, pp.11-17, 2003; los documentos WO2013025095 A1; EP1985712 A1, describen métodos para evaluar el resultado de un embarazo y la infertilidad.

40 Sin embargo, sigue siendo necesario contar con métodos mejores, más confiables y fáciles de usar para limitar el número de procedimientos de ART innecesarios y predecir la posibilidad de un resultado fallido de un procedimiento de ART. Esto ayudaría a reducir los costes en atención médica. Además, a las mujeres que desean tener un hijo se les podría orientar antes hacia soluciones alternativas.

45 Sumario de la invención

La invención está definida por las reivindicaciones adjuntas. Además, un método para predecir la probabilidad de que un procedimiento de tecnología de reproducción asistida (ART) no dé como resultado un embarazo, en donde se analiza una muestra de una hembra mamífera tomada antes o durante el procedimiento de ART para detectar la presencia de *Gardnerella vaginalis* IST1 y, además, para al menos uno de los siguientes parámetros:

- 50 a) abundancia relativa de especies de *Lactobacillus*
b) abundancia relativa de *Lactobacillus jensenii*,
c) abundancia relativa de *Proteobacteria*,

y en donde se concluye que el sujeto tiene una alta probabilidad de no quedar embarazada como resultado del procedimiento ART si la muestra comprende *Gardnerella vaginalis* IST1 y se aplica al menos uno de los siguientes:

- I. la abundancia relativa de especies de *Lactobacillus* está por debajo de un valor elegido entre 15 % y 25 % o
- II. la abundancia relativa de *Lactobacillus jensenii* está por encima de un valor elegido entre 25 % y 45 % o
- III. la abundancia relativa de *Proteobacteria* está por encima de un valor elegido entre 18 % y 38 %.

La invención también se relaciona con un kit para realizar un método de acuerdo con la invención que comprende un cebador con sentido CTGGATCACCTCCTTTCTAWG (SEQ ID NO: 1) y un cebador antisentido AGGCATCCRCCATGCGCCCT (SEQ ID NO: 2) para la detección de un producto de amplificación de ADN de *Gardnerella vaginalis* IST1, en donde el producto de amplificación de ADN de *Gardnerella vaginalis* IST1 tiene una longitud de 428-430 nucleótidos, y en donde W indica una A o una T y en donde R indica una A o una G, es descrito.

Proporcionamos aquí un método para predecir la probabilidad de que un procedimiento de tecnología de reproducción asistida (ART) no resulte en un embarazo, en donde una muestra de una hembra mamífera tomada antes o durante el procedimiento ART se analiza para detectar la presencia de *Gardnerella vaginalis* y adicionalmente para al menos uno de los siguientes parámetros:

- a) abundancia relativa de especies de *Lactobacillus*
- b) abundancia relativa de *Lactobacillus jensenii*,
- c) abundancia relativa de *Proteobacteria*,

y en donde se concluye que el sujeto tiene una alta probabilidad de no quedar embarazada como resultado del procedimiento ART si la muestra comprende *Gardnerella vaginalis* IST1 y se aplica al menos uno de los siguientes:

- I. la abundancia relativa de especies de *Lactobacillus* está por debajo de un valor elegido entre 15 % y 25 % o
- II. la abundancia relativa de *Lactobacillus jensenii* está por encima de un valor elegido entre 25 % y 45 % o
- III. la abundancia relativa de *Proteobacteria* está por encima de un valor elegido entre 18 % y 38 %.

Los valores elegidos entre 15 % y 25 %, 25 % y 45 % y 18 % y 38 % respectivamente también se denominan valores de corte o valores de umbral. Puede elegirse de manera que el método proporcione la especificidad y sensibilidad deseadas. Una persona experimentada conoce bien los requisitos para determinar un valor adecuado.

Se determina la presencia de *Gardnerella vaginalis* así como la abundancia relativa de especies de *Lactobacillus*, la abundancia relativa de *Lactobacillus jensenii* y la abundancia relativa de *Proteobacteria*.

En una realización preferida adicional, la invención se relaciona con un método como se describe anteriormente, en donde *Gardnerella vaginalis* es *Gardnerella vaginalis* IST1. *Gardnerella vaginalis* IST1 se define aquí como una especie de *Gardnerella* específica que puede identificarse realizando un análisis de población microbiana vaginal utilizando amplificación de los espacios intergénicos (IS), de acuerdo con el protocolo proporcionado por el fabricante (técnica IS-pro, IS-Diagnostics, Amsterdam, Países Bajos). IS-pro es una técnica eubacteriana con base en la detección y categorización de la longitud de la región IS del gen 16S-23S ARNr. La longitud de esta región IS es específica de cada especie microbiana. *Gardnerella vaginalis* IST1 se define además como una especie de *Gardnerella vaginalis* que da como resultado un fragmento IS específico con una longitud de 428, 429 o 430 nucleótidos cuando se utilizan los cebadores de acuerdo con la SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2.

El término procedimiento ART se utiliza aquí para indicar una tecnología de reproducción artificial. En particular, el término se relaciona con la fertilización in vitro (IVF), inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) e inseminación intrauterina (IUI).

El término abundancia relativa se utiliza para indicar una fracción de la cantidad total o número de bacterias en una muestra. La fracción se expresa como un porcentaje (%) o como un número entre 0 y 1.

El término "alta probabilidad" con respecto a predecir la oportunidad de éxito o fracaso de un procedimiento de ART se utiliza aquí para indicar que la rata de éxito o fracaso prevista es mayor que en la población general de mujeres que se someten a un procedimiento de ART. En particular, la probabilidad de no quedar embarazada se denomina "aumentada" si el sujeto tiene una probabilidad superior al 60 %, como por ejemplo un 65 % de probabilidad de no quedar embarazada como resultado del procedimiento ART si se cumplen los criterios para una predicción negativa según lo aquí descrito. Más del 65 % a este respecto incluye, por ejemplo, más del 77 %, tal como 88 % o más o incluso 94 % o más.

Además, la probabilidad de quedar embarazada aumenta si el sujeto tiene una probabilidad superior al 35 % de quedar embarazada como resultado del procedimiento ART si se cumplen los criterios para una predicción positiva como se describe aquí. Más del 35 % en este sentido significa 41%, 49 % o incluso 50 % o más.

5 Gardnerella es un género de bacterias anaeróbicas facultativas con tinción de Gram variable de las cuales Gardnerella vaginalis es la única especie. Los organismos son cocobacilos pequeños (1.0-1.5 µm de diámetro) que no forman esporas y no son móviles. Una vez clasificado como Haemophilus vaginalis y luego como Corynebacterium vaginalis, G. vaginalis crece como colonias pequeñas, circulares, convexas y grises en agar chocolate; también crece en agar HBT. Un medio selectivo para G. vaginalis es el agar sangre con colistina y ácido oxolínico. La determinación de la presencia de Gardnerella vaginalis se realiza preferentemente mediante 10 PCR, como la PCR cuantitativa.

15 Lactobacillus es un género de bacterias Gram positivas, anaeróbicas facultativas o microaerófilas, con forma de bastón y que no forman esporas. Son una parte importante del grupo de bacterias del ácido láctico (es decir, convierten los azúcares en ácido láctico). En humanos, constituyen un componente importante de la microbiota en varias partes del cuerpo, como el sistema digestivo, el sistema urinario y el sistema genital. En las mujeres de ascendencia europea, las especies de Lactobacillus normalmente constituyen una parte importante de la microbiota vaginal. Lactobacillus forma biopelículas en la microbiota vaginal e intestinal, lo que les permite persistir en condiciones ambientales adversas y mantener poblaciones amplias. Lactobacillus exhibe una relación mutualista con el cuerpo humano, ya que protege al huésped contra posibles invasiones de patógenos y, a su vez, el huésped proporciona una fuente de nutrientes.

20 El término especie de Lactobacillus se utiliza aquí para referirse a todas las especies de Lactobacillus colectivamente.

El Lactobacillus jensenii es un habitante común del tracto reproductivo inferior en mujeres sanas. En una población normal, L. jensenii representa aproximadamente el 23 % de la microflora vaginal natural.

25 Las proteobacterias son un filo importante de bacterias. Son bacterias gramnegativas. Esto significa que no retienen el tinte violeta en el protocolo de tinción de Gram. En una prueba de tinción de Gram, se añade una contratinción (comúnmente safranina) después del cristal violeta, coloreando todas las bacterias gramnegativas con un color rosado. La prueba en sí es útil para clasificar dos tipos distintos de bacterias según las diferencias estructurales de sus paredes celulares.

30 Las proteobacterias incluyen una amplia variedad de patógenos, como Escherichia coli, Salmonella, Vibrio, Helicobacter y muchos otros géneros notables. Otros son de vida libre e incluyen muchas de las bacterias responsables de la fijación de nitrógeno. El grupo se define principalmente en términos de secuencias de ARN ribosómico (ARNr).

35 Existen numerosas formas de determinar estos microorganismos y la persona experimentada conoce bien las técnicas sobre cómo determinar y cuantificar las cantidades relativas de Gardnerella, especies de Lactobacillus, L. jensenii y Proteobacteria en una muestra. Proporcionamos aquí los resultados de un estudio en donde determinamos la presencia y las cantidades relativas de estas bacterias en muestras obtenidas de una población de 192 mujeres sometidas a un procedimiento de ART.

Correlacionamos la presencia y las cantidades relativas de estos microorganismos y descubrimos que su presencia y/o abundancia era indicativa de la tasa de éxito o de fracaso de un procedimiento de ART.

40 De 192 mujeres, 125 no quedaron embarazadas después del primer intento, mientras que 67 sí quedaron embarazadas. Esta es una tasa de fracaso del procedimiento ART del 65 % y una tasa de éxito del 35 % (Tabla 1 y Tabla 2).

45 En un método de acuerdo con la invención, la abundancia relativa de una especie o género particular de bacterias debe compararse con un valor de referencia o valor de corte predeterminado. El valor de referencia predeterminado puede ser cualquier valor de corte adecuado. Este proceso de determinar un valor de corte adecuado está dentro de las habilidades de una persona experimentada y puede ser determinado empíricamente fácilmente por la persona experimentada.

50 Preferiblemente es un valor derivado de la composición bacteriana de muestras obtenidas de una población comparable a la población de prueba. Aún más preferido es un valor de referencia obtenido a partir de un valor promedio de varios experimentos independientes de procedimientos ART en una población de referencia. La persona experimentada conoce los detalles de la determinación de valores de referencia para medir y determinar la abundancia relativa de bacterias.

55 Por lo tanto, el valor de referencia predeterminado puede determinarse empíricamente o elegirse arbitrariamente para lograr la especificidad y/o sensibilidad apropiadas del método. Una persona experimentada sabe perfectamente cómo elegir un valor de referencia apropiado. Una persona experimentada

sabr   cómo alterar el valor de referencia predeterminado para obtener la especificidad y sensibilidad deseadas del método.

Como ejemplo, en el método descrito anteriormente, el primer valor de referencia predeterminado puede estar entre 15 y 25 %, tal como 20 %, el segundo valor de referencia predeterminado puede estar entre 25 y 45 %, tal como 35 % y el tercer valor de referencia predeterminado puede estar entre 18 y 38 %, tal como 28 %.

Cuando se eligieron los valores de referencia primero, segundo y tercero como 20 %, 35 % y 28 % respectivamente y se combinaron los datos de la tabla 1 con los datos de la composición microbiana de la población bacteriana vaginal, resultó que 32 de los 125 resultados fallidos del ART se pudieron predecir correctamente, es decir, el 26 % de los casos donde el procedimiento de ART fall   se pudieron predecir correctamente (Tabla 2).

Por lo tanto, un método de acuerdo con la invención como se divulga anteriormente produce resultados altamente confiables, es decir, no logró predecir un resultado fallido del procedimiento ART en sólo 2 casos. En estos dos casos, el procedimiento ART resultó en un embarazo que se considera el resultado deseado; es decir, un resultado exitoso. La precisión del método para predecir que un sujeto no quedará embarazada, como se describe anteriormente, es por tanto $32/34 = 94\%$ (Tabla 5).

Tabla 2: Matriz de correlación con base en al menos uno de 4 parámetros

Resultado real del procedimiento ART	Predicción de acuerdo con un método de la invención		
	No embarazada	Embarazada	Total
No embarazada	32	93	125
Embarazada	2	65	67
Total	34	158	192

Si el método de acuerdo con la invención como se describió anteriormente se hubiera utilizado como criterio de exclusión en este estudio, entonces 34 mujeres habrían sido excluidas de este estudio y se habría permitido participar en el procedimiento a 158 en lugar de 192 mujeres, de las cuales 65 hubieran quedado embarazadas. Esto significa que la rata de éxito del procedimiento ART en ese caso habría aumentado de $67/192 = 35\%$ a $65/158 = 41\%$. Este es un aumento de la eficiencia relativa del procedimiento ART del 6 %. Una ventaja adicional sería que las 34 mujeres no tendrían que someterse a uno o varios procedimientos de ART antes de que se les ofrecieran metodologías alternativas.

Si se aplicara a la población actual en el estudio como se describe aquí, el procedimiento de selección habría llevado a una reducción del número de procedimientos de ART con $34/192 = 18\%$. Los costes promedio totales de un procedimiento ART como IVF o ICSI son del orden de 5,000   . En total, aplicando el método de acuerdo con la invención se habría ahorrado un promedio de 900    por paciente de IVF/ICSI o, en otras palabras, los costes del procedimiento se habrían reducido en un 18 %.

También determinamos el valor predictivo de un método con base en la presencia de Gardnerella vaginalis, como G. vaginalis IST, en particular G. vaginalis IST1, sola. Parecía que las mujeres con Gardnerella vaginalis IST1 tenían un 88 % de posibilidades de no quedar embarazadas (Tabla 3, Tabla 5). Por lo tanto, un método como el descrito anteriormente, en donde Gardnerella vaginalis es G. vaginalis IST1, produjo buenos resultados.

Tabla 3: Matriz de correlación con base en Gardnerella vaginalis IST1

Resultado real del procedimiento ART	Predicción de acuerdo con un método de la invención		
	No embarazada	Embarazada	Total
No embarazada	15	110	125
Embarazada	2	65	67

Resultado real del procedimiento ART	Predicción de acuerdo con un método de la invención		
	No embarazada	Embarazada	Total
Total	17	175	192

Por lo tanto, la invención también se refiere a un método como se describió anteriormente en donde se determina en la muestra la presencia de *Gardnerella vaginalis*, preferiblemente *G. vaginalis* IST, tal como *G. vaginalis* IST1 y en donde el sujeto tiene una alta probabilidad de no quedar embarazada como resultado del procedimiento ART si la muestra comprende *Gardnerella vaginalis*, preferiblemente *G. vaginalis* IST1.

La precisión y otras características de este método como se describió anteriormente podrían incluso mejorarse aún más aplicando un método en donde se mida al menos uno de los siguientes parámetros:

- a) abundancia relativa de especies de *Lactobacillus*
- b) abundancia relativa de *Lactobacillus jensenii*,
- c) abundancia relativa de *Proteobacteria*,

y en donde se concluye que el sujeto tiene una alta probabilidad de no quedar embarazada como resultado del procedimiento ART si la muestra comprende *Gardnerella vaginalis* IST1 y se aplica al menos uno de los siguientes:

- I. la abundancia relativa de especies de *Lactobacillus* está por debajo de un valor elegido entre 15 % y 25 % o
- II. la abundancia relativa de *Lactobacillus jensenii* está por encima de un valor elegido entre 25 % y 45 % o
- III. la abundancia relativa de *Proteobacteria* está por encima de un valor elegido entre 18 % y 38 %.

Cuando se aplican estos criterios, se podrían predecir correctamente más muestras.

Como se puede deducir de los datos de la Tabla 1, se predijo que 34 del total de 192 muestras no lograrían quedar embarazadas. Treinta y dos de estas 34 muestras pudieron predecirse correctamente mediante un método de acuerdo con la invención (Tabla 1, Tabla 2). De las 32 muestras predichas correctamente, 15 fueron atribuibles a la presencia de *G. vaginalis* IST1 (criterio 1). Si este criterio se combinara con el criterio de que la abundancia relativa de especies de *Lactobacillus* (criterio 2) fuera inferior al 15 %, entonces se podrían predecir correctamente 7 muestras adicionales de estas 32. Si el criterio 1 se combinara con el criterio de que la abundancia relativa de *Lactobacillus jensenii* (criterio 3) fuera superior al 25 %, entonces se podrían predecir correctamente 6 muestras adicionales de estas 32. Si el criterio 1 se combinara con el criterio de que la abundancia relativa de *Proteobacteria* (criterio 4) fuera superior al 18 %, entonces se podrían predecir correctamente 5 muestras adicionales de estas 32. Otras combinaciones de estos criterios también produjeron una mejora en el método. La siguiente Tabla 7 proporciona el número de predicciones correctas según los criterios utilizados. Si se utilizaron los 4 criterios, se detectaron las 32 muestras.

Tabla 7: Predicción correcta de no quedar embarazada en función de diferentes criterios.

Criterio	Predicción correcta de no embarazo
1	15/32
1+2	22/32
1+3	21/32
1+4	20/32
1+2+3	28/32
1+3+4	26/32
1+2+3+4	32/32

También determinamos la presencia de dos especies de *Lactobacillus*, *L. crispatus* y *L. iners* en las muestras proporcionadas, mediante la técnica ISPRO (Ejemplo 4). Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Lactobacillus crispatus es un habitante común del tracto reproductivo inferior en mujeres sanas. En una población normal, *L. crispatus* es la especie dominante en más del 30 % de todas las mujeres en edad reproductiva.

Lactobacillus iners también es una especie del género *Lactobacillus*. Es una bacteria Gram positiva, catalasa negativa y anaeróbica facultativa con forma de bastón. *Lactobacillus iners* es un habitante normal del tracto reproductivo inferior en mujeres sanas. Se han secuenciado los genomas de al menos 15 cepas y codifican entre 1,152 y 1,506 proteínas. Por lo tanto, esta especie tiene uno de los genomas de *Lactobacillus* más pequeños en comparación con otras especies, como *L. crispatus*, que normalmente codifica más del doble de proteínas.

Existen numerosas formas de determinar estos microorganismos y la persona experimentada conoce bien las técnicas sobre cómo determinar y cuantificar las cantidades relativas de especies de *Lactobacillus*, *L. crispatus* y *L. iners* en una muestra.

Descubrimos que estas dos especies (*L. crispatus* y *L. iners*) también eran indicativas del fracaso o el éxito de un procedimiento ART.

En particular, se encontró que un sujeto tenía una alta probabilidad de no quedar embarazada como resultado de un procedimiento ART, si la abundancia relativa de *Lactobacillus crispatus* estaba por encima de un cuarto valor de referencia predeterminado. Este cuarto valor de referencia predeterminado se eligió preferentemente entre 50 y 70 %, tal como 60 %. Cuando se tomó el 60 % como cuarto valor de referencia, 65 mujeres cumplieron este criterio, de las cuales 15 quedaron embarazadas como resultado del procedimiento ART (Tabla 6). Esta es una tasa de fracaso del 77 %, que es más alta que la tasa de fracaso en todo el grupo (Tabla 5).

También se encontró que un sujeto tenía una alta probabilidad de quedar embarazada como resultado del procedimiento ART, si la abundancia relativa de *Lactobacillus crispatus* estaba por debajo de un quinto valor de referencia predeterminado. Este quinto valor de referencia predeterminado se eligió preferentemente entre 50 y 70 %, tal como 60 %. Cuando se tomó el 60 % como quinto valor de referencia, 127 mujeres cumplieron este criterio, de las cuales 52 quedaron embarazadas como resultado del procedimiento ART (Tabla 6). Esta es una tasa de éxito del 41 %, que es más alta que la tasa de éxito en todo el grupo (Tabla 5). Estos resultados se muestran en la Tabla 6 y la Tabla 5.

Tabla 6: Matriz de correlación con base en *L. crispatus*

Resultado real del procedimiento ART	Predicción de acuerdo con un método de la invención		
	No embarazada	Embarazada	Total
No embarazada	50	75	125
Embarazada	15	52	67
Total	65	127	192

También determinamos la abundancia relativa de *Lactobacillus iners* y encontramos que el sujeto tenía una alta probabilidad de quedar embarazada como resultado del procedimiento ART, si la abundancia relativa de *Lactobacillus iners* estaba por encima de un sexto valor de referencia predeterminado. Este sexto valor de referencia predeterminado se eligió preferentemente entre 50 y 70 %, tal como 60 %. Cuando se tomó el 60 % como sexto valor de referencia, 38 mujeres cumplieron este criterio, de las cuales 19 quedaron embarazadas como resultado del procedimiento ART (Tabla 5). Esta es una tasa de éxito del 50 %, que es más alta que la tasa de éxito en todo el grupo (Tabla 5).

Por lo tanto, describimos un método para predecir la probabilidad de que un procedimiento de tecnología de reproducción asistida (ART) no dé como resultado un embarazo, en donde se analiza una muestra de una hembra mamífera tomada antes o durante el procedimiento ART para determinar la abundancia relativa de *Lactobacillus crispatus* y en donde el sujeto tiene una alta probabilidad de no quedar embarazada como resultado del procedimiento ART, si la abundancia relativa de *Lactobacillus crispatus* está por encima de un cuarto valor de referencia predeterminado.

También describimos un método para predecir la probabilidad de que un procedimiento de tecnología de reproducción asistida (ART) dé como resultado un embarazo, en donde se analiza una muestra de una hembra mamífera tomada antes o durante el procedimiento ART para determinar la abundancia relativa de *Lactobacillus crispatus* y en donde el sujeto tiene una alta probabilidad de quedar embarazada como resultado del procedimiento ART, si la abundancia relativa de *Lactobacillus crispatus* está por debajo de un quinto valor de referencia predeterminado.

También describimos un método para predecir la probabilidad de que un procedimiento de tecnología de reproducción asistida (ART) dé como resultado un embarazo, en donde se analiza una muestra de una hembra mamífera tomada antes o durante el procedimiento ART para determinar la abundancia relativa de *Lactobacillus iners* y en donde el sujeto tiene una alta probabilidad de quedar embarazada como resultado del procedimiento ART, si la abundancia relativa de *Lactobacillus iners* está por debajo de un sexto valor de referencia predeterminado.

También describimos aquí un método para predecir la probabilidad de que un procedimiento de tecnología de reproducción asistida (ART) dé como resultado un embarazo, en donde una muestra de una hembra mamífera tomada antes o durante el procedimiento ART se analiza para determinar la presencia de *Lactobacillus crispatus* y de *Lactobacillus iners*, y en donde se determinan las cantidades relativas de *L. crispatus* [LC] y *L. iners* [LI], y en donde la probabilidad de un embarazo aumenta si [LC] está por debajo de un séptimo valor de referencia predeterminado y en donde

a.

$$[LC] < (a * [LI]) + b$$

y

b.

$$[LC] > (c * [LI]) + d$$

y

en donde a es un valor entre -0.55 y -0.70, b es un valor entre 0.80 y 0.90, c es un valor entre -0.50 y -0.65 y en donde d es un valor entre 0.3 y 0.45.

En una realización preferida, a = -0.62, b = 0.85, c = -0.58 y d = 0.38. En este caso, 77 de las 192 mujeres del estudio aquí descrito cumplieron con el criterio, de las cuales 38 (49 %) quedaron embarazadas como resultado del procedimiento ART (Tabla 5). Estos resultados se representan gráficamente en la figura 1.

Se obtuvieron resultados especialmente buenos cuando los valores de referencia predeterminados cuarto, quinto, sexto y séptimo se eligieron independientemente entre sí entre el 50 % y el 70 %, incluso más particularmente el 60 %.

Leyenda de la figura

Figura 1: Diagrama de dispersión de datos obtenidos con uno de los métodos de ejemplo aquí en donde la probabilidad de un embarazo aumenta si [LC] es inferior al 60 % y en donde

$$[LC] < (a * [LI]) + b$$

y en donde

$$[LC] > (c * [LI]) + d$$

y en donde

$$a = -0.62,$$

$$b = 0.85,$$

$$c = -0.58 \text{ y}$$

$$d = 0.38.$$

Tabla 5

Criterio	# de individuos que cumplen el criterio	# de individuos que quedaron embarazadas como resultado del ART en la población que cumple el criterio	% de éxito de embarazo dentro del grupo que cumple el criterio	% de fracaso del embarazo dentro del grupo que cumple el criterio
Población total	192	67	35 %	65 %
Uno de 4 parámetros:	34	2	6 %	94 %
1) presencia de <i>Gardnerella vaginalis</i> IST1,				
2) abundancia de especies de <i>Lactobacillus</i> <20 %				
3) abundancia de <i>L. jensenii</i> > 35 %				
4) <i>Proteobacteria</i> > 28 %				
<i>L. crispatus</i> > 60 %	65	15	23 %	77 %
<i>L. crispatus</i> <60 %	127	52	41 %	59 %
<i>L. iners</i> >60 %	38	19	50 %	50 %
a. $[LC] < 0.6 Y$	77	38	49 %	51 %
b. $[LC] < (-0.62 * [LI]) + 0.85 Y$				
c. $[LC] > (-0.58 * [LI]) + 0.38$				
Presencia de <i>Gardnerella vaginalis</i> IST1	17	2	12 %	88 %

Ejemplos

Ejemplo 1: Población de estudio

5 Este estudio prospectivo del microbioma vaginal de mujeres subfértiles en edad reproductiva se llevó a cabo en ocho centros de IVF en los Países Bajos. Los centros participantes fueron: Erasmus Medical Centre (Rotterdam), Radboud UMC (Nijmegen), UMC Utrecht (Utrecht), VU MC (Amsterdam), Isala kliniek (Zwolle), Sint Elisabeth Ziekenhuis (Tilburg), MC Kinderwens (Leiderdorp), MUMC+ (Maastricht). Las inclusiones se llevaron a cabo durante un período de casi un año (del 1 de junio de 2015 al 31 de marzo de 2016). El protocolo fue aprobado por la Junta de Revisión Institucional del Centro Médico de la Universidad Erasmus. Se obtuvo

10 el consentimiento informado por escrito de todos los participantes.

Se contactó a mujeres que visitaron la clínica ambulatoria de la clínica de salud reproductiva y que se esperaba que se sometieran a su primer procedimiento de IVF (con o sin ICSI) dentro de dos meses para participar en este estudio. Los criterios por cumplir fueron: mujeres entre 20 y 44 años y tener pareja masculina. Se excluyeron del estudio: mujeres con indicación de IVF de emergencia por cáncer u otros motivos, endometriosis

AFS III/IV y pretratadas con un análogo de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), uso de anticonceptivos hormonales 3 meses antes de iniciar la IVF o IVF-ICSI (uso exclusivo de 3 semanas de píldora anticonceptiva oral con el fin de regular el ciclo) y que tuvieran en su historial médico un embarazo o aborto espontáneo previo.

- 5 En este estudio, al principio se inscribieron 301 mujeres. Se excluyeron veintinueve pacientes según criterios de exclusión y otros 86 abandonaron el estudio por motivos personales o desconocidos. Se perdieron dos muestras por errores de manipulación, por lo que finalmente el estudio se realizó con muestras de 192 individuos.

Ejemplo 2: Materiales

- 10 Las participantes obtuvieron un hisopo vaginal por sí mismas antes del inicio del procedimiento de IVF o IVF-ICSI. Se eligió un método de autorecolección porque es mínimamente invasivo para el paciente y por lo tanto adecuado para uso en la práctica diaria. Las muestras vaginales fueron tomadas con FLOQSwabs™ (Copan Italia S.p.A., Italia) y se indicó a las participantes que insertaran el hisopo de 3-5 centímetros en la vagina y luego frotaran el hisopo a lo largo de la pared vaginal durante 10-15 segundos. Después de este procedimiento,
- 15 los hisopos se colocaron inmediatamente en tubos Eppendorf llenos con regulador de líquido de transporte reducido (RTF), obtenido de IS-Diagnostics (IS-Diagnostics, Ámsterdam, Países Bajos). Hasta el momento del análisis, las muestras se almacenaron entre -20 y -80 ° C en el congelador.

- Las muestras de orina se recolectaron en un dispositivo recolector de orina estéril de 100 ml. Se centrifugó una muestra de 10 ml durante 10 minutos a 1500 RCF. Se decantó el sobrenadante y se resuspendió el sedimento en 3 ml de orina. La muestra resuspendida se almacenó para su posterior procesamiento a -20 grados Celsius.
- 20

Las muestras fueron transportadas en hielo seco desde las 8 clínicas hasta el laboratorio microbiológico de IS-Diagnostics, donde se realizaron los análisis.

Ejemplo 3: aislamiento de ADN

- La extracción de ADN se realizó a partir de los hisopos vaginales con la máquina automatizada de extracción de ADN Chemagen (Chemagen, Baesweiler, Alemania) utilizando el kit de extracción de hisopos bucales de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Primero se descongelaron los hisopos y se agitaron. Se incubaron 200 µl de muestra con 200 µl de regulador de lisis Chemagen y 10 µl de proteinasa K (Qiagen, Hilden, Alemania) a 56 grados Celsius mientras se agitaba a 500 rpm. El ADN se extrajo utilizando el protocolo de pre llenado con hisopo bucal. La elución del ADN se realizó en 100 µl de regulador de elución Chemagen.
- 25
- El ADN se extrajo de suspensiones de orina concentradas con la máquina automatizada de extracción de ADN Chemagen (Perkin-Elmer, Baesweiler, Alemania) utilizando el kit de extracción con hisopo bucal de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En resumen, las muestras de orina se descongelaron y agitaron. Se incubaron 200 µl de muestra con 200 µl de regulador de lisis Chemagen y 10 µl de proteinasa K a 56 grados Celsius mientras se agitaba a 500 rpm. La elución del ADN se realizó en 100 µl de regulador de elución Chemagen.
- 30
- 35

Ejemplo 4: perfil interespacial (IS)

- La amplificación de las regiones de los espacios intergénicos (IS) se realizó con el ensayo IS-pro, de acuerdo con el protocolo proporcionado por el fabricante (IS-Diagnostics, Amsterdam, Países Bajos). IS-pro es una técnica eubacteriana con base en la detección y categorización de la longitud de la región IS del gen 16S-23S ARNr. La longitud de esta región IS es específica para cada especie microbiana. Para la clasificación taxonómica se utilizan cebadores de PCR marcados con fluorescencia específicos del filo.
- 40

- Brevemente, el procedimiento consta de dos PCR estándar separadas: la primera mezcla de PCR contiene dos cebadores directos diferentes marcados con fluorescencia que son direccionados a diferentes grupos bacterianos y tres cebadores antisentido que brindan una cobertura universal para esos grupos. El primer cebador sentido es específico para los filos Firmicutes, Actinobacteria, Fusobacteria y Verrucomicrobia (FAFV), y el segundo cebador sentido marcado es específico para el filo Bacteroidetes. Una PCR separada con un cebador sentido marcado combinado con siete cebadores antisentido es específica para el filo Proteobacteria [Budding, E. et al., J. Clin. Microbiol. (2016) 54: 934-943].
- 45

- El sistema de PCR GeneAmp 9700 (Applied Biosystems, Foster City, CA) realizó las amplificaciones. Después de la PCR, se mezclaron 5 µl de producto de PCR con 20 µl de formamida y 0.2 µl de marcador de tamaño personalizado (IS-Diagnostics). El análisis de fragmentos de ADN se realizó en un analizador genético ABI Prism 3500 (Applied Biosystems). Los datos se analizaron con el paquete de software propietario IS-pro (IS-Diagnostics) y los resultados se presentan como perfiles microbianos. La llamada automática de especies de picos IS-pro se realizó con el paquete de software IS-pro dedicado (IS-Diagnostics), en el que los picos están vinculados a una base de datos que contiene información del perfil IS de > 500 especies microbianas. Los picos de <128 unidades relativas de fluorescencia (RFU) se consideraron ruido de fondo y se descartaron de análisis
- 50
- 55

posteriores. Todo el procedimiento, desde el aislamiento del ADN hasta los datos analizados, se realizó en 5 horas.

Ejemplo 5: Medición de resultados

- 5 Se utilizó como criterio de valoración el resultado del embarazo después de la primera transferencia de embriones (ET). El embarazo en curso se definió como un feto con actividad cardíaca establecida mediante ecografía entre las semanas 7 y 9 de gestación.

Ejemplo 6: Determinación de *Gardnerella vaginalis* IST1

- 10 La *Gardnerella vaginalis* IST1 se identificó realizando un análisis de población microbiana vaginal con la técnica IS-pro. *G.vaginalis* IST1 se detectó por la presencia de un fragmento IS específico con una longitud de 428-430 nucleótidos.

Ejemplo 7: Determinación del microbioma

- 15 El análisis del microbioma se realizó con la técnica IS-pro como se describió anteriormente [Automated Broad-Range Molecular Detection of Bacteria in Clinical Samples. Budding AE, Hoogewerf M, Vandenbroucke-Grauls CM, Savelkoul PH.. J Clin Microbiol. 2016 Apr;54(4):934-43. doi: 10.1128/JCM.02886-15. Epub 2016 Jan 13; IS-pro: highthroughput molecular fingerprinting of the intestinal microbiota., Budding AE, Grasman ME, Lin F, Bogaards JA, Soeltan-Kaersenhout DJ, Vandenbroucke-Grauls CM, van Bodegraven AA, Savelkoul PH.]

Tabla 1: Composición microbiana de la flora vaginal: predicción de la probabilidad de fracaso del procedimiento ART.

ID de la muestra	G vaginalis	Lactobacilos totales	<i>L. jensenii</i>	Proteobacteria total	Predicción	Resultado	Tratamiento
F34	34.93 %	0.00 %	0.00 %	0.00 %	no embarazada	no embarazada	VF
B83	17.61 %	44.59 %	0.00 %	0.00 %	no embarazada	no embarazada	ICI
C1	4.03 %	80.36 %	80.36 %	0.00 %	no embarazada	no embarazada	ICI
H9	1.63 %	95.51 %	0.00 %	0.00 %	no embarazada	no embarazada	VF
B59	0.00 %	15.42 %	0.00 %	0.00 %	no embarazada	no embarazada	ICI
B17	5.05 %	70.82 %	4.38 %	0.00 %	no embarazada	no embarazada	ICI
H3	0.71 %	86.97 %	31.60 %	0.00 %	no embarazada	no embarazada	VF
B13	0.00 %	94.44 %	87.61 %	0.89 %	no embarazada	no embarazada	ICI
B15	0.00 %	0.42 %	0.00 %	4.72 %	no embarazada	no embarazada	VF
F40	0.00 %	0.00 %	0.00 %	5.33 %	no embarazada	no embarazada	VF
A16	0.52 %	1.38 %	0.00 %	5.42 %	no embarazada	no embarazada	VF
C25	0.00 %	0.00 %	0.00 %	8.03 %	no embarazada	no embarazada	ICI
B11	0.00 %	63.86 %	63.86 %	8.99 %	no embarazada	no embarazada	ICI
F23	0.00 %	17.49 %	0.0 %	9.85 %	no embarazada	no embarazada	ICI
B88	6.49 %	0.00 %	0.00 %	21.38 %	no embarazada	no embarazada	ICI
F6	14.46 %	37.47 %	0.00 %	29.15 %	no embarazada	no embarazada	VF
F16	0.00 %	62.27 %	0.00 %	36.91 %	no embarazada	no embarazada	ICI
H7	3.08 %	17.47 %	0.00 %	23.15 %	no embarazada	embarazada	VF
A32	0.00 %	15.93 %	0.00 %	29.43 %	no embarazada	no embarazada	ICI
B18	0.00 %	14.88 %	0.00 %	7.03 %	no embarazada	no embarazada	ICI
B65	3.05 %	23.59 %	0.00 %	22.67 %	no embarazada	no embarazada	ICI
D3	0.54 %	34.58 %	0.00 %	1.30 %	no embarazada	embarazada	ICI
C11	10.62 %	24.40 %	0.00 %	6.21 %	no embarazada	no embarazada	ICI
B54	0.51 %	31.39 %	0.00 %	6.92 %	no embarazada	no embarazada	ICI
B45	0.00 %	37.63 %	0.00 %	29.62 %	no embarazada	no embarazada	VF
A41	0.00 %	52.79 %	0.00 %	46.04 %	no embarazada	no embarazada	ICI
D2	0.00 %	98.29 %	54.36 %	0.00 %	no embarazada	no embarazada	ICI
C47	1.60 %	45.01 %	0.00 %	21.76 %	no embarazada	no embarazada	ICI
C10	0.00 %	99.61 %	49.94 %	0.00 %	no embarazada	no embarazada	ICI
F28	0.00 %	93.98 %	40.79 %	6.02 %	no embarazada	no embarazada	ICI

ID de la muestra	G vaginales	Lactobacilos totales	L. jensenii	Proteobacteria total	Prediccion	Resultado	Tratamiento
F32	3.12 %	76.89 %	0.00 %	2.54 %	no embarazada	no embarazada	ICSI
F10	0.00 %	59.16 %	0.00 %	40.36 %	no embarazada	no embarazada	IVF
E38	0.00 %	95.46 %	35.98 %	0.00 %	no embarazada	no embarazada	ICSI
B41	6.45 %	68.57 %	0.00 %	0.00 %	no embarazada	no embarazada	IVF
C4	0.00 %	80.13 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
G3	0.00 %	99.36 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
F33	0.00 %	76.12 %	1.08 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F42	0.00 %	77.08 %	12.17 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
E7	0.00 %	72.39 %	27.61 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
C3	0.00 %	98.29 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
B61	0.00 %	78.65 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
E40	0.00 %	100.00 %	19.29 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
E44	0.00 %	100.00 %	12.73 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
E47	0.00 %	97.84 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
B29	0.00 %	100.00 %	1.82 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B28	0.00 %	100.00 %	1.79 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
E26	0.00 %	100.00 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
D6	0.00 %	100.00 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
H5	0.00 %	95.46 %	3.11 %	0.94 %	embarazada	no embarazada	ICSI
C20	0.00 %	58.17 %	4.18 %	1.18 %	embarazada	no embarazada	ICSI
C32	0.00 %	93.91 %	0.00 %	3.03 %	embarazada	no embarazada	IVF
F12	0.00 %	89.56 %	0.00 %	3.33 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B67	0.00 %	93.26 %	0.00 %	3.65 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B71	0.00 %	95.30 %	3.84 %	4.70 %	embarazada	no embarazada	IVF
B63	0.00 %	96.09 %	0.00 %	4.91 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B90	0.00 %	94.80 %	0.00 %	5.20 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B49	0.00 %	94.75 %	0.00 %	5.25 %	embarazada	no embarazada	ICSI
E57	0.00 %	91.93 %	0.00 %	5.81 %	embarazada	no embarazada	ICSI
E8	0.00 %	93.62 %	0.00 %	6.38 %	embarazada	no embarazada	IVF
F38	0.00 %	80.94 %	0.00 %	6.80 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F15	0.00 %	92.32 %	0.00 %	7.04 %	embarazada	no embarazada	IVF

ID de la muestra	G. vaginalis	Lactobacilos totales	L. jensenii	Proteobacteria total	Prediccion	Resultado	Tratamiento
A15	0.00 %	91.16 %	0.00 %	6.94 %	embarazada	no embarazada	IVF
A22	0.00 %	73.68 %	0.00 %	9.37 %	embarazada	no embarazada	ICSI
C53	0.00 %	90.59 %	9.00 %	9.41 %	embarazada	no embarazada	ICSI
A21	0.00 %	65.89 %	0.00 %	9.53 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F13	0.00 %	90.41 %	0.00 %	9.59 %	embarazada	no embarazada	IVF
A19	0.00 %	69.78 %	1.05 %	10.22 %	embarazada	no embarazada	ICSI
A16	0.00 %	77.71 %	0.00 %	12.12 %	embarazada	no embarazada	ICSI
C39	0.00 %	85.32 %	0.00 %	12.44 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F9	0.00 %	29.92 %	0.00 %	12.70 %	embarazada	no embarazada	IVF
D21	0.00 %	85.39 %	15.74 %	14.26 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F17	0.00 %	85.66 %	1.69 %	14.34 %	embarazada	no embarazada	IVF
A20	0.00 %	81.20 %	0.00 %	15.55 %	embarazada	no embarazada	ICSI
A36	0.00 %	82.86 %	7.96 %	17.14 %	embarazada	no embarazada	ICSI
D23	0.00 %	79.02 %	3.62 %	20.15 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F36	0.00 %	99.44 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
B76	0.00 %	100.00 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	embarazada	IVF
B30	0.00 %	65.88 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
B40	0.00 %	28.77 %	24.53 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
B37	0.00 %	77.53 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
B6	0.00 %	96.10 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
B72	0.00 %	87.70 %	32.73 %	0.79 %	embarazada	embarazada	ICSI
B64	0.00 %	99.21 %	0.00 %	0.79 %	embarazada	embarazada	ICSI
B84	0.00 %	70.61 %	14.28 %	0.80 %	embarazada	embarazada	ICSI
B3	0.00 %	99.19 %	28.33 %	0.81 %	embarazada	embarazada	IVF
C14	0.00 %	75.92 %	16.39 %	1.12 %	embarazada	embarazada	ICSI
F37	0.00 %	65.77 %	0.00 %	1.43 %	embarazada	embarazada	ICSI
C36	0.00 %	92.91 %	1.14 %	2.42 %	embarazada	embarazada	ICSI
C33	0.00 %	97.29 %	0.00 %	2.71 %	embarazada	embarazada	IVF
B44	0.00 %	91.38 %	0.00 %	2.87 %	embarazada	embarazada	ICSI
B12	0.00 %	96.88 %	0.00 %	3.12 %	embarazada	embarazada	IVF
A3	0.00 %	92.46 %	0.00 %	5.65 %	embarazada	embarazada	ICSI

ID de la muestra	G. vaginalis	Lactobacilos totales	L. jensenii	Proteobacteria total	Predicción	Resultado	Tratamiento
A5	0.00 %	67.98 %	23.08 %	7.01 %	embarazada	embarazada	ICSI
A40	0.00 %	86.26 %	0.00 %	7.03 %	embarazada	embarazada	IVF
B53	0.00 %	74.76 %	0.00 %	7.77 %	embarazada	embarazada	ICSI
F26	0.00 %	61.78 %	0.00 %	8.36 %	embarazada	embarazada	IVF
A23	0.00 %	84.41 %	32.28 %	14.15 %	embarazada	embarazada	ICSI
A26	0.00 %	66.14 %	0.00 %	19.43 %	embarazada	embarazada	ICSI
F35	0.00 %	95.34 %	0.00 %	4.14 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B36	0.00 %	92.76 %	2.70 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B85	0.00 %	71.82 %	0.00 %	0.62 %	embarazada	embarazada	ICSI
A10	0.00 %	87.21 %	8.77 %	12.79 %	embarazada	no embarazada	IVF
B19	0.00 %	98.50 %	10.85 %	1.50 %	embarazada	no embarazada	ICSI
C42	0.00 %	92.66 %	0.00 %	7.35 %	embarazada	no embarazada	ICSI
E18	0.00 %	98.98 %	0.00 %	1.01 %	embarazada	no embarazada	IVF
A47	0.00 %	91.06 %	1.65 %	8.94 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B70	0.00 %	96.30 %	6.57 %	3.70 %	embarazada	no embarazada	ICSI
E36	0.00 %	84.73 %	8.84 %	5.38 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F20	0.00 %	77.54 %	0.00 %	22.46 %	embarazada	embarazada	ICSI
F1	0.00 %	65.95 %	33.17 %	14.05 %	embarazada	embarazada	ICSI
H8	0.00 %	93.77 %	3.55 %	4.53 %	embarazada	no embarazada	IVF
C55	0.00 %	21.54 %	0.00 %	16.63 %	embarazada	embarazada	ICSI
F8	0.00 %	75.26 %	0.00 %	16.63 %	embarazada	embarazada	ICSI
B47	0.00 %	79.87 %	9.26 %	18.41 %	embarazada	no embarazada	ICSI
C28	0.00 %	96.89 %	9.70 %	2.06 %	embarazada	embarazada	ICSI
B7	0.00 %	98.16 %	10.54 %	0.77 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B55	0.00 %	99.64 %	31.26 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
C18	0.00 %	98.72 %	1.22 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
E32	0.00 %	93.00 %	7.61 %	0.00 %	embarazada	embarazada	IVF
A8	0.00 %	90.23 %	0.00 %	9.41 %	embarazada	no embarazada	IVF
F5	0.00 %	78.48 %	4.45 %	19.45 %	embarazada	embarazada	IVF
F11	0.00 %	67.61 %	0.00 %	27.32 %	embarazada	embarazada	ICSI
H6	0.00 %	97.93 %	6.39 %	0.93 %	embarazada	embarazada	IVF

ID de la muestra	G. vaginalis	Lactobacilos totales	L. jensenii	Protección total	Predicción	Resultado	Tratamiento
B39	0.00 %	86.13 %	0.00 %	11.09 %	embarazada	embarazada	IVF
E59	0.00 %	81.37 %	4.64 %	9.81 %	embarazada	embarazada	IVF
G1	0.00 %	30.30 %	0.00 %	5.33 %	embarazada	no embarazada	ICSI
E29	0.00 %	95.59 %	7.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
A29	0.00 %	43.74 %	0.00 %	16.69 %	embarazada	embarazada	IVF
B27	0.00 %	99.52 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
B25	0.00 %	99.41 %	1.22 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
C51	0.00 %	53.99 %	3.71 %	13.15 %	embarazada	embarazada	ICSI
E46	0.00 %	93.85 %	0.00 %	6.15 %	embarazada	embarazada	ICSI
C60	0.00 %	66.98 %	0.00 %	0.46 %	embarazada	embarazada	ICSI
D9	0.00 %	99.14 %	7.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
E39	0.00 %	99.52 %	12.88 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
A42	0.00 %	47.33 %	0.48 %	27.49 %	embarazada	no embarazada	IVF
B4	0.00 %	94.75 %	0.00 %	2.23 %	embarazada	no embarazada	IVF
B10	0.00 %	74.81 %	5.17 %	3.21 %	embarazada	no embarazada	ICSI
E49	0.00 %	93.07 %	13.74 %	6.93 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B61	0.00 %	43.79 %	0.00 %	16.35 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B20	0.00 %	96.72 %	0.00 %	0.81 %	embarazada	no embarazada	ICSI
E19	0.00 %	97.20 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
F2	0.00 %	53.49 %	0.00 %	17.92 %	embarazada	no embarazada	IVF
A45	0.00 %	84.93 %	0.00 %	14.02 %	embarazada	no embarazada	IVF
F41	0.00 %	46.28 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
F31	0.00 %	92.91 %	11.40 %	6.48 %	embarazada	no embarazada	IVF
F21	0.00 %	94.22 %	0.00 %	5.78 %	embarazada	embarazada	ICSI
A4	0.00 %	86.95 %	5.54 %	8.72 %	embarazada	no embarazada	IVF
E50	0.00 %	95.47 %	2.79 %	4.53 %	embarazada	embarazada	ICSI
F39	0.00 %	96.02 %	0.55 %	3.55 %	embarazada	embarazada	ICSI
C13	0.00 %	91.98 %	2.47 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
B14	0.00 %	97.03 %	1.84 %	1.31 %	embarazada	no embarazada	ICSI
C21	0.00 %	100.00 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
F24	0.00 %	94.81 %	1.60 %	4.52 %	embarazada	no embarazada	ICSI

ID de la muestra	G. vaginalis	Lactobacilos totales	L. jensenii	Proteobacteria total	Predicción	Resultado	Tratamiento
C15	0.00 %	77.16 %	18.79 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICI
D22	0.00 %	89.87 %	0.00 %	10.03 %	embarazada	embarazada	IVF
C56	0.00 %	100.00 %	34.59 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICI
C38	0.00 %	96.50 %	20.08 %	11.42 %	embarazada	embarazada	ICI
B69	0.00 %	95.88 %	28.43 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICI
B78	0.00 %	92.96 %	0.00 %	4.72 %	embarazada	embarazada	ICI
A24	0.00 %	84.77 %	13.68 %	13.93 %	embarazada	no embarazada	IVF
C40	0.00 %	87.50 %	0.00 %	12.50 %	embarazada	no embarazada	IVF
C43	0.00 %	88.10 %	14.75 %	11.41 %	embarazada	no embarazada	ICI
A2	0.00 %	80.15 %	7.53 %	19.07 %	embarazada	embarazada	ICI
E52	0.00 %	68.93 %	0.00 %	7.08 %	embarazada	embarazada	ICI
C31	0.00 %	98.89 %	24.03 %	1.11 %	embarazada	embarazada	ICI
A25	0.00 %	97.50 %	22.55 %	1.39 %	embarazada	embarazada	IVF
C49	0.00 %	75.18 %	0.00 %	6.93 %	embarazada	embarazada	ICI
B87	0.00 %	75.19 %	0.00 %	20.94 %	embarazada	no embarazada	ICI
D14	0.00 %	93.16 %	0.00 %	5.35 %	embarazada	no embarazada	IVF
B9	0.00 %	96.41 %	0.00 %	3.00 %	embarazada	embarazada	ICI
C30	0.00 %	96.07 %	0.00 %	1.94 %	embarazada	embarazada	ICI
A13	0.00 %	85.00 %	4.65 %	12.89 %	embarazada	embarazada	IVF
F22	0.00 %	80.52 %	0.00 %	7.63 %	embarazada	no embarazada	ICI
D20	0.00 %	94.40 %	0.00 %	5.60 %	embarazada	no embarazada	IVF
A30	0.00 %	82.46 %	0.00 %	15.75 %	embarazada	no embarazada	ICI
A43	0.00 %	81.82 %	0.00 %	16.76 %	embarazada	embarazada	ICI
F30	0.00 %	83.95 %	0.00 %	15.26 %	embarazada	no embarazada	IVF/ICI
A14	0.00 %	84.41 %	0.00 %	10.73 %	embarazada	no embarazada	ICI
B36	0.00 %	88.61 %	0.00 %	10.61 %	embarazada	embarazada	IVF
A12	0.00 %	90.33 %	0.00 %	8.56 %	embarazada	no embarazada	IVF
D15	0.00 %	89.45 %	0.00 %	9.06 %	embarazada	no embarazada	ICI
A7	0.00 %	89.88 %	0.00 %	8.26 %	embarazada	embarazada	ICI
F14	0.00 %	99.13 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICI
F19	0.00 %	90.53 %	0.00 %	8.87 %	embarazada	no embarazada	ICI

ID de la muestra	G vaginalis	Lactobacilos totales	L. jensenii	Proteobacteria total	Predicción	Resultado	Tratamiento
B33	0.00 %	90.60 %	0.00 %	8.81 %	embarazada	no embarazada	IVF
C23	0.00 %	97.67 %	7.02 %	1.79 %	embarazada	no embarazada	iCSI
B77	0.00 %	96.25 %	5.11 %	0.00 %	embarazada	embarazada	iCSI
B42	0.00 %	93.63 %	0.00 %	2.01 %	embarazada	embarazada	iCSI
B57	0.00 %	97.90 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	embarazada	IVF
B24	0.00 %	96.73 %	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	iCSI
B5	0.00 %	96.86 %	0.00 %	1.46 %	embarazada	no embarazada	iCSI

Tabla 4: Composición microbiana de la flora vaginal; predicción de la probabilidad de fracaso del procedimiento ART.

ID de la muestra	L. crispatus	L. iners	Predicción	Resultado	Tratamiento
F20	58.91 %	18.63 %	embarazada	embarazada	ICSI
B39	58.24 %	29.89 %	embarazada	embarazada	IVF
E48	57.83 %	36.02 %	embarazada	embarazada	ICSI
E32	57.50 %	27.89 %	embarazada	embarazada	IVF
B85	57.46 %	2.51 %	embarazada	embarazada	ICSI
E19	52.87 %	44.33 %	embarazada	embarazada	ICSI
F8	52.73 %	22.53 %	embarazada	embarazada	ICSI
A23	52.13 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
C14	49.36 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
E59	46.47 %	30.27 %	embarazada	embarazada	IVF
F5	44.90 %	29.12 %	embarazada	embarazada	IVF
F39	42.43 %	53.04 %	embarazada	embarazada	ICSI
B55	42.17 %	26.20 %	embarazada	embarazada	ICSI
B72	40.99 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
E50	40.00 %	52.68 %	embarazada	embarazada	ICSI
F11	38.29 %	29.32 %	embarazada	embarazada	ICSI
C13	36.40 %	53.11 %	embarazada	embarazada	ICSI
F1	33.57 %	19.22 %	embarazada	embarazada	ICSI
A26	30.90 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
C60	30.73 %	36.24 %	embarazada	embarazada	ICSI
F26	23.83 %	0.00 %	embarazada	embarazada	IVF
A5	20.93 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
B9	16.84 %	79.57 %	embarazada	embarazada	ICSI
C30	16.34 %	79.73 %	embarazada	embarazada	ICSI
E52	16.23 %	72.70 %	embarazada	embarazada	ICSI
C51	14.89 %	35.39 %	embarazada	embarazada	ICSI
B40	4.24 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
B57	3.34 %	94.56 %	embarazada	embarazada	IVF
B30	2.77 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
B84	0.55 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
F36	0.00 %	0.00 %	embarazada	embarazada	ICSI
B76	73.00 %	27.00 %	embarazada	embarazada	IVF
A40	0.00 %	0.00 %	embarazada	embarazada	IVF
C55	0.00 %	21.54 %	embarazada	embarazada	ICSI
A29	0.00 %	31.04 %	embarazada	embarazada	IVF
F41	0.00 %	46.28 %	embarazada	embarazada	ICSI
F21	0.00 %	50.96 %	embarazada	embarazada	ICSI
D22	0.00 %	65.08 %	embarazada	embarazada	IVF
C56	0.00 %	65.41 %	embarazada	embarazada	ICSI

ES 2 983 948 T3

ID de la muestra	L. crispatus	L. iners	Predicción	Resultado	Tratamiento
C38	0.00 %	66.42 %	embarazada	embarazada	ICSI
B69	0.00 %	67.45 %	embarazada	embarazada	ICSI
B78	0.00 %	70.19 %	embarazada	embarazada	ICSI
A2	0.00 %	72.62 %	embarazada	embarazada	ICSI
C31	0.00 %	74.86 %	embarazada	embarazada	ICSI
A25	0.00 %	74.95 %	embarazada	embarazada	IVF
C49	0.00 %	75.18 %	embarazada	embarazada	ICSI
A13	0.00 %	80.34 %	embarazada	embarazada	IVF
A43	0.00 %	81.82 %	embarazada	embarazada	ICSI
B38	0.00 %	88.61 %	embarazada	embarazada	IVF
A7	0.00 %	89.86 %	embarazada	embarazada	ICSI
B77	0.00 %	91.14 %	embarazada	embarazada	ICSI
B42	0.00 %	93.63 %	embarazada	embarazada	ICSI
E29	58.01 %	30.58 %	embarazada	no embarazada	ICSI
E36	57.47 %	18.62 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B4	55.67 %	39.08 %	embarazada	no embarazada	IVF
D9	55.28 %	36.86 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B20	54.81 %	43.91 %	embarazada	no embarazada	ICSI
C20	53.99 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B27	51.55 %	31.46 %	embarazada	no embarazada	IVF
E39	49.12 %	37.51 %	embarazada	no embarazada	IVF
B47	47.04 %	23.57 %	embarazada	no embarazada	ICSI
C21	42.67 %	57.33 %	embarazada	no embarazada	IVF
B14	40.89 %	54.30 %	embarazada	no embarazada	ICSI
A45	39.73 %	45.20 %	embarazada	no embarazada	IVF
E49	36.14 %	43.19 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F24	35.67 %	57.54 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F31	32.89 %	48.63 %	embarazada	no embarazada	IVF
A4	30.38 %	51.03 %	embarazada	no embarazada	IVF
B10	29.68 %	39.96 %	embarazada	no embarazada	ICSI
D14	16.50 %	76.65 %	embarazada	no embarazada	IVF
C40	15.67 %	71.83 %	embarazada	no embarazada	IVF
D20	13.13 %	81.27 %	embarazada	no embarazada	IVF
A42	9.19 %	37.67 %	embarazada	no embarazada	IVF
F2	9.03 %	44.46 %	embarazada	no embarazada	IVF
A20	2.27 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
C43	1.53 %	71.91 %	embarazada	no embarazada	ICSI
A12	1.39 %	88.93 %	embarazada	no embarazada	IVF
A30	1.11 %	81.34 %	embarazada	no embarazada	ICSI
C4	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF

ES 2 983 948 T3

ID de la muestra	L. crispatus	L. iners	Predicción	Resultado	Tratamiento
G3	82.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
F33	45.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F42	73.00 %	4.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
E7	62.00 %	10.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
E8	93.62 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
A22	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F9	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
G1	0.00 %	30.30 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B61	0.00 %	43.79 %	embarazada	no embarazada	ICSI
C15	0.00 %	58.38 %	embarazada	no embarazada	ICSI
A24	0.00 %	71.08 %	embarazada	no embarazada	IVF
B87	0.00 %	75.19 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F22	0.00 %	80.52 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F30	0.00 %	83.95 %	embarazada	no embarazada	IVF/ICSI
A14	0.00 %	84.41 %	embarazada	no embarazada	ICSI
D15	0.00 %	89.45 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F14	0.00 %	90.12 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F19	0.00 %	90.53 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B33	0.00 %	90.60 %	embarazada	no embarazada	IVF
C23	0.00 %	90.65 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B24	0.00 %	96.73 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B5	0.00 %	96.86 %	embarazada	no embarazada	ICSI
D3	10.82 %	23.76 %	embarazada	embarazada	ICSI
H7	4.06 %	13.42 %	embarazada	embarazada	IVF
H3	55.17 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
B17	36.44 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F32	19.15 %	57.74 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B59	15.42 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
A41	9.26 %	43.53 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B65	4.55 %	19.04 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B45	2.78 %	34.85 %	embarazada	no embarazada	IVF
B41	1.41 %	67.16 %	embarazada	no embarazada	IVF
A32	1.40 %	14.54 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F34	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
B83	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
C1	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
H9	95.51 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
B13	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B15	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
F40	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF

ES 2 983 948 T3

ID de la muestra	L. crispatus	L. iners	Predicción	Resultado	Tratamiento
A18	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
C25	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B11	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F23	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B88	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F6	0.00 %	0.00 %	embarazada	no embarazada	IVF
B18	0.00 %	14.88 %	embarazada	no embarazada	ICSI
C11	0.00 %	24.40 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B54	0.00 %	31.39 %	embarazada	no embarazada	ICSI
D2	0.00 %	43.93 %	embarazada	no embarazada	ICSI
C47	0.00 %	45.01 %	embarazada	no embarazada	ICSI
C10	0.00 %	49.67 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F28	0.00 %	53.18 %	embarazada	no embarazada	ICSI
F10	0.00 %	59.16 %	embarazada	no embarazada	IVF
E38	0.00 %	59.48 %	embarazada	no embarazada	ICSI
B64	99.21 %	0.00 %	No embarazada	embarazada	ICSI
C33	97.29 %	0.00 %	No embarazada	embarazada	IVF
B12	96.88 %	0.00 %	No embarazada	embarazada	IVF
B6	96.10 %	0.00 %	No embarazada	embarazada	ICSI
B44	91.38 %	0.00 %	No embarazada	embarazada	ICSI
C36	91.17 %	0.00 %	No embarazada	embarazada	ICSI
F37	85.77 %	0.00 %	No embarazada	embarazada	ICSI
B37	77.53 %	0.00 %	No embarazada	embarazada	ICSI
B53	74.76 %	0.00 %	No embarazada	embarazada	ICSI
B3	70.86 %	0.00 %	No embarazada	embarazada	IVF
A3	69.20 %	0.00 %	No embarazada	embarazada	ICSI
C28	63.01 %	24.18 %	No embarazada	embarazada	ICSI
H6	61.85 %	29.68 %	No embarazada	embarazada	IVF
B26	100.00 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
D6	100.00 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	IVF
B28	98.21 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
B29	98.08 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
E47	97.84 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	IVF
B63	95.09 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
B49	94.75 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
F35	93.59 %	1.74 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
B67	93.28 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
H5	92.35 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
F15	92.32 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	IVF
E57	91.98 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI

ES 2 983 948 T3

ID de la muestra	L. crispatus	L. iners	Predicción	Resultado	Tratamiento
B71	91.45 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	IVF
A15	91.16 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	IVF
F13	90.41 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	IVF
F12	89.56 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
A19	88.73 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
B36	88.02 %	2.04 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
E44	87.27 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	IVF
F17	83.96 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	IVF
B19	83.50 %	4.15 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
E18	81.59 %	17.40 %	No embarazada	no embarazada	IVF
F38	80.94 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
E40	80.71 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
B51	78.65 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
A16	77.71 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
C32	77.60 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	IVF
C42	77.31 %	15.35 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
B90	76.46 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
D23	75.21 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
C3	74.35 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	IVF
C39	72.78 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
B70	71.92 %	17.81 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
A47	71.75 %	17.65 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
H8	70.75 %	19.37 %	No embarazada	no embarazada	IVF
C18	70.00 %	27.50 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
D21	69.64 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
A21	65.89 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
A36	65.38 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
B25	65.07 %	33.12 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
A10	63.73 %	2.71 %	No embarazada	no embarazada	IVF
B7	62.95 %	24.66 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
A8	62.17 %	28.05 %	No embarazada	no embarazada	IVF
C53	61.89 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI
F 16	62.27 %	0.00 %	No embarazada	no embarazada	ICSI

REIVINDICACIONES

1. Un método para predecir la probabilidad de que un procedimiento de tecnología de reproducción asistida (ART) no dé como resultado un embarazo, en donde se analiza una muestra de una hembra de mamífero tomada antes o durante el procedimiento de ART para determinar:
 - 5 a) la presencia de *Gardnerella vaginalis* IST1,
 - b) abundancia relativa de especies de *Lactobacillus*,
 - c) abundancia relativa de *Lactobacillus jensenii*, y
 - d) abundancia relativa de *Proteobacteria*,
- 10 y en donde se concluye que el sujeto tiene una alta probabilidad de no quedar embarazada como resultado del procedimiento ART si se aplica al menos uno de los siguientes:
 - I. la muestra comprende *Gardnerella vaginalis* IST1;
 - II. la abundancia relativa de especies de *Lactobacillus* está por debajo de un valor del 20 %;
 - III. la abundancia relativa de *Lactobacillus jensenii* está por encima de un valor del 35 %; o
 - IV. la abundancia relativa de *Proteobacteria* está por encima de un valor del 28 %,
- 15 en donde *Gardnerella vaginalis* IST1 se define como una especie de *Gardnerella vaginalis* que da como resultado un fragmento IS específico con una longitud de 428, 429 o 430 nucleótidos cuando se amplifica con cebadores de acuerdo con la SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2, para aplicar a un análisis microbiano vaginal, en donde la muestra es un hisopo vaginal o una muestra de orina.
- 20 2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la presencia de *Gardnerella vaginalis* IST1 se determina mediante una reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (PCR).
3. El método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde el sujeto mamífero es un humano.
4. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el procedimiento ART es un procedimiento de fertilización in vitro (IVF), tal como un procedimiento de inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI).

25

10367

