



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.10.31

(51) Int. Cl. **C12Q 1/689** (2018.01)
G01N 33/68 (2006.01)

(21) Номер заявки
202092443

(22) Дата подачи заявки
2019.05.09

**(54) СПОСОБ И НАБОР ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ПРОЦЕДУРЫ
ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ**

(31) **18173578.8**

(32) **2018.05.22**

(33) **EP**

(43) **2021.04.26**

(86) **PCT/EP2019/061967**

(87) **WO 2019/224012 2019.11.28**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АРТПРЕД Б.В. (NL)

(72) Изобретатель:
**Де Йонге Йонатан Деннис, Бюдинг
Дрис, Де Мённик Юп (NL)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) T. HAAHR ET AL.: "Abnormal vaginal microbiota may be associated with poor reproductive outcomes: a prospective study in IVF patients", HUMAN REPRODUCTION, vol. 31, no. 4, 23 February 2016 (2016-02-23), pages 795-803, XP055492354, GB ISSN: 0268-1161, DOI: 10.1093/humrep/dew026, the whole document
J. MANGOT-BERTRAND ET AL.: "Molecular diagnosis of bacterial vaginosis: impact on IVF outcome", EUROPEAN JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY 6 INFECTIOUS DISEASES., vol. 32, no. 4, 7 November 2012

(2012-11-07), pages 535-541, XP055492356, DE ISSN: 0934-9723, DOI: 10.1007/s10096-012-1770-z, see whole doc. esp. p. 535, 2. col., 2. par. ff, Table 2,
HELMY SELMAN ET AL.: "Examination of bacterial contamination at the time of embryo transfer, and its impact on the IVF/pregnancy outcome", JOURNAL OF ASSISTED REPRODUCTION AND GENETICS, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS-PLENUM PUBLISHERS, NE, vol. 24, no. 9, 17 July 2007 (2007-07-17), pages 395-399, XP019528306, ISSN: 1573-7330, DOI: 10.1007/S10815-007-9146-5, cited in the application, see whole doc. esp. Table 2,
ECKERT L. O. ET AL.: "Relationship of vaginal bacteria and inflammation with conception and early pregnancy loss following in-vitro fertilization", INFECTIOUS DISEASES IN OBSTETRICS AND GYNECOLOGY, WILEY-LISS, NEW YORK, NY, US, vol. 11, no. 1, 1 January 2003 (2003-01-01), pages 11-17, XP002671987, ISSN: 1064-7449, DOI: 10.1155/S1064744903000024, see whole doc. esp. page 2, 2. col., 1 par.

WO-A1-2013025095

EP-A1-1985712

KOEDODDER R. ET AL.: "The vaginal microbiome as predictor for in vitro fertilization with or without intracytoplasmic sperm injection outcome, a prospective study", HUMAN REPRODUCTION, vol. 33, no. Suppl. 1, 1 July 2018 (2018-07-01), page i113, XP002791934, the whole document

(57) Изобретение относится к области репродукции человека, в особенности к ситуациям, в которых репродукция человека неудачна. В настоящем изобретении предложены надежные и высокоточные способы прогнозирования шанса того, что процедура вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), такая как экстракорпоральное оплодотворение и интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида (ИКСИ), не приведет к успешной беременности. В рамках настоящего изобретения также предложены средства и способы для прогнозирования шанса того, что процедура вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), такая как экстракорпоральное оплодотворение и интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида (ИКСИ), приведет к успешной беременности.

Область техники

Настоящее изобретение относится к области репродукции человека, в особенности к ситуациям, в которых репродукция человека неудачна. В настоящее изобретение предложен надежный и высокоточный способ прогнозирования шанса того, что процедура вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), такая как экстракорпоральное оплодотворение и интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида (ИКСИ), не приведет к успешной беременности. В настоящем изобретении также предложены средства и способы для прогнозирования шанса того, что процедура вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), таких как экстракорпоральное оплодотворение и интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида (ИКСИ), приведет к успешной беременности.

Уровень техники

Субфертильность затрагивает от 10 до 15% пар западной части мира. Такая субфертильность в половине случаев может быть отнесена к причинам, связанным с женской репродуктивной системой, в 20-26% - с мужской, и в 25-30% причина неизвестна (Evers, J. L, 2002, Lancet 360:151-159). Многие пары обращаются к вспомогательным репродуктивным технологиям (ВРТ), таким как экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) или интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида (ИКСИ), чтобы осуществить свое желание завести ребенка.

Вероятность успеха этих методик составляет около 25% на начатый цикл (Andersen, A. et al., 2007, Hum. Reprod. 22:1513-1525). Если можно было улучшить этот показатель успешного исхода, то это было бы очень выгодно как эмоционально, так и экономически.

Кроме того, учитывая личную и социальную нагрузку процедур ВРТ, желательно выявить пары с низкими шансами на успех на самом раннем этапе процедуры, чтобы им можно было предложить альтернативные процедуры для осуществления их желания завести ребенка.

Таким образом, как для улучшения подходов к лечению, так и для принятия решения в отдельных случаях о том, следует ли продолжать лечение, необходимы модели, которые могут точно прогнозировать, что женщина не забеременеет, и что женщина родит живого ребенка после ЭКО/ИКСИ.

Уже более десяти лет существуют модели, которые прогнозируют шанс рождения живого ребенка на основе клинических данных, включая возраст, количество предыдущих неудачных попыток ЭКО и вероятную причину бесплодия (Templeton, W. et al., 1996, Lancet 348:1402-1406). Нельсон и Лоулор (Nelson, S.M. and Lawlor D.A. 2011, PLOS Medicine 8:1-10) разработали модель, основанную на собранных данных из более чем 140 000 женщин, с использованием стратификации по возрасту и причине бесплодия, используемой процедуре (или процедуре, которая будет использована), источника яйцеклетки и продолжительности желанья иметь ребенка. В публикации Салеман и другие (J. Assisted Reproduction and Genetics 24: 395-399 (2007)) раскрыто обнаружение *Lactobacillus* и стафилококков в зависимости от исхода ЭКО/беременности. В EP 2742359 B1 описан способ прогнозирования шанса успешной или неудачной беременности у субъекта, основанный на относительном количестве бактерий, принадлежащих к группе *Lactobacillus*, и бактерий, принадлежащих к виду стафилококков, в образцах мочи или образцах, полученных из влагалища.

Тем не менее, остается потребность в более совершенных, надежных и простых в использовании способах, с целью ограничения количества ненужных процедур ВРТ и прогнозирования шанса неудачного исхода процедуры ВРТ. Это помогло бы сократить расходы на оказание медицинских услуг. Более того, женщин, желающих завести ребенка, можно было бы раньше ориентировать на альтернативные решения.

Краткое описание изобретения

В настоящем изобретении предложен способ прогнозирования вероятности того, что процедура вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) не приведет к беременности, в котором образец, полученный от субъекта, представляющего собой самку млекопитающего, до или во время процедуры ВРТ, анализируют на наличие *Gardnerella vaginalis* IST1 и дополнительно по меньшей мере на один из следующих параметров:

- a) Относительная численность видов *Lactobacillus*,
- b) Относительная численность *Lactobacillus jensenii*,
- c) относительная численность протеобактерий,

при этом делают вывод о том, что указанный субъект имеет высокую вероятность не забеременеть в результате процедуры ВРТ, если указанный образец содержит *Gardnerella vaginalis* IST1 и исполняется по меньшей мере одно из следующих условий:

- I. Относительная численность видов *Lactobacillus* ниже значения, выбранного между 15 и 25%, или
- II. Относительная численность *Lactobacillus jensenii* выше значения, выбранного между 25 и 45%,

или

- III. Относительная численность протеобактерий превышает значение, выбранное между 18 и 38%.

В настоящем изобретении также предложен набор для осуществления способа согласно настоящему изобретению, содержащий прямой праймер CTGGATCACCTCCTTTCTAWG (SEQ ID NO: 1) и обратный праймер AGGCATCCRCCATGCGCCCT (SEQ ID NO: 2) для обнаружения продукта амплификации ДНК *Gardnerella vaginalis* IST1, где продукт амплификации ДНК *Gardnerella vaginalis* IST1 имеет

длину 428-430 нуклеотидов, где W обозначает А или Т и где R обозначает А или G.

Подробное описание изобретения

В рамках настоящего изобретения предложен способ прогнозирования вероятности того, что процедура вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) не приведет к беременности, в котором образец, полученный от субъекта, представляющего собой самку млекопитающего, до или во время процедуры ВРТ, анализируют на наличие *Gardnerella vaginalis* и дополнительно по меньшей мере на один из следующих параметров:

- a) относительная численность видов *Lactobacillus*,
- b) относительная численность *Lactobacillus jensenii*,
- c) относительная численность протеобактерий,

при этом делают вывод о том, что субъект имеет высокую вероятность не забеременеть в результате процедуры ВРТ, если образец содержит *Gardnerella vaginalis* IST1 и исполняется по меньшей мере одно из следующих условий:

I. Относительная численность видов *Lactobacillus* ниже значения, выбранного между 15 и 25%, или

II. Относительная численность *Lactobacillus jensenii* выше значения, выбранного между 25 и 45%, или

III. Относительная численность протеобактерий превышает значение, выбранное между 18 и 38%.

Значения, выбранные между 15% и 25%, 25% и 45% и 18% и 38% соответственно, также часто называют пороговыми значениями или предельными значениями. Указанные значения могут выбраны таким образом, чтобы обеспечить желаемую специфичность и чувствительность способа. Специалист в данной области техники хорошо знаком с возможностями и границами определения подходящей величины.

Согласно предпочтительному варианту реализации настоящего изобретения, как описано выше, определяют наличие *Gardnerella vaginalis*, а также относительную численность видов *Lactobacillus*, относительную численность *Lactobacillus jensenii* и относительную численность протеобактерий.

Согласно другому предпочтительному варианту реализации настоящее изобретение относится к способу, описанному выше, в котором *Gardnerella vaginalis* представляет собой *Gardnerella vaginalis* IST1. *Gardnerella vaginalis* IST1 определяют в настоящей заявке как специфический вид гарднереллы, который может быть идентифицирован путем проведения анализа популяции микробов во влагалище с использованием амплификации межгенных пространств (IS) в соответствии с протоколом, предоставленным производителем (IS-pro technique, IS-Diagnostics, Амстердам, Нидерланды). IS-pro представляет собой зубактериальный подход, основанный на обнаружении и классификации длины области IS гена рНК 16S-23S. Длина данной области IS специфична для каждого вида микроорганизмов. *Gardnerella vaginalis* IST1, которую далее определяют как вид *Gardnerella vaginalis*, обеспечивает получение специфического фрагмента IS длиной 428, 429 или 430 нуклеотидов при использовании праймеров SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 2.

Термин процедура ВРТ используют для обозначения вспомогательной репродуктивной технологии. В частности, этот термин относится к экстракорпоральному оплодотворению (ЭКО), внутрицитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ) и внутриматочной инсеминации (ИУИ).

Термин относительная численность используют для обозначения доли от общего количества или числа бактерий в образце. Дробь выражается либо в процентах (%), либо в виде числа от 0 до 1.

Термин "высокая вероятность" в отношении прогнозирования шанса успеха или неудачи процедуры ВРТ используют для обозначения того, что прогнозируемый показатель успеха или неудачи выше, чем в общей популяции женщин, проходящих процедуру ВРТ. В частности, вероятность не забеременеть упоминается как "повышенная", если субъект имеет более чем 60%-ный шанс, например 65%-ный шанс не забеременеть в результате процедуры ВРТ, если выполняются описанные в настоящей заявке критерии отрицательного прогноза. Более 65% в этом отношении включает, например, более 77%, такие как 88% или выше, или даже 94% или выше.

Кроме того, вероятность забеременеть увеличена, если субъект имеет более чем 35% - ный шанс забеременеть в результате процедуры ВРТ, если выполняются критерии положительного прогноза, описанные в настоящей заявке. Выше 35% в этом отношении означает 41%, 49% или даже 50% или более.

Гарднерелла представляет собой это вариабельно окрашивающийся по Граму род факультативно-анаэробных бактерий, единственным видом которых является *Gardnerella vaginalis*. Организмы представляют собой небольшие (1,0-1,5 мкм в диаметре) неспорообразующие, неподвижные коккобациллы. Когда-то классифицированные как *Haemophilus vaginalis*, а затем как *Corynebacterium vaginalis*, *G. vaginalis* растут как маленькие круглые выпуклые серые колонии на шоколадном агаре; они также растут на НВТ агаре. Селективной средой для *G. vaginalis* является кровяной агар с колистин-оксолиновой кислотой. Определение наличия *Gardnerella vaginalis* предпочтительно проводить посредством ПЦР, например количественной ПЦР.

Лактобациллы (*Lactobacillus*) представляют собой род грамположительных, факультативно-анаэробных или микроаэрофильных, палочковидных, не спорообразующих бактерий. Они являются основной частью группы молочнокислых бактерий (т.е. они превращают сахара в молочную кислоту). У человека они составляют значительный компонент микробиоты в таких участках организма как пищева-

рительная система, мочевыделительная система и половая система. У женщин европейского происхождения виды *Lactobacillus* обычно составляют основную часть микробиоты влагалища. *Lactobacillus* образуют биопленки в микробиоте влагалища и кишечника, что позволяет им сохраняться в суровых условиях окружающей среды и поддерживать значительное количество популяций. *Lactobacillus* проявляют мутуалистические отношения с организмом человека, поскольку они защищают хозяина от потенциальных инвазий патогенов, а хозяин, в свою очередь, обеспечивает источник питательных веществ.

Термин виды *Lactobacillus* (лактобацилл) используют в настоящей заявке для обозначения всех видов *Lactobacillus* в совокупности.

Lactobacillus jensenii является обычным обитателем нижних отделов половых путей у здоровых женщин. В нормальной популяции *L. jensenii* составляет около 23% естественной микрофлоры влагалища.

Протеобактерии являются основным типом бактерий. Они представляют собой грамтрицательные бактерии. Это означает, что они не сохраняют фиолетовую окраску при окрашивании по Граму. В тесте на окрашивание по Граму после кристаллического фиолетового добавляють контрастный краситель (обычно сафранин), окрашивающий все грамтрицательные бактерии в розовый цвет. Сам тест полезен для классификации двух различных типов бактерий на основе структурных различий их клеточных стенок.

Протеобактерии включают в себя широкий спектр патогенов, таких как кишечная палочка, сальмонелла, вибрион, хеликобактер и многие другие известные роды. Другие представляют собой свободноживущие организмы и включают в себя многие азотфиксирующие бактерии. Эту группу определяют в первую очередь на основании последовательности рибосомальной РНК (рРНК).

Существует множество способов определения (идентификации) данных микроорганизмов, и специалист в данной области техники хорошо знаком со способами определения и количественной оценки относительных количеств гарднерелл, видов *Lactobacillus*, *L. jensenii* и протеобактерий в образце. Авторы настоящего изобретения приводят в настоящей заявке результаты исследования, в котором авторы настоящего изобретения определили наличие и относительное количество данных бактерий в образцах, полученных от популяции из 192 женщин, проходящих процедуру ВРТ.

Авторы настоящего изобретения соотнесли наличие и относительное количество этих микроорганизмов и обнаружили, что их наличие и/или численность свидетельствует о показателе успеха или неудачи процедуры ВРТ.

Из 192 женщин 125 не забеременели после первой попытки, тогда как 67 забеременели. Это означает, что показатель неудачи процедуры ВРТ составляет 65%, а показатель успеха составляет 35% (табл. 1 и табл. 6).

В способе согласно настоящему изобретению относительную численность конкретного вида или рода бактерий нужно сравнивать с заранее определенным эталонным значением или пороговым значением. Заранее определенное эталонное значение может быть любым подходящим пороговым значением. Этот способ определения подходящего порогового значения вполне соответствует навыкам специалиста в данной области техники, и значение может быть легко определено опытным путем.

Предпочтительно, значение представляет собой значение, которое получено на основе бактериального состава образцов, полученных из сопоставимой популяции, применяемой в качестве тестируемой популяции. Еще более предпочтительным является эталонное значение, полученное на основе среднего значения нескольких независимых экспериментов по процедуре ВРТ в эталонной популяции. Специалисту в данной области понятны особенности определения эталонных значений для измерения и определения относительной численности бактерий.

Следовательно, заранее определенное эталонное значение может быть определено эмпирически или произвольно выбрано для достижения соответствующей специфичности и/или чувствительности способа. Специалист в данной области техники в полной мере знает, как выбрать соответствующую эталонную величину. Специалист в данной области техники будет знать, как изменить заранее определенное эталонное значение, чтобы получить желаемую специфичность и чувствительность способа.

Например, в способе, описанном выше, первое заранее определенное эталонное значение может составлять от 15 до 25%, например 20%, второе заранее определенное эталонное значение может составлять от 25 до 45%, например 35%, и третье заранее определенное эталонное значение может составлять от 18 до 38%, например 28%.

Когда первое, второе и третье эталонные значения были выбраны как 20%, 35% и 28% соответственно, и данные из табл. 6 объединены с данными микробного состава популяции бактерий влагалища, оказалось, что 32 из 125 неудачных исходов ВРТ могли быть правильно прогнозированы, то есть в 26% случаев, когда процедура ВРТ была неудачной, исход мог бы быть правильно прогнозирован (табл. 1).

Таким образом, способ согласно настоящему изобретению, раскрытый выше, обеспечивает получение высококачественных результатов, то есть только в двух случаях данный способ не смог прогнозировать неудачный исход процедуры ВРТ. В этих двух случаях процедура ВРТ привела к беременности, которая считается желаемым исходом, то есть успешным исходом. Таким образом, точность способа прогнозирования того, что субъект не забеременеет, как описано выше, составляет $32/34 = 94\%$ (табл. 5).

Таблица 1. Корреляционная матрица, основанная по меньшей мере на одном из 4 параметров

Фактический результат процедуры ВРТ	Прогнозирование способом согласно настоящему изобретению		
	Не беременная	Беременная	Всего
Не беременная	32	93	125
Беременная	2	65	67
Всего	34	158	192

Если описанный выше способ согласно настоящему изобретению был бы использован в качестве критерия для исключения женщин из этого исследования, то 34 женщины были бы исключены из этого исследования, и 158 вместо 192 женщин были бы допущены к процедуре, из которых 65 забеременели бы. Это означает, что вероятность успеха процедуры ВРТ в этом случае была бы увеличена с $67/192 = 35\%$ до $65/158 = 41\%$. Это значение представляет собой увеличение относительной эффективности процедуры ВРТ на 6%. Дополнительным преимуществом было бы то, что 34 женщинам не пришлось бы проходить процедуру или процедуры ВРТ до того, как им были бы предложены альтернативные подходы.

Если описанный способ применить к исследуемой популяции, процедура отбора привела бы к сокращению числа процедур ВРТ с $34/192 = 18\%$. Общая средняя стоимость процедур ВРТ, таких как ЭКО или ИКСИ, составляет порядка 5000 евро. В итоге применение способа согласно настоящему изобретению позволило бы сэкономить в среднем 900 евро на одного пациента ЭКО/ИКСИ, или, другими словами, затраты на процедуру были бы снижены на 18%.

Авторы настоящего изобретения также определили прогностическую значимость способа, основанного на наличии только *Gardnerella vaginalis*, таких как *G. vaginalis* IST, в частности *G. vaginalis* IST1. Оказалось, что у женщин с *Gardnerella vaginalis* IST1 шанс не забеременеть был 88% (табл. 2, табл. 5). Следовательно, описанный выше способ, в котором *Gardnerella vaginalis* представляет собой *G. vaginalis* IST1, дал хорошие результаты.

Таблица 2. Корреляционная матрица на основе *Gardnerella vaginalis* IST1

Фактический результат процедуры ВРТ	Прогнозирование способом согласно настоящему изобретению		
	Не беременная	Беременная	Всего
Не беременная	15	110	125
Беременная	2	65	67
Всего	17	175	192

Следовательно, настоящее изобретение также относится к описанному выше способу, согласно которому в образце определяют наличие *Gardnerella vaginalis*, предпочтительно *G. vaginalis* IST, такой как *G. vaginalis* IST1, и где субъект имеет высокую вероятность не забеременеть в результате процедуры ВРТ, если образец содержит *Gardnerella vaginalis*, предпочтительно *G. vaginalis* IST1.

Точность и другие характеристики этого способа, как описано выше, могут быть дополнительно улучшены путем применения способа, в котором измеряют по меньшей мере один из следующих параметров:

- Относительная численность видов *Lactobacillus*;
- Относительная численность *Lactobacillus jensenii*;
- относительная численность протеобактерий,

при этом делают вывод о том, что субъект имеет высокую вероятность не забеременеть в результате процедуры ВРТ, если образец содержит *Gardnerella vaginalis* IST1, и исполняется по меньшей мере одно из следующих условий:

- Относительная численность видов *Lactobacillus* ниже значения, выбранного между 15 и 25%, или
- Относительная численность *Lactobacillus jensenii* выше значения, выбранного между 25 и 45%, или
- Относительная численность протеобактерий превышает значение, выбранное между 18 и 38%.

В случае применения данных критериев можно правильно прогнозировать результат в случае большего количества образцов.

Из приведенных данных в табл. 6 понятно, что для 34 образцов из общего числа образцов, составляющего 192, было прогнозировано не наступление беременности. В случае тридцати двух из указанных 34 образцов можно получить правильный результат прогнозирования, путем использования способа согласно настоящему изобретению (табл. 1, табл. 6). Из 32 образцов, в отношении которых был сделан правильный прогноз, 15 были отнесены к наличию *G. vaginalis* IST1 (Критерий 1). Если бы этот критерий был объединен с критерием относительной численности видов *Lactobacillus* (критерий 2), составляющей менее 15%, то можно было бы сделать правильный прогноз в отношении дополнительных 7 образцов из указанных 32. Если бы Критерий 1 был объединен с критерием относительной численности *Lactobacillus jensenii* (критерий 3), превышающей 25%, то можно было бы сделать правильный прогноз в отношении дополнительных 6 образцов из указанных 32. Если бы Критерий 1 был объединен с критерием относи-

тельной численности протеобактерий (критерий 4), превышающей 18%, то можно было бы сделать правильный прогноз в отношении дополнительных 5 образцов из указанных 32. Другие комбинации этих критериев также привели к улучшению способа. В приведенной ниже табл. 3 раскрыты значения правильных прогнозов в зависимости от используемых критериев. Если использовать все 4 критерия, то это обеспечивает обнаружение всех 32 образцов.

Таблица 3. Правильный прогноз о не наступлении беременности на основе различных критериев

Критерий	Правильный прогноз о не наступлении беременности
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

Авторы настоящего изобретения также определили наличие двух видов *Lactobacillus*, *L. crispatus* и *L. iners*, в представленных образцах, используя методику ISPRO (Пример 4). Результаты приведены в табл. 7.

Lactobacillus crispatus является обычным обитателем нижних отделов половых путей у здоровых женщин. В нормальной популяции *L. crispatus* является доминирующим видом более чем у 30% всех женщин репродуктивного возраста.

Lactobacillus iners также относится к роду *Lactobacillus*. Это грамположительная, каталазо-отрицательная, факультативно анаэробная палочковидная бактерия. *Lactobacillus iners* в норме является обитателем нижних отделов половых путей у здоровых женщин. Геномы по меньшей мере 15 штаммов были секвенированы, и показано, что они кодируют от 1152 до 1506 белков. При этом данный вид имеет один из самых маленьких геномов *Lactobacillus* по сравнению с другими видами, такими как *L. crispatus*, которые обычно кодируют более чем в два раза больше белков.

Существует множество способов определения этих микроорганизмов, и специалист в данной области техники хорошо знаком с методиками определения и количественной оценки относительных количеств видов *Lactobacillus*, *L. crispatus* и *L. iners* в образце.

Авторы настоящего изобретения обнаружили, что эти два вида (*L. crispatus* и *L. iners*) также указывают на неудачу или успех процедуры ВРТ.

В частности, было обнаружено, что субъект имел высокую вероятность не забеременеть в результате процедуры ВРТ, если относительная численность *Lactobacillus crispatus* была выше четвертого заданного эталонного значения. Данное четвертое заранее определенное эталонное значение предпочтительно выбрано между 50 и 70%, например 60%. Когда в качестве четвертого эталонного значения было взято 60%, этому критерию соответствовали 65 женщин, из которых 15 забеременели в результате процедуры ВРТ (табл. 4). Это составляет показатель неудачи 77%, что выше, чем частота неудач во всей группе (табл. 5).

Также было обнаружено, что у субъекта была высокая вероятность забеременеть в результате процедуры ВРТ, если относительная численность *Lactobacillus crispatus* была ниже пятого заранее заданного эталонного значения. Данное пятое заранее определенное эталонное значение предпочтительно выбрано между 50 и 70%, например 60%. Когда в качестве пятого эталонного значения было взято 60%, то ему соответствовали 127 женщин, из которых 52 забеременели в результате процедуры ВРТ (Табл.4). Это показатель успеха составляет 41%, что выше, чем показатель успеха во всей группе (Табл.5). Эти результаты приведены в табл. 4 и 5.

Таблица 4. Корреляционная матрица на основе *L. crispatus*

Фактический результат процедуры ВРТ	Прогнозирование способом согласно настоящему изобретению		
	Не беременная	Беременная	Всего
Не беременная	50	75	125
Беременная	15	52	67
Всего	65	127	192

Авторы настоящего изобретения также определили относительную численность *Lactobacillus iners* и обнаружили, что субъект имел высокую вероятность забеременеть в результате процедуры ВРТ, если относительная численность *Lactobacillus iners* была выше шестого заданного эталонного значения. Данное шестое заранее определенное эталонное значение предпочтительно выбрано между 50 и 70%, например 60%. Когда в качестве шестого эталонного значения было выбрано 60%, этому критерию соответствовали 38 женщин, из которых 19 забеременели в результате процедуры ВРТ (табл. 5). Это показатель успеха составляет 50%, чем показатель успеха во всей группе (табл. 5).

Следовательно, авторы настоящего изобретения описывают способ прогнозирования вероятности

того, что процедура вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) не приведет к беременности, в котором образец, полученный от субъекта, представляющего собой самку млекопитающего, до или во время процедуры ВРТ, анализируют на относительную численность *Lactobacillus crispatus*, и при этом субъект имеет высокую вероятность не забеременеть в результате процедуры ВРТ, если относительная численность *Lactobacillus crispatus* превышает четвертое заранее определенное эталонное значение.

Авторы настоящего изобретения также описывают способ прогнозирования вероятности того, что процедура вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) приведет к беременности, в котором образец, полученный от субъекта, представляющего собой самку млекопитающего, до или во время процедуры ВРТ, анализируют на относительную численность *Lactobacillus crispatus*, и в котором субъект имеет высокую вероятность забеременеть в результате процедуры ВРТ, если относительное обилие *Lactobacillus crispatus* ниже пятого заданного эталонного значения.

Авторы настоящего изобретения также описывают способ прогнозирования вероятности того, что процедура вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) приведет к беременности, в котором образец, полученный от субъекта, представляющего собой самку млекопитающего, до или во время процедуры ВРТ, анализируют на относительную численность *Lactobacillus iners*, и в котором субъект имеет высокую вероятность забеременеть в результате процедуры ВРТ, если относительная численность *Lactobacillus iners* ниже шестого заданного эталонного значения.

Авторы настоящего изобретения также описывают в настоящей заявке способ прогнозирования вероятности того, что процедура вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) приведет к беременности, в котором образец, полученный от самки млекопитающего до или во время процедуры ВРТ, анализируют на наличие *Lactobacillus crispatus* и *Lactobacillus iners*, в котором определяют относительные количества *L. crispatus* [LC] и *L. iners* [LI], и в котором вероятность беременности увеличена, если [LC] ниже седьмого заданного эталонного значения, при этом

$$a. \quad [LC] < (a * [LI]) + b \text{ и}$$

$$b. \quad [LC] > (c * [LI]) + d \text{ и,}$$

где *a* представляет собой значение в диапазоне от -0.55 и до -0.70,

b представляет собой значение в диапазоне от 0.80 до 0.90,

c представляет собой значение в диапазоне от -0.50 до -0.65 и

d представляет собой значение в диапазоне от 0.3 и до 0.45.

В предпочтительном варианте реализации $a = -0.62$, $b = 0.85$, $c = -0.58$ и $d = 0.38$. В этом случае 77 из 192 женщин из описанного в настоящей заявке исследования признавали удовлетворяющими критерию, из которых 38 (49%) забеременели в результате процедуры ВРТ (табл. 5). Эти результаты графически представлены на фиг. 1.

Особенно хорошие результаты были получены, когда заранее определенные четвертое, пятое, шестое и седьмое эталонные значения были независимо друг от друга выбраны между 50 и 70%, в частности 60%.

Описание фигуры

Диаграмма рассеяния данных, полученных с помощью одного из приведенных в настоящей заявке способов, в котором вероятность беременности увеличена, если [LC] ниже 60% и где

$$[LC] < (a * [LI]) + b, \text{ и при этом}$$

$$[LC] > (c * [LI]) + d, \text{ и при этом}$$

$$a = -0,62,$$

$$b = 0.85,$$

$$c = -0,58 \text{ и}$$

$$d = 0.38.$$

Таблица 5

Критерий	# лица, соответствующие критерию	# лица, забеременевшие в результате ВРТ в популяции, удовлетворяющей критерию	% успешности беременности в группе, удовлетворяющей критерию	% несостоятельности беременности в группе, удовлетворяющей критерию
Общая численность популяции	192	67	35%	65%
Один из 4 параметров: 1) наличие Gardnerella vaginalis IST1, 2) численность видов Lactobacillus <20% 3) численность L. jensenii > 35% 4) протеобактерии > 28%	34	2	6%	94%
L. crispatus > 60%	65	15	23%	77%
L. crispatus > 60%	127	52	41%	59%
L. iners >60%	38	19	50%	50%
a. [LC] < 0,6 и b. [LC] < (-0.62 * [LI]) + 0.85 и c. [LC] > (-0.58 * [LI]) + 0.38.	77	38	49%	51%
1) наличие Gardnerella vaginalis IST1,	17	2	12%	88%

Примеры

Пример 1. Исследуемая популяция

Данное проспективное исследование микробиома влагалища субфертильных женщин репродуктивного возраста было проведено в восьми центрах ЭКО в Нидерландах. Участвующими центрами были: Erasmus Medical Centre (Роттердам), Radboud UMC (Неймеген), UMC Utrecht (Утрехт), VU MC (Амстердам), Isala kliniek (Зволле), Sint Elisabeth Ziekenhuis (Тилбург), MC Kinderwens (Лейдердорп), MUMC+ (Маастрихт). Включения происходили в течение почти одного года (с 1 июня 2015 г. по 31 марта 2016 г.). Протокол был одобрен институциональным экспертным советом Медицинского центра Университета Эразма. От всех участников было получено информированное письменное согласие.

К участию в этом исследовании были приглашены посещавшие амбулаторию клиники репродуктивного здоровья женщины, которые должны были пройти свою первую процедуру ЭКО (с ИКСИ или без нее) в течение двух месяцев. Критерии, которые должны были выполняться: женщины в возрасте от 20 до 44 лет и наличие партнера-мужчины. Из исследования были исключены женщины с показанием к экстренному ЭКО из-за рака или других причин, с эндометриозом АФС III/IV и предварительно получавшие аналог гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ), применявшие гормональные контрацептивы за 3 месяца до начала ЭКО или ЭКО-ИКСИ (исключая 3-недельное применение оральных контрацептивов с целью регуляции цикла) и имевшие в анамнезе предыдущую беременность или выкидыш.

В данное исследование первоначально была включена 301 женщина. Двадцать одна пациентка была исключена на основании критериев исключения, еще 86 покинули исследование по личным или неизвестным причинам. Два образца были потеряны из-за ошибок обработки, поэтому в конечном итоге исследование проводили с образцами от 192 женщин.

Пример 2. Материалы

Участники самостоятельно делали влагалищный мазок до начала процедуры ЭКО или ЭКО-ИКСИ. Способ самостоятельного получения образца использовали, поскольку он является минимально инвазивным для пациента и поэтому пригоден для использования в повседневной практике. Образцы из влагалища были получены с помощью FLOQSwabs™ (Copan Italia S. p. A., Италия), участникам было поручено ввести тупфер на 3-5 см во влагалище, а затем тереть тупфер вдоль стенки влагалища в течение 10-15 с. После этой процедуры тупферы немедленно помещали в пробирки Эппендорф, заполненные восстанавливающим транспортным жидким буфером (RTF), полученным от IS-Diagnostics (IS-Diagnostics, Амстердам, Нидерланды). До проведения анализа образцы хранили при температуре от -20 до -80°C в морозильной камере.

Образцы мочи собирали в стерильное устройство для сбора мочи объемом 100 мл. Образец объемом 10 мл центрифугировали в течение 10 мин при 1500 RCF. Супернатант сливали, а осадок повторно суспендировали в 3 мл мочи. Повторно суспендированный образец хранили для дальнейшей обработки при температуре -20°C.

Образцы были доставлены на сухом льду из 8 клиник в микробиологическую лабораторию IS-Diagnostics, где проводили анализы.

Пример 3. Выделение ДНК

Экстракцию ДНК проводили из влагалищных мазков с помощью автоматизированной машины для экстракции ДНК Chemagen (Chemagen, Baesweiler, Германия) с использованием набора для экстракции буккальных мазков в соответствии с инструкциями производителя. Сначала мазки размораживали и гомогенизировали (Vortex). 200 мкл образца инкубировали с 200 мкл лизисного буфера Chemagen и 10 мкл протеиназы К (Qiagen, Hilden, Германия) при 56°C при встряхивании при 500 об/мин. ДНК извлекали с помощью протокола buccal Swab Prefilling. Элюировали ДНК в 100 мкл буфера для элюирования Chema-

gen.

ДНК экстрагировали из концентрированных суспензий мочи с помощью автоматизированной машины для экстракции ДНК Chemagen (Perkin-Elmer, Waesweiler, Германия) с использованием набора для экстракции буккальных мазков в соответствии с инструкциями производителя. Кратко, образцы мочи были разморожены и перемешаны. 200 мкл образца инкубировали с 200 мкл лизисного буфера Chemagen и 10 мкл протеиназы К при 56°C при встряхивании на 500 об/мин. Элюировали ДНК в 100 мкл буфера для элюирования Chemagen.

Пример 4. Профилирование межгенного пространства (IS)

Аmplification областей межгенных пространств (IS) проводили с помощью анализа IS-pro в соответствии с протоколом, предоставленным производителем (IS-Diagnostics, Амстердам, Нидерланды). IS-pro представляет собой зубактериальный подход, основанный на обнаружении и классификации длины области IS гена rPHK 16S-23S. Длина этой области IS специфична для каждого вида микроорганизмов. Для таксономической классификации используются специфичные для типа организма флуоресцентно меченые ПЦР-праймеры.

Вкратце, процедура состоит из двух отдельных стандартных ПЦР: первая смесь ПЦР содержит два различных флуоресцентно меченых прямых праймера, нацеленных на различные бактериальные группы, и три обратных праймера, обеспечивающих универсальный охват этих групп. Первый прямой праймер специфичен для Типа Firmicutes, Actinobacteria, Fusobacteria и Verrucomicrobia (FAFV), а второй меченый прямой праймер специфичен для Типа Bacteroidetes. Отдельная ПЦР с меченым прямым праймером в сочетании с семью обратными праймерами специфична для Типа Proteobacteria [Budding, E. et al., J. Clin. Microbiol. (2016) 54: 934-943].

Аmplification проводили на ПЦР-системе GeneAmp 9700 (Applied Biosystems, Foster City, CA). После ПЦР 5 мкл ПЦР-продукта смешивали с 20 мкл формамида и 0,2 мкл маркера нестандартного размера (IS-Diagnostics). Анализ фрагментов ДНК проводили на генетическом анализаторе ABI Prism 3500 (Applied Biosystems). Данные были проанализированы с помощью проприетарного программного комплекса IS-pro (IS-Diagnostics), и результаты представлены в виде микробных профилей. Автоматизированное определение видов по пикам IS-pro выполняли с помощью специального программного комплекса IS-pro (IS-Diagnostics), в котором пики связаны с базой данных, содержащей информацию о профиле IS > 500 видов микроорганизмов. Пики < 128 относительных единиц флуоресценции (RFU) рассматривали как фоновый шум и отбрасывали из дальнейшего анализа. Вся процедуру, от выделения ДНК до анализа данных, проводили в течение 5 ч.

Пример 5. Измерение результатов

В качестве конечной точки использовался исход беременности после первого переноса эмбриона (ET). Продолжающуюся беременность определяли как плод с сердечной активностью, установленной с помощью ультразвукового исследования между 7-9 неделями беременности.

Пример 6. Определение Gardnerella vaginalis IST1

Gardnerella vaginalis IST1 идентифицировали путем проведения анализа популяции микробов влагалища с помощью методики IS-pro. G. vaginalis IST1 обнаруживали по наличию специфического IS-фрагмента длиной 428-430 нуклеотидов.

Пример 7. Определение микробиома

Анализ микробиома проводили по методике IS-pro, описанной ранее [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: high-throughput 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.]

Таблица 6. Микробный состав влагалищной флоры; прогноз шанса неудачи процедуры ВРТ

Идентификатор образца	G. vaginalis	Всего Lactobacillus	L. jensenii	Всего Протеобактерий	Прогнозирование	Результат	Лечение
F34	34.93%	0.00%	0.00%	0.00%	не беременная	не беременная	ЭКО
B83	17.81%	44.59%	0.00%	0.00%	не беременная	не беременная	ИКСИ
C1	4.03%	80.36%	80.36%	0.00%	не беременная	не беременная	ИКСИ
H9	1.63%	95.51%	0.00%	0.00%	не беременная	не беременная	ЭКО
B59	0.00%	15.42%	0.00%	0.00%	не беременная	не беременная	ИКСИ
B17	5.05%	70.82%	4.38%	0.00%	не беременная	не беременная	ИКСИ
H3	0.71%	86.97%	31.80%	0.00%	не беременная	не беременная	ЭКО
B13	0.00%	94.44%	87.81%	0.89%	не беременная	не беременная	ИКСИ
B15	0.00%	0.42%	0.00%	4.72%	не беременная	не беременная	ЭКО
F40	0.00%	0.00%	0.00%	5.33%	не беременная	не беременная	ЭКО
A18	0.52%	1.38%	0.00%	5.42%	не беременная	не беременная	ЭКО
C25	0.00%	0.00%	0.00%	8.03%	не беременная	не беременная	ИКСИ
B11	0.00%	63.86%	63.86%	8.99%	не беременная	не беременная	ИКСИ
F23	0.00%	17.49%	0.00%	9.85%	не беременная	не беременная	ИКСИ
B88	6.49%	0.00%	0.00%	21.88%	не беременная	не беременная	ИКСИ
F6	14.48%	37.47%	0.00%	29.16%	не беременная	не беременная	ЭКО
F16	0.00%	62.27%	0.00%	36.91%	не беременная	не беременная	ИКСИ
H7	3.08%	17.47%	0.00%	23.15%	не беременная	беременная	ЭКО
A32	0.00%	15.93%	0.00%	29.43%	не беременная	не беременная	ИКСИ
B18	0.00%	14.88%	0.00%	7.03%	не беременная	не беременная	ИКСИ
B65	3.05%	23.59%	0.00%	22.67%	не беременная	не беременная	ИКСИ
D3	0.54%	34.58%	0.00%	1.30%	не беременная	беременная	ИКСИ
C11	10.62%	24.40%	0.00%	5.21%	не беременная	не беременная	ИКСИ
B54	0.51%	31.39%	0.00%	6.92%	не беременная	не беременная	ИКСИ
B45	0.00%	37.63%	0.00%	29.62%	не беременная	не беременная	ЭКО
A41	0.00%	52.79%	0.00%	46.04%	не беременная	не беременная	ИКСИ
D2	0.00%	98.29%	54.36%	0.00%	не беременная	не беременная	ИКСИ
C47	1.60%	45.01%	0.00%	21.76%	не беременная	не беременная	ИКСИ
C10	0.00%	99.61%	49.94%	0.00%	не беременная	не беременная	ИКСИ
F28	0.00%	93.98%	40.79%	6.02%	не беременная	не беременная	ИКСИ
F32	3.12%	76.89%	0.00%	2.54%	не беременная	не беременная	ИКСИ
F10	0.00%	59.16%	0.00%	40.36%	не беременная	не беременная	ЭКО
E38	0.00%	95.46%	35.98%	0.00%	не беременная	не беременная	ИКСИ
B41	6.45%	68.57%	0.00%	0.00%	не беременная	не беременная	ЭКО
C4	0.00%	80.13%	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
G3	0.00%	99.36%	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
F33	0.00%	76.12%	1.08%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
F42	0.00%	77.08%	12.17%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
E7	0.00%	72.39%	27.61%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
C3	0.00%	98.29%	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
B51	0.00%	78.65%	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
E40	0.00%	100.00%	19.29%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
E44	0.00%	100.00%	12.73%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
E47	0.00%	97.84%	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
B29	0.00%	100.00%	1.92%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
B28	0.00%	100.00%	1.79%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
B26	0.00%	100.00%	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
D6	0.00%	100.00%	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
H5	0.00%	95.46%	3.11%	0.94%	беременная	не беременная	ИКСИ
C20	0.00%	58.17%	4.18%	1.19%	беременная	не беременная	ИКСИ
C32	0.00%	93.91%	0.00%	3.03%	беременная	не беременная	ЭКО
F12	0.00%	89.56%	0.00%	3.33%	беременная	не беременная	ИКСИ
B67	0.00%	93.28%	0.00%	3.65%	беременная	не беременная	ИКСИ
B71	0.00%	95.30%	3.84%	4.70%	беременная	не беременная	ЭКО
B63	0.00%	95.09%	0.00%	4.91%	беременная	не беременная	ИКСИ
B90	0.00%	94.80%	0.00%	5.20%	беременная	не беременная	ИКСИ

B49	0.00%	94.75%	0.00%	5.25%	беременная	не беременная	ИКСИ
E57	0.00%	91.98%	0.00%	5.81%	беременная	не беременная	ИКСИ
E8	0.00%	93.62%	0.00%	6.38%	беременная	не беременная	ЭКО
F38	0.00%	80.94%	0.00%	6.60%	беременная	не беременная	ИКСИ
F15	0.00%	92.32%	0.00%	7.04%	беременная	не беременная	ЭКО
A15	0.00%	91.16%	0.00%	8.84%	беременная	не беременная	ЭКО
A22	0.00%	76.68%	0.00%	9.37%	беременная	не беременная	ИКСИ
C53	0.00%	90.59%	9.00%	9.41%	беременная	не беременная	ИКСИ
A21	0.00%	65.89%	0.00%	9.53%	беременная	не беременная	ИКСИ
F13	0.00%	90.41%	0.00%	9.59%	беременная	не беременная	ЭКО
A19	0.00%	89.78%	1.05%	10.22%	беременная	не беременная	ИКСИ
A16	0.00%	77.71%	0.00%	12.12%	беременная	не беременная	ИКСИ
C39	0.00%	85.32%	0.00%	12.44%	беременная	не беременная	ИКСИ
F9	0.00%	29.92%	0.00%	12.70%	беременная	не беременная	ЭКО
D21	0.00%	85.39%	15.74%	14.26%	беременная	не беременная	ИКСИ
F17	0.00%	85.66%	1.69%	14.34%	беременная	не беременная	ЭКО
A20	0.00%	81.20%	0.00%	15.55%	беременная	не беременная	ИКСИ
A36	0.00%	82.86%	7.96%	17.14%	беременная	не беременная	ИКСИ
D23	0.00%	79.02%	3.82%	20.15%	беременная	не беременная	ИКСИ
F36	0.00%	99.44%	0.00%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
B76	0.00%	100.00%	0.00%	0.00%	беременная	беременная	ЭКО
B30	0.00%	65.88%	0.00%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
B40	0.00%	28.77%	24.53%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
B37	0.00%	77.53%	0.00%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
B6	0.00%	96.10%	0.00%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
B72	0.00%	87.70%	32.73%	0.79%	беременная	беременная	ИКСИ
B64	0.00%	99.21%	0.00%	0.79%	беременная	беременная	ИКСИ
B84	0.00%	70.61%	14.28%	0.80%	беременная	беременная	ИКСИ
B3	0.00%	99.19%	28.33%	0.81%	беременная	беременная	ЭКО
C14	0.00%	75.92%	16.39%	1.12%	беременная	беременная	ИКСИ
F37	0.00%	85.77%	0.00%	1.43%	беременная	беременная	ИКСИ
C36	0.00%	92.31%	1.14%	2.42%	беременная	беременная	ИКСИ
C33	0.00%	97.29%	0.00%	2.71%	беременная	беременная	ЭКО
B44	0.00%	91.38%	0.00%	2.87%	беременная	беременная	ИКСИ
B12	0.00%	96.88%	0.00%	3.12%	беременная	беременная	ЭКО
A3	0.00%	92.46%	0.00%	5.65%	беременная	беременная	ИКСИ
A5	0.00%	67.98%	23.08%	7.01%	беременная	беременная	ИКСИ
A40	0.00%	88.26%	0.00%	7.03%	беременная	беременная	ЭКО
B53	0.00%	74.76%	0.00%	7.77%	беременная	беременная	ИКСИ
F26	0.00%	61.78%	0.00%	8.36%	беременная	беременная	ЭКО
A23	0.00%	84.41%	32.28%	14.15%	беременная	беременная	ИКСИ
A26	0.00%	66.14%	0.00%	19.43%	беременная	беременная	ИКСИ
F35	0.00%	95.34%	0.00%	4.14%	беременная	не беременная	ИКСИ
B36	0.00%	92.76%	2.70%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
B85	0.00%	71.82%	0.00%	0.62%	беременная	беременная	ИКСИ
A10	0.00%	87.21%	8.77%	12.79%	беременная	не беременная	ЭКО
B19	0.00%	98.50%	10.85%	1.50%	беременная	не беременная	ИКСИ
C42	0.00%	92.65%	0.00%	7.35%	беременная	не беременная	ИКСИ
E18	0.00%	98.99%	0.00%	1.01%	беременная	не беременная	ЭКО
A47	0.00%	91.06%	1.65%	8.94%	беременная	не беременная	ИКСИ
B70	0.00%	96.30%	6.57%	3.70%	беременная	не беременная	ИКСИ
E36	0.00%	84.73%	8.64%	5.38%	беременная	не беременная	ИКСИ
F20	0.00%	77.54%	0.00%	22.46%	беременная	беременная	ИКСИ
F1	0.00%	85.95%	33.17%	14.05%	беременная	беременная	ИКСИ
H8	0.00%	93.77%	3.65%	4.53%	беременная	не беременная	ЭКО
C55	0.00%	21.54%	0.00%	16.63%	беременная	беременная	ИКСИ
F8	0.00%	75.26%	0.00%	18.63%	беременная	беременная	ИКСИ

B47	0.00%	79.87%	9.26%	18.41%	беременная	не беременная	ИКСИ
C28	0.00%	96.89%	9.70%	2.06%	беременная	беременная	ИКСИ
B7	0.00%	98.16%	10.54%	0.77%	беременная	не беременная	ИКСИ
B55	0.00%	99.64%	31.26%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
C18	0.00%	98.72%	1.22%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
E32	0.00%	93.00%	7.61%	0.00%	беременная	беременная	ЭКО
A8	0.00%	90.23%	0.00%	9.41%	беременная	не беременная	ЭКО
F5	0.00%	78.48%	4.45%	19.45%	беременная	беременная	ЭКО
F11	0.00%	67.61%	0.00%	27.32%	беременная	беременная	ИКСИ
H6	0.00%	97.93%	6.39%	0.93%	беременная	беременная	ЭКО
B39	0.00%	88.13%	0.00%	11.09%	беременная	беременная	ЭКО
E59	0.00%	81.37%	4.64%	9.61%	беременная	беременная	ЭКО
G1	0.00%	30.30%	0.00%	5.33%	беременная	не беременная	ИКСИ
E29	0.00%	95.59%	7.00%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
A29	0.00%	43.74%	0.00%	16.69%	беременная	беременная	ЭКО
B27	0.00%	99.52%	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
B25	0.00%	99.41%	1.22%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
C51	0.00%	53.99%	3.71%	13.15%	беременная	беременная	ИКСИ
E48	0.00%	93.85%	0.00%	6.15%	беременная	беременная	ИКСИ
C60	0.00%	66.96%	0.00%	0.56%	беременная	беременная	ИКСИ
D9	0.00%	99.14%	7.00%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
E39	0.00%	99.52%	12.88%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
A42	0.00%	47.33%	0.48%	27.49%	беременная	не беременная	ЭКО
B4	0.00%	94.75%	0.00%	2.23%	беременная	не беременная	ЭКО
B10	0.00%	74.81%	5.17%	3.21%	беременная	не беременная	ИКСИ
E49	0.00%	93.07%	13.74%	6.93%	беременная	не беременная	ИКСИ
B61	0.00%	43.79%	0.00%	16.35%	беременная	не беременная	ИКСИ
B20	0.00%	98.72%	0.00%	0.81%	беременная	не беременная	ИКСИ
E19	0.00%	97.20%	0.00%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
F2	0.00%	53.49%	0.00%	17.92%	беременная	не беременная	ЭКО
A45	0.00%	84.93%	0.00%	14.02%	беременная	не беременная	ЭКО
F41	0.00%	46.28%	0.00%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
F31	0.00%	92.91%	11.40%	6.48%	беременная	не беременная	ЭКО
F21	0.00%	94.22%	0.00%	5.78%	беременная	беременная	ИКСИ
A4	0.00%	86.95%	5.54%	8.72%	беременная	не беременная	ЭКО
E50	0.00%	95.47%	2.79%	4.53%	беременная	беременная	ИКСИ
F39	0.00%	96.02%	0.55%	3.55%	беременная	беременная	ИКСИ
C13	0.00%	91.98%	2.47%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
B14	0.00%	97.03%	1.84%	1.31%	беременная	не беременная	ИКСИ
C21	0.00%	100.00%	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
F24	0.00%	94.81%	1.60%	4.52%	беременная	не беременная	ИКСИ
C15	0.00%	77.16%	18.79%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
D22	0.00%	89.97%	0.00%	10.03%	беременная	беременная	ЭКО
C56	0.00%	100.00%	34.59%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
C38	0.00%	86.50%	20.08%	11.42%	беременная	беременная	ИКСИ
B69	0.00%	95.88%	28.43%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
B78	0.00%	92.96%	0.00%	4.72%	беременная	беременная	ИКСИ
A24	0.00%	84.77%	13.68%	13.93%	беременная	не беременная	ЭКО
C40	0.00%	87.50%	0.00%	12.50%	беременная	не беременная	ЭКО
C43	0.00%	88.19%	14.75%	11.41%	беременная	не беременная	ИКСИ
A2	0.00%	80.15%	7.53%	19.07%	беременная	беременная	ИКСИ
E52	0.00%	88.93%	0.00%	7.08%	беременная	беременная	ИКСИ
C31	0.00%	98.89%	24.03%	1.11%	беременная	беременная	ИКСИ
A25	0.00%	97.50%	22.55%	1.39%	беременная	беременная	ЭКО
C49	0.00%	75.18%	0.00%	8.93%	беременная	беременная	ИКСИ
B87	0.00%	75.19%	0.00%	20.94%	беременная	не беременная	ЭКО
D14	0.00%	93.16%	0.00%	5.35%	беременная	не беременная	ЭКО
B9	0.00%	96.41%	0.00%	3.00%	беременная	беременная	ИКСИ
C30	0.00%	96.07%	0.00%	1.94%	беременная	беременная	ИКСИ
A13	0.00%	85.00%	4.65%	12.89%	беременная	беременная	ЭКО
F22	0.00%	80.52%	0.00%	7.63%	беременная	не беременная	ИКСИ
D20	0.00%	94.40%	0.00%	5.60%	беременная	не беременная	ЭКО
A30	0.00%	82.46%	0.00%	15.75%	беременная	не беременная	ИКСИ
A43	0.00%	81.82%	0.00%	16.76%	беременная	беременная	ИКСИ
F30	0.00%	83.95%	0.00%	15.28%	беременная	не беременная	IVF/CSI
A14	0.00%	84.41%	0.00%	10.73%	беременная	не беременная	ИКСИ
B38	0.00%	88.61%	0.00%	10.61%	беременная	беременная	ЭКО
A12	0.00%	90.33%	0.00%	8.55%	беременная	не беременная	ЭКО
D15	0.00%	89.45%	0.00%	9.06%	беременная	не беременная	ИКСИ
A7	0.00%	89.86%	0.00%	8.26%	беременная	беременная	ИКСИ
F14	0.00%	99.13%	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
F19	0.00%	90.53%	0.00%	8.87%	беременная	не беременная	ИКСИ
B33	0.00%	90.60%	0.00%	8.81%	беременная	не беременная	ЭКО
C23	0.00%	97.67%	7.02%	1.79%	беременная	не беременная	ИКСИ
B77	0.00%	96.25%	5.11%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
B42	0.00%	93.63%	0.00%	2.01%	беременная	беременная	ИКСИ

B57	0.00%	97.90%	0.00%	0.00%	беременная	беременная	ЭКО
B24	0.00%	96.73%	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
B5	0.00%	96.86%	0.00%	1.46%	беременная	не беременная	ИКСИ

Таблица 7. Микробный состав влагалищной флоры; прогноз шанса неудачи процедуры ВРТ

Идентификатор образца	<i>L. crispatus</i>	<i>L. iners</i>	Прогнозирование	Результат	Лечение
F20	58.91%	18.63%	беременная	беременная	ИКСИ
B39	58.24%	29.89%	беременная	беременная	ЭКО
E48	57.83%	36.02%	беременная	беременная	ИКСИ
E32	57.50%	27.89%	беременная	беременная	ЭКО
B85	57.46%	2.51%	беременная	беременная	ИКСИ
E19	52.87%	44.33%	беременная	беременная	ИКСИ
F8	52.73%	22.53%	беременная	беременная	ИКСИ
A23	52.13%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
C14	49.36%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
E59	46.47%	30.27%	беременная	беременная	ЭКО
F5	44.90%	29.12%	беременная	беременная	ЭКО
F39	42.43%	53.04%	беременная	беременная	ИКСИ
B55	42.17%	26.20%	беременная	беременная	ИКСИ
B72	40.99%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
E50	40.00%	52.68%	беременная	беременная	ИКСИ
F11	38.29%	29.32%	беременная	беременная	ИКСИ
C13	36.40%	53.11%	беременная	беременная	ИКСИ
F1	33.57%	19.22%	беременная	беременная	ИКСИ
A26	30.90%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
C60	30.73%	36.24%	беременная	беременная	ИКСИ
F26	23.83%	0.00%	беременная	беременная	ЭКО
A5	20.93%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
B9	16.84%	79.57%	беременная	беременная	ИКСИ
C30	16.34%	79.73%	беременная	беременная	ИКСИ
E52	16.23%	72.70%	беременная	беременная	ИКСИ
C51	14.89%	35.39%	беременная	беременная	ИКСИ
B40	4.24%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
B57	3.34%	94.56%	беременная	беременная	ЭКО
B30	2.77%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
B84	0.55%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
F36	0.00%	0.00%	беременная	беременная	ИКСИ
B76	73.00%	27.00%	беременная	беременная	ЭКО
A40	0.00%	0.00%	беременная	беременная	ЭКО
C55	0.00%	21.54%	беременная	беременная	ИКСИ
A29	0.00%	31.04%	беременная	беременная	ЭКО
F41	0.00%	46.28%	беременная	беременная	ИКСИ
F21	0.00%	50.96%	беременная	беременная	ИКСИ
D22	0.00%	65.08%	беременная	беременная	ЭКО
C56	0.00%	65.41%	беременная	беременная	ИКСИ
C38	0.00%	66.42%	беременная	беременная	ИКСИ
B69	0.00%	67.45%	беременная	беременная	ИКСИ

045155

B78	0.00%	70.19%	беременная	беременная	ИКСИ
A2	0.00%	72.62%	беременная	беременная	ИКСИ
C31	0.00%	74.86%	беременная	беременная	ИКСИ
A25	0.00%	74.95%	беременная	беременная	ЭКО
C49	0.00%	75.18%	беременная	беременная	ИКСИ
A13	0.00%	80.34%	беременная	беременная	ЭКО
A43	0.00%	81.82%	беременная	беременная	ИКСИ
B38	0.00%	88.61%	беременная	беременная	ЭКО
A7	0.00%	89.86%	беременная	беременная	ИКСИ
B77	0.00%	91.14%	беременная	беременная	ИКСИ
B42	0.00%	93.63%	беременная	беременная	ИКСИ
E29	58.01%	30.58%	беременная	не беременная	ИКСИ
E36	57.47%	18.62%	беременная	не беременная	ИКСИ
B4	55.67%	39.08%	беременная	не беременная	ЭКО
D9	55.28%	36.86%	беременная	не беременная	ИКСИ
B20	54.81%	43.91%	беременная	не беременная	ИКСИ
C20	53.99%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
B27	51.55%	31.46%	беременная	не беременная	ЭКО
E39	49.12%	37.51%	беременная	не беременная	ЭКО
B47	47.04%	23.57%	беременная	не беременная	ИКСИ
C21	42.67%	57.33%	беременная	не беременная	ЭКО
B14	40.89%	54.30%	беременная	не беременная	ИКСИ
A45	39.73%	45.20%	беременная	не беременная	ЭКО
E49	36.14%	43.19%	беременная	не беременная	ИКСИ
F24	35.67%	57.54%	беременная	не беременная	ИКСИ
F31	32.89%	48.63%	беременная	не беременная	ЭКО
A4	30.38%	51.03%	беременная	не беременная	ЭКО
B10	29.68%	39.96%	беременная	не беременная	ИКСИ
D14	16.50%	76.65%	беременная	не беременная	ЭКО
C40	15.67%	71.83%	беременная	не беременная	ЭКО
D20	13.13%	81.27%	беременная	не беременная	ЭКО
A42	9.19%	37.67%	беременная	не беременная	ЭКО
F2	9.03%	44.46%	беременная	не беременная	ЭКО
A20	2.27%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
C43	1.53%	71.91%	беременная	не беременная	ИКСИ
A12	1.39%	88.93%	беременная	не беременная	ЭКО
A30	1.11%	81.34%	беременная	не беременная	ИКСИ
C4	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
G3	82.00%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
F33	45.00%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
F42	73.00%	4.00%	беременная	не беременная	ЭКО
E7	62.00%	10.00%	беременная	не беременная	ЭКО
E8	93.62%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
A22	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
F9	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
G1	0.00%	30.30%	беременная	не беременная	ИКСИ
B61	0.00%	43.79%	беременная	не беременная	ИКСИ
C15	0.00%	58.38%	беременная	не беременная	ИКСИ
A24	0.00%	71.08%	беременная	не беременная	ЭКО
B87	0.00%	75.19%	беременная	не беременная	ИКСИ
F22	0.00%	80.52%	беременная	не беременная	ИКСИ
F30	0.00%	83.95%	беременная	не беременная	ЭКО/ИКСИ
A14	0.00%	84.41%	беременная	не беременная	ИКСИ
D15	0.00%	89.45%	беременная	не беременная	ИКСИ
F14	0.00%	90.12%	беременная	не беременная	ИКСИ
F19	0.00%	90.53%	беременная	не беременная	ИКСИ
B33	0.00%	90.60%	беременная	не беременная	ЭКО
C23	0.00%	90.65%	беременная	не беременная	ИКСИ
B24	0.00%	96.73%	беременная	не беременная	ИКСИ
B5	0.00%	96.86%	беременная	не беременная	ИКСИ
D3	10.82%	23.76%	беременная	беременная	ИКСИ
H7	4.06%	13.42%	беременная	беременная	ЭКО
H3	55.17%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО

045155

B17	36.44%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
F32	19.15%	57.74%	беременная	не беременная	ИКСИ
B59	15.42%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
A41	9.26%	43.53%	беременная	не беременная	ИКСИ
B65	4.55%	19.04%	беременная	не беременная	ИКСИ
B45	2.78%	34.85%	беременная	не беременная	ЭКО
B41	1.41%	67.16%	беременная	не беременная	ЭКО
A32	1.40%	14.54%	беременная	не беременная	ИКСИ
F34	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
B83	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
C1	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
H9	95.51%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
B13	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
B15	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
F40	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
A18	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
C25	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
B11	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
F23	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
B88	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ИКСИ
F6	0.00%	0.00%	беременная	не беременная	ЭКО
B18	0.00%	14.88%	беременная	не беременная	ИКСИ
C11	0.00%	24.40%	беременная	не беременная	ИКСИ
B54	0.00%	31.39%	беременная	не беременная	ИКСИ
D2	0.00%	43.93%	беременная	не беременная	ИКСИ
C47	0.00%	45.01%	беременная	не беременная	ИКСИ
C10	0.00%	49.67%	беременная	не беременная	ИКСИ
F28	0.00%	53.18%	беременная	не беременная	ИКСИ
F10	0.00%	59.16%	беременная	не беременная	ЭКО
E38	0.00%	59.48%	беременная	не беременная	ИКСИ
B64	99.21%	0.00%	Не беременная	беременная	ИКСИ
C33	97.29%	0.00%	Не беременная	беременная	ЭКО
B12	96.88%	0.00%	Не беременная	беременная	ЭКО
B6	96.10%	0.00%	Не беременная	беременная	ИКСИ
B44	91.38%	0.00%	Не беременная	беременная	ИКСИ
C36	91.17%	0.00%	Не беременная	беременная	ИКСИ
F37	85.77%	0.00%	Не беременная	беременная	ИКСИ
B37	77.53%	0.00%	Не беременная	беременная	ИКСИ
B53	74.76%	0.00%	Не беременная	беременная	ИКСИ
B3	70.86%	0.00%	Не беременная	беременная	ЭКО
A3	69.20%	0.00%	Не беременная	беременная	ИКСИ
C28	63.01%	24.18%	Не беременная	беременная	ИКСИ
H6	61.85%	29.68%	Не беременная	беременная	ЭКО
B26	100.00%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
D6	100.00%	0.00%	Не беременная	не беременная	ЭКО
B28	98.21%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
B29	98.08%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
E47	97.84%	0.00%	Не беременная	не беременная	ЭКО
B63	95.09%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
B49	94.75%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
F35	93.59%	1.74%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
B67	93.28%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
H5	92.35%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
F15	92.32%	0.00%	Не беременная	не беременная	ЭКО
E57	91.98%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
B71	91.45%	0.00%	Не беременная	не беременная	ЭКО
A15	91.16%	0.00%	Не беременная	не беременная	ЭКО
F13	90.41%	0.00%	Не беременная	не беременная	ЭКО
F12	89.56%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
A19	88.73%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
B36	88.02%	2.04%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
E44	87.27%	0.00%	Не беременная	не беременная	ЭКО
F17	83.96%	0.00%	Не беременная	не беременная	ЭКО

B19	83.50%	4.15%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
E18	81.59%	17.40%	Не беременная	не беременная	ЭКО
F38	80.94%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
E40	80.71%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
B51	78.65%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
A16	77.71%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
C32	77.60%	0.00%	Не беременная	не беременная	ЭКО
C42	77.31%	15.35%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
B90	76.46%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
D23	75.21%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
C3	74.35%	0.00%	Не беременная	не беременная	ЭКО
C39	72.78%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
B70	71.92%	17.81%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
A47	71.75%	17.65%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
H8	70.75%	19.37%	Не беременная	не беременная	ЭКО
C18	70.00%	27.50%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
D21	69.64%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
A21	65.89%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
A36	65.38%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
B25	65.07%	33.12%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
A10	63.73%	2.71%	Не беременная	не беременная	ЭКО
B7	62.95%	24.66%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
A8	62.17%	28.05%	Не беременная	не беременная	ЭКО
C53	61.89%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ
F16	62.27%	0.00%	Не беременная	не беременная	ИКСИ

Таким образом, представленные в настоящей заявке данные обеспечивают получение следующих выводов или положений.

Способ прогнозирования вероятности того, что процедура вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) не приведет к беременности, в котором образец, полученный от субъекта, представляющего собой самку млекопитающего, до или во время процедуры ВРТ, анализируют по меньшей мере по одному из следующих параметров:

Наличие *Gardnerella vaginalis*;

Относительная численность видов *Lactobacillus*;

Относительная численность *Lactobacillus jensenii*;

Относительная численность протеобактерий,

при этом субъект имеет высокую вероятность не забеременеть в результате процедуры ВРТ,

если образец включает *Gardnerella vaginalis* или

если относительная численность видов *Lactobacillus* ниже первого заранее определенного эталонного значения, или

если относительная численность *Lactobacillus jensenii* превышает второе заранее определенное эталонное значение, или

если относительная численность протеобактерий превышает третье заранее определенное эталонное значение.

В описанном в настоящей заявке способе определяют наличие *Gardnerella vaginalis* в образце, при этом субъект имеет высокую вероятность не забеременеть в результате процедуры ВРТ, если образец содержит *Gardnerella vaginalis*, предпочтительно *Gardnerella vaginalis* IST1.

В описанном в настоящей заявке способе образец анализируют на следующие параметры:

Относительная численность видов *Lactobacillus*;

Относительная численность *Lactobacillus jensenii* и

Относительная численность протеобактерий,

при этом субъект имеет высокую вероятность не забеременеть в результате процедуры ВРТ, если относительная численность видов *Lactobacillus* ниже первого заранее определенного эталонного значения, и/или если относительная численность *Lactobacillus jensenii* выше второго заранее определенного эталонного значения и/или если относительная численность протеобактерий выше третьего заранее определенного эталонного значения.

В описанном в настоящей заявке способе первое заранее определенное эталонное значение находится между 15 и 25%, второе заранее определенное эталонное значение находится между 25 и 45%, и третье заранее определенное эталонное значение находится между 18 и 38%.

В описанном в настоящей заявке способе первое заранее определенное эталонное значение составляет 20%, второе заранее определенное эталонное значение составляет 35%, и третье заранее определенное эталонное значение составляет 28%.

В описанном в настоящей заявке способе наличие *Gardnerella vaginalis* определяют количественной полимеразной цепной реакцией (ПЦР).

В описанном в настоящей заявке способе ПЦР проводят с прямым праймером CTGGATCACCTCCTTTCTAWG и обратным праймером AGGCATCCRCCATGCGCCCT и при этом выявляют продукт амплификации длиной 428-430 нуклеотидов, и где W обозначает А или Т, и где R обозначает А или G.

Способ прогнозирования вероятности того, что процедура вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) не приведет к беременности, в котором относительное количество *Lactobacillus crispatus* определяют в образце, полученном от субъекта, представляющего собой самку млекопитающего, до или во время процедуры ВРТ, и при этом вероятность не забеременеть в результате ВРТ увеличена, если относительное количество *Lactobacillus crispatus* превышает четвертое заранее определенное эталонное значение.

Способ прогнозирования вероятности того, что процедура вспомогательной репродуктивной технологии (ВРТ) приведет к беременности, в котором относительное количество *Lactobacillus crispatus* определяют в образце, полученном от субъекта, представляющего собой самку млекопитающего, до или во время процедуры ВРТ, и при этом вероятность забеременеть в результате ВРТ увеличена, если относительное количество *Lactobacillus crispatus* ниже пятого заранее определенного эталонного значения.

Способ прогнозирования вероятности того, что процедура вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) приведет к беременности, в котором относительное количество *Lactobacillus iners* определяют в образце, взятом от субъекта, представляющего собой самку млекопитающего, до или во время процедуры ВРТ, и при этом вероятность забеременеть в результате ВРТ увеличена, если относительное количество *Lactobacillus iners* превышает шестое заранее определенное эталонное значение.

Способ прогнозирования вероятности того, что процедура вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) приведет к беременности, в котором образец от субъекта, представляющего собой самку млекопитающего, получают до или во время процедуры ВРТ, и в котором относительные количества *Lactobacillus crispatus* [LC] и *Lactobacillus iners* [LI] определяют и выражают в виде долей от 0 до 1, и где вероятность забеременеть увеличена, если [LC] ниже седьмого заранее определенного эталонного значения, и

$$[LC] < (a * [LI]) + b, \text{ И}$$

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

где a представляет собой значение в диапазоне от -0.55 и до -0.70,

b представляет собой значение в диапазоне от 0.80 до 0.90,

c представляет собой значение в диапазоне от -0.50 до -0.65 и

d представляет собой значение в диапазоне от 0.3 и до 0.45.

В описанном в настоящей заявке способе a = -0,62, b = 0,85, c = -0,58 и d = 0,38.

В описанном в настоящей заявке способе четвертое, пятое, шестое или седьмое заранее определенные эталонные значения находятся от 0,5 и до 0,7 независимо друг от друга.

В описанном в настоящей заявке способе четвертое, пятое, шестое или седьмое заранее определенные эталонные значения равны 0,6.

Набор для осуществления описанного в настоящей заявке способа, содержащий прямой праймер CTGGATCACCTCCTTTCTAWG и обратный праймер AGGCATCCRCCATGCGCCCT для обнаружения продукта амплификации ДНК *Gardnerella vaginalis*, где продукт амплификации ДНК *Gardnerella vaginalis* имеет длину 428-430 нуклеотидов и где W обозначает А или Т, и где R обозначает А или G.

В описанном в настоящей заявке способе образец представляет собой влагиалищный мазок и/или субъектом, представляющим собой млекопитающее, является человек.

В описанном в настоящей заявке способе процедура ВРТ представляет собой процедуру экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), такую как процедура интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ прогнозирования вероятности того, что процедура вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) не приведет к беременности, согласно которому образец, полученный у субъекта, который представляет собой самку млекопитающего, до или во время процедуры ВРТ, анализируют на наличие *Gardnerella vaginalis* IST1 и следующих параметров:

a) относительная численность видов *Lactobacillus*,

b) относительная численность *Lactobacillus jensenii*,

c) относительная численность протеобактерий,

при этом делают вывод о том, что указанный субъект имеет высокую вероятность не забеременеть в результате указанной процедуры ВРТ, если указанный образец содержит *Gardnerella vaginalis* IST1, и применимо по меньшей мере одно из следующих условий:

I. Относительная численность видов *Lactobacillus* ниже значения 25%;

II. Относительная численность *Lactobacillus jensenii* выше значения 25%;
 III. Относительная численность протеобактерий превышает значение 18%;
 причём *Gardnerella vaginalis* IST1 представляет собой вид *Gardnerella vaginalis*, который образует специфический IS-фрагмент длиной 428, 429 или 430 нуклеотидов при амплификации праймерами согласно SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 2.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что наличие *Gardnerella vaginalis* IST1 определяют с помощью количественной полимеразной цепной реакцией (ПЦР).

3. Способ по п.2, отличающийся тем, что ПЦР проводят с прямым праймером CTGGAT-CACCTCCTTTCTAWG (SEQ ID NO: 1) и обратным праймером AGGCATCCRCCATGCGCCCT (SEQ ID NO: 2), и тем, что обнаруживают продукт амплификации длиной 428-430 нуклеотидов, где W обозначает А или Т и где R обозначает А или G.

4. Способ по любому из пп.1-3, отличающийся тем, что указанный образец представляет собой влагалищный мазок.

5. Способ по любому из пп.1-4, отличающийся тем, что указанный субъект, который представляет собой млекопитающее, является человеком.

6. Способ по любому из пп.1-5, отличающийся тем, что процедура ВРТ представляет собой процедуру экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), такую как процедура интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ).

7. Способ по любому из пп.1-6, отличающийся тем, что указанный образец получен в период двух месяцев до процедуры ЭКО.

